

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA**

Rafaela do Vale Pereira

**DESENVOLVIMENTO DE *SCAFFOLDS* BIODEGRADÁVEIS
DE PLDLA/BIOVIDRO 58S PRODUZIDOS POR
SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação de Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr.-Ing. Márcio Celso Fredel

Coorientador: Prof. Dr.-Ing. Gean Vitor Salmoria

Florianópolis
2013

Pereira, Rafaela do Vale
Desenvolvimento de scaffolds biodegradáveis de
PLDLA/biovidro 58S produzidos por sinterização seletiva a
laser / Rafaela do Vale Pereira ; orientador, Márcio Celso
Fredel ; co-orientador, Gean Vitor Salmoria. -
Florianópolis, SC, 2013.
94 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais.

Inclui referências

1. Ciência e Engenharia de Materiais. 2. Biomateriais.
3. Ácido láctico. 4. Biovidro. 5. Sinterização seletiva a
laser. I. Fredel, Márcio Celso. II. Salmoria, Gean Vitor .
III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. IV.
Título.

Rafaela do Vale Pereira

**DESENVOLVIMENTO DE *SCAFFOLDS* BIODEGRADÁVEIS
DE PLDLA/BIOVIDRO 58S PRODUZIDOS POR
SINTERIZAÇÃO SELETIVA A LASER**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Florianópolis, 26 de abril de 2013.

Prof. Antônio Pedro Novaes de Oliveira, Dr. Ing
Coordenador PGMAT

Banca Examinadora:

Prof. Márcio Celso Fredel, Dr.-Ing.
Orientador – UFSC

Prof. Gean Vitor Salmoria, Dr.-Ing.
Coorientador – UFSC

Prof. Guilherme Mariz de Oliveira
Barra, Dr. Eng
UFSC - PGMAT

Prof. Carlos Renato Rambo, Dr. Eng
UFSC - PGMAT

Prof.^a Ana Paula Marzagão
Casadei, Dr. Eng
CCB/MOR - UFSC

Prof. Fernando Humel Lafratta, Dr.
Eng
UDESC - CCT

Aos meus pais, Dylton e Kari.
E ao meu namorado Claudio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador professor Márcio Celso Fredel, pelo suporte durante a realização do trabalho.

Ao meu coorientador, Gean Vitor Salmoria, pelo auxílio e elucidação de dúvidas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais pelo auxílio durante a realização deste trabalho e também ao seu chefe de expediente, Rogério Antônio Campos.

À professora Ana Paula Marzagão Casadei, pelo apoio e elucidação de dúvidas que surgiram ao longo do caminho.

Aos colegas do laboratório CERMAT que me ajudaram.

Ao professor Guilherme M. de Oliveira Barra e sua aluna Claudia Merlini pela realização de ensaios.

Ao Victor R. Lauth e demais colegas do laboratório CIMJECT, que me auxiliaram com os equipamentos de SLS e DMA.

Às amigas do laboratório Vitrocer, pelo apoio nos momentos finais de conclusão do trabalho.

À minha amiga Marcela Oliveira Caldeira de Moura, pela amizade, companheirismo e apoio durante essa jornada. Também pelos muitos finais de semanas e noites me acompanhado nos laboratórios para que eu pudesse realizar ensaios, produzir peças e obter resultados para conclusão desse trabalho.

Às minhas amigas Francielle A. Grando e Juliana D. Lopes e amigos Diego Blaese e Jefferson J. do Rosário.

À minha família, meu pai Dylton do Vale Pereira F^o., minha mãe Kari Ávila do Vale Pereira e irmã, Paula do Vale Pereira, pelo apoio durante esta longa jornada.

E ao meu namorado Claudio José Santos, que me apoiou durante toda essa jornada, pois sem ele não conseguiria finalizar mais esta etapa.

Obrigada a todos.

Sorte é o que acontece quando a preparação encontra a
oportunidade.

(Elmer Letterman)

RESUMO

Scaffolds compósitos foram produzidos e testados para a aplicação em cirurgias buco-maxilo-faciais para o reparo e a regeneração de ossos desta região. Para a produção destes *scaffolds* um biovidro (BG) osteocondutor foi sintetizado pelo processo sol-gel para ser utilizado como partícula dispersa osteocondutora em matriz polimérica de poli(L-co-D,L) ácido lático (PLDLA). Além da característica osteocondutora, o BG também auxilia no controle do pH do meio durante a degradação da matriz. Devido à maior facilidade de fabricação, a matriz polimérica favorece a obtenção de geometrias complexas, além de apresentar taxa de degradação compatível com a taxa de regeneração óssea. Os *scaffolds* compósitos foram produzidos por meio da técnica de sinterização seletiva a laser (SLS), a qual possibilita a fabricação de peças personalizadas. Em relação ao BG, análises de FTIR, DRX e ensaio de degradação foram realizados para observar a composição, avaliar a presença de fases cristalinas no biovidro e o comportamento de degradação do material quando imerso em SBF. Por meio do MEV foi observada a distribuição das partículas de BG na matriz de PLDLA e a camada de HCA (apatita carbonatada) formada na sua superfície após imersão em SBF. O polímero PLDLA foi caracterizado por meio de GPC, FTIR e RMN, sendo observadas a composição e estrutura do mesmo. Através da análise de DMA foram avaliadas as propriedades mecânicas do compósito (tensão de ruptura, módulo de flexão, módulo de armazenamento e tangente de perda). A presença de BG em valores superiores a 20% m diminuem a tensão de ruptura para menos de 15% do valor para o polímero puro e o módulo para menos de 31% do valor para o material puro. Entretanto, com 10% em massa de BG, a tensão de ruptura diminui 34% em relação ao polímero puro processado na SLS e o módulo aumenta 16% em relação ao material puro. Para os compósitos também foi realizado ensaio de degradação, observando o comportamento do pH, cujos valores se apresentaram estáveis após 15 dias de imersão em SBF. Foi realizado teste de citotoxicidade dos *scaffolds*, os quais se apresentaram como não citotóxicos. As análises realizadas indicaram características mecânicas e químicas desejadas em um biomaterial para aplicação na recuperação de fraturas ósseas.

Palavras-chave: *scaffold*, biovidro 58S, poli(L-co-D,L) ácido lático (PLDLA), sinterização seletiva a laser (SLS), análise dinâmico-mecânica (DMA).

ABSTRACT

Composite scaffolds were produced and tested in order to be implemented in maxillofacial surgeries to induce bone repair and regeneration. To produce these scaffolds, an osteoconducting bioglass (BG) was synthesized via sol-gel method, in order to be implemented as osteoconductive dispersed particles in PDLLA matrix. In addition to osteoconductive characteristic, BG aids at the surroundings pH control due to the acidic polymer degradation behavior. Once presenting greater facility on parts fabrication, this polymeric matrix enables complex geometries production of the composite besides presenting compatible degradation rate for simultaneous scaffold absorption and bone regeneration. The fabrication of composite scaffolds was performed by selective laser sintering (SLS) which enables tailored-made parts production. BG was characterized by FTIR and XRD analyses and degradation test to observe the composition and evaluate the presence of crystalized phases in bioglass and the material degradation behavior when immersed in SBF. SEM was used to observe the BG particle distribution in PDLLA matrix and the HCA layer formed at the material's surface after SBF immersion. GPC, FTIR and NMR were carried on in order to observe the PDLLA composition and structure. DMA analysis was carried on to evaluate the composite mechanical properties (tensile strength, flexural modulus, storage modulus and $\tan \delta$). The presence of more than 20%wt BG decreases the composite's mechanical properties to less than 15% of the polymer values (for tensile strength) and less than 31% (for modulus). Nevertheless, with 10%wt of BG, tensile strength is ~34% less of pure polymer produced via SLS and the modulus is ~16% higher than for pure polymer. Degradation test was also carried out with the composites, showing that the pH values were stable after 15 days in SBF immersion. Cytotoxicity test was also realized, showing the non-toxic behavior of the composite scaffolds. The performed analyses indicate the mechanical and chemical characteristics for a biomaterial to be implemented in bone fractures healing.

Key-words: scaffold, bioglass 58S, poli(L-co-D,L) lactic acid (PDLLA), selective laser sintering (SLS), dynamic mechanic analyses (DMA).

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: DIAGRAMA TERNÁRIO DO SISTEMA SiO_2 - Na_2O - CaO , COM AS REGIÕES DE FORMAÇÃO DE LIGAÇÃO ENTRE MATERIAL E TECIDOS. COMPOSIÇÕES DA REGIÃO A APRESENTAM 6% EM PESO DE P_2O_5	29
FIGURA 2: RESPOSTA BIOLÓGICA DA DISSOLUÇÃO IÔNICA DOS BIOVIDROS.	31
FIGURA 3: COMPOSIÇÕES DE BIOATIVIDADE DOS VIDROS PRODUZIDOS VIA SOL-GEL EM RELAÇÃO AOS VIDROS PRODUZIDOS POR FUNDIÇÃO.	32
FIGURA 4: ESTEREOISÔMEROS DO ÁCIDO LÁTICO.	34
FIGURA 5: FÓRMULA MOLECULAR DO POLI (L-CO-D,L ÁCIDO LÁTICO).....	36
FIGURA 6: ESQUEMA REPRESENTANDO ETAPAS DA FDM.....	40
FIGURA 7: ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DA TÉCNICA DE SLS.	41
FIGURA 8: ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCESSO DE COALESCÊNCIA DAS PARTÍCULAS DE POLÍMERO.	42
FIGURA 9: APARATO PARA SÍNTESE VIA SOL-GEL DO BIOVIDRO 58S.	48
FIGURA 10: PASTILHA DE BG COMPACTADO.	49
FIGURA 11: AMOSTRAS DE PLDLA/BG58S NO INTERIOR DA CÂMARA DE LEITURA DO TOMÓGRAFO COMPUTADORIZADO.	54
FIGURA 12: ESPECTRO DE DRX DO BG58S SINTETIZADO.	55
FIGURA 13: ESPECTRO DE FTIR DO BG58S SINTETIZADO.	56
FIGURA 14: GRÁFICO DO COMPORTAMENTO DO PH EM RELAÇÃO AO TEMPO DE IMERSÃO DAS AMOSTRAS.	57
FIGURA 15: VARIAÇÃO DE MASSA DAS AMOSTRAS DE BG 58S SINTETIZADO.	58
FIGURA 16: ABSORÇÃO DE ÁGUA DAS AMOSTRAS DO BG58S SINTETIZADO.	59
FIGURA 17: (A) MICROGRAFIA DE PASTILHA DE BG SEM IMERSÃO EM SBF. (B) MICROGRAFIA DE PASTILHA DE BG APÓS 1 DIA DE IMERSÃO. (C) MICROGRAFIA DE PASTILHA DE BG APÓS 5 DIAS DE IMERSÃO. (D) MICROGRAFIA DE PASTILHA DE BG APÓS 15 DIAS DE IMERSÃO. (E) MICROGRAFIA DE PASTILHA DE BG APÓS 30 DIAS DE IMERSÃO.	60
FIGURA 18: ESPECTROS DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BG (A) SEM IMERSÃO, (B) APÓS 15 DIAS DE IMERSÃO E (C) APÓS 30 DIAS DE IMERSÃO.....	61
FIGURA 19: GRÁFICO DE DSC DO POLÍMERO PLDLA SINTETIZADO.	62
FIGURA 20: ESPECTRO DE FTIR DO POLÍMERO PLDLA SINTETIZADO.	63
FIGURA 21: ESPECTRO DE H^1 -RMN DO PLDLA SINTETIZADO.....	64
FIGURA 22: ESPECTRO DE ^{13}C -RMN DO PLDLA SINTETIZADO.	64
FIGURA 23: AMOSTRAS PRODUZIDAS POR SLS.....	66

FIGURA 24: GRÁFICO DE TENSÃO-DEFORMAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	67
FIGURA 25: MÓDULO DE ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	69
FIGURA 26: TANGENTE DE PERDA DAS AMOSTRAS.	70
FIGURA 27: IMAGEM DOS <i>SCAFFOLDS</i> DE PLDLA/BG58S OBTIDA PELO <i>SOFTWARE VOLUME GRAPHICS</i>	72
FIGURA 28: SEÇÃO TRANSVERSAL DAS AMOSTRAS: (A) 00BG5,4W, (B) 10BG5,4W, (C) 20BG5,4W E (D) 30BG5,4W. TODAS COM LINHA DE ESCALA DE 0,75MM.....	72
FIGURA 29: VARIAÇÃO DE pH DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS VIA SLS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE IMERSÃO (EM DIAS).....	74
FIGURA 30: VARIAÇÃO DE MASSA DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS VIA SLS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE IMERSÃO (EM DIAS).....	75
FIGURA 31: ABSORÇÃO DE ÁGUA DAS AMOSTRAS SINTERIZADAS VIS SLS EM FUNÇÃO DO TEMPO DE IMERSÃO (EM DIAS).....	77
FIGURA 32: AMOSTRAS (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W E (D) 30BG 5,4W. TODAS SEM IMERSÃO.	78
FIGURA 33: AMOSTRAS (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W E (D) 30BG 5,4W. TODAS SEM IMERSÃO.	79
FIGURA 34: AMOSTRAS (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W E (D) 30BG 5,4W. TODAS APÓS 30 DIAS DE IMERSÃO.....	80
FIGURA 35: AMOSTRAS (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W E (D) 30BG 5,4W. TODAS APÓS 30 DIAS DE IMERSÃO.....	81
FIGURA 36: VIABILIDADE CELULAR DAS AMOSTRAS.	82

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: PROPRIEDADES MECÂNICAS DE ALGUNS BIOPOLÍMEROS.	35
TABELA 2: TEMPO DE DEGRADAÇÃO DE POLÍMEROS BIOREABSORVÍVEIS.	36
TABELA 3: PROPRIEDADES MECÂNICAS DE COMPÓSITOS BIODEGRADÁVEIS E BIOATIVOS.	38
TABELA 4: RESULTADOS DAS MASSAS MOLECULARES MÉDIAS DO PLDLA, OBTIDOS PELA TÉCNICA DE GPC.	62
TABELA 5: COMPOSIÇÕES, POTÊNCIAS DO LASER E DENSIDADE DE ENERGIA PARA AS AMOSTRAS PROCESSADAS. TODAS COM VELOCIDADE DO FEIXE DE 39,8 MM/S.	65
TABELA 6: NOME E VALORES DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DAS AMOSTRAS.	67
TABELA 7: VALORES DE T_g E $TAN \Delta$ DAS AMOSTRAS.	70
TABELA 8: VALORES DE POROSIDADE DOS <i>SCAFFOLDS</i> OBTIDOS PELO TOMÓGRAFO.	71
TABELA 9: VALORES DE POROSIDADE DOS <i>SCAFFOLDS</i> OBTIDOS POR CÁLCULO.	73
TABELA 10: VALORES DE VARIAÇÃO DE MASSA DAS AMOSTRAS AO LONGO DO TEMPO DE IMERSÃO.	75
TABELA 11: VALORES DE ABSORÇÃO DE ÁGUA PELAS AMOSTRAS AO LONGO DO TEMPO DE IMERSÃO.	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

00BG5,4W – polímero puro processado com 5,4W de potência
10BG5,4W – 10% m de BG processado com 5,4W de potência
20BG5,4W – 20% m de BG processado com 5,4W de potência
30BG5,4W – 30% m de BG processado com 5,4W de potência
2D – bidimensional
3D – tridimensional
3DP – *tridimensional printing*
Ab – absorção de fluido (água)
BG – vidros bioativos ou biovidro
BG58S – vidro bioativo com a composição 58% SiO₂, 33% CaO, 9% P₂O₅ (% em massa)
BG45S5 – vidro bioativo com 45% SiO₂ em sua composição
b-TCP - tricálcio fosfato na forma beta
CAD – *computer aided desing*
CAM – *computer aided manufacturing*
d - diâmetro pontual do foco do feixe laser
DMA – análise dinâmico-mecânica
DRX – difração de raio-X
DSC - calorimetria exploratória diferencial
E – módulo de flexão
E' - módulo de armazenamento
E'' - módulo de perda
FDM – *fused deposition modeling*
FTIR – espectroscopia por infravermelho
GPC - cromatografia de permeação em gel
IC_{50%} - índice de citotoxicidade
HAp - hidroxiapatita
HCA - apatita carbonatada
I_B - Índice de Bioatividade
KBr – brometo de potássio
LOM – laminated objet manufacturing
M₀ – massa inicial
MEV – microscopia eletrônica de varredura
MEM – meio mínimo de Eagle
M_S - massa da amostra seca
M_U – massa da amostra úmida
P - potência do laser
PBS – solução tampão fosfato-salina
PCL/HAp – compósito de policaprolactona e HAp
PEEK/HAp – compósito de polieteretercetona e HAp
PGA - poliácido glicólico

pH – potencial hidrogeniônico
PHB – polihidroxibutirato
PDLA – poli ácido D-lático
PLA – poli ácido lático
PLDLA - poliácido (L-co-D,L) lático, 70% L-lático e 30% D,L
PLDLA/BG58S – compósitos de PLDLA e BG58S
PLDLA/b-TCP – compósito de PLDLA e b-TCP
PLDLA/HAp – compósito de PLDLA e HAp
PLLA – poli ácido L-lático
RMN - ressonância magnética nuclear
PR – prototipagem rápida
SBF - *simulated body fluid*
SFF – *solid free-form*
SLS – sinterização seletiva a laser
STL – *structural triangular language*
Tan δ - tangente de perda
TEP - Trietil fosfato
TCP – tricálcio fosfato
TEOS – tetraetil ortosilicato
 T_m – temperatura de fusão
 T_g – temperatura de transição vítrea
 V_m – variação de massa
 ϵ – deformação
 ρ - densidade de energia do laser
 σ – tensão de ruptura
 v - velocidade de varredura do feixe laser
 $\%m$ – porcentagem em massa

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	23
1.1 OBJETIVOS.....	25
1.1.1 <i>Objetivo Geral</i>	25
1.1.2 <i>Objetivos Específicos</i>	25
2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	27
2.1 <i>SCAFFOLDS</i>	27
2.2 VIDRO BIOATIVO (BG)	28
2.2.1 <i>Mecanismos de bioatividade</i>	29
2.2.2 <i>Vidro bioativo 58S</i>	31
2.3 PROCESSAMENTO VIA SOL-GEL	32
2.4 POLIÁCIDOS LÁTICOS (PLA)	34
2.4.1 <i>Poli (L-co-D,L) ácido láctico (PLDLA)</i>	35
2.5 COMPÓSITOS DE PLDLA/BG58S.....	36
2.6 PROTOTIPAGEM RÁPIDA (OU, PROCESSOS DE.....	38
FABRICAÇÃO POR ADIÇÃO DE CAMADAS).....	38
2.6.1 <i>Sinterização Seletiva a Laser (SLS)</i>	40
2.7 APLICAÇÕES DE <i>SCAFFOLDS</i> EM LESÕES BUCO-MAXILO- FACIAIS	43
3 MATERIAIS	45
3.1 VIDRO BIOATIVO (BG58S).....	45
3.2 PLDLA	45
3.3 SBF	45
4 MÉTODOS.....	47
4.1 VIDRO BIOATIVO 58S	47
4.1.1 <i>Síntese pelo processo sol-gel</i>	47
4.1.2 <i>Caracterização do vidro bioativo</i>	48
4.1.3 <i>Ensaio de degradação</i>	48
4.1.3.1 <i>Preparação de amostras</i>	49
4.1.3.2 <i>Método do teste</i>	49
4.2 POLI (L-co-D,L) ÁCIDO LÁTICO (PLDLA)	50
4.2.1 <i>Moagem do material polimérico</i>	50
4.2.2 <i>Caracterização do polímero PLDLA</i>	50

4.3 FABRICAÇÃO DE COMPÓSITOS DE PLDLA/BG58S POR SLS	51
4.3.1 <i>Processamento por SLS</i>	51
4.3.2 <i>Caracterização do material compósito</i>	52
4.3.2.1 <i>Análise dinâmico-mecânica (DMA)</i>	52
4.3.2.2 <i>Ensaio de degradação</i>	52
4.3.2.3 <i>Citotoxicidade - método de incorporação do vermelho neutro</i>	53
4.3.2.4 <i>Porosidade</i>	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	55
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO BIOVIDRO 58S SINTETIZADO	55
5.1.1 <i>Difração de raio-X (DRX)</i>	55
5.1.2 <i>Espectroscopia por infravermelho (FTIR)</i>	56
5.1.3 <i>Ensaio de degradação</i>	57
5.1.4 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	59
5.2 CARACTERIZAÇÃO DO POLÍMERO PLDLA	61
5.2.1 <i>Cromatografia de permeação em gel (GPC) e calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	61
5.2.2 <i>Espectroscopia por infravermelho (FTIR)</i>	63
5.2.3 <i>Ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	64
5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS SCAFFOLDS COMPÓSITOS	65
5.3.1 <i>Processamento dos scaffolds compósitos</i>	65
5.3.2 <i>Análises mecânicas</i>	66
5.3.3 <i>Porosidade</i>	71
5.3.4 <i>Ensaio de degradação</i>	73
5.3.5 <i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	77
5.3.6 <i>Citotoxicidade</i>	81
6 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

Seres vivos podem vir a apresentar falhas e defeitos ósseos, oriundos de má formação ou fraturas, sendo necessária a estabilização dos fragmentos ósseos e/ou preenchimento dos vazios formados para reestabelecimento da forma e da função do tecido lesionado.¹

Para que ocorra esta estabilização do tecido, a ciência de materiais pode ser combinada com a medicina e com a biologia para o desenvolvimento de técnicas de reconstrução e/ou substituição de tecidos danificados. Como exemplo, tem-se a técnica de implantes ósseos e utilização de *scaffolds* (arcabouços).² Estes *scaffolds*, quando implantados, devem induzir e direcionar o crescimento de novo tecido ósseo, para que ocorra a recuperação do local lesionado.

Para produção destes *scaffolds*, um grupo de materiais estudado é o de polímeros bioreabsorvíveis, como, o poliácido (L-co-D,L) láctico (PLDLA) e o poliácido glicólico (PGA). Uma vez que estes materiais são reabsorvíveis, não há a necessidade de uma segunda cirurgia para retirada do mesmo após a recuperação da lesão ou fratura. Esta degradação do *scaffold* deve-se apresentar de forma paulatina e concomitante com a taxa de regeneração do tecido ósseo para que durante este processo, a carga mecânica possa ser transferida ao tecido de maneira progressiva, diminuindo o efeito do fenômeno de *stress shielding*.¹

Este processo de degradação dos materiais poliméricos no meio biológico pode tornar o meio demasiado ácido, gerando processos inflamatórios indesejados, podendo levar a desnaturação de proteínas e dissolução da parte mineral do tecido ósseo.^{1; 3}

Com o intuito de minimizar essa resposta inflamatória, partículas de cerâmicas bioativas podem ser incorporadas à matriz polimérica. O grupo dos vidros bioativos (BG) e biodegradáveis é estudado para estes casos, uma vez que apresentam caráter básico e tendem a neutralizar o pH ácido provocado pela degradação polimérica. Estes também promovem a osteocondução, auxiliando na regeneração dos ossos, a qual ocorre pela troca de íons presentes na composição dos BGs e no meio, estando esta troca envolvida no metabolismo ósseo e desempenhando importante papel na angiogênese, no crescimento e na mineralização do tecido.⁴

A técnica de fabricação destes *scaffolds* compósitos deve permitir a produção de estruturas tridimensionais e porosas para que haja possibilidade de transporte das células em seu interior e posterior adesão das mesmas, permitindo a formação do novo tecido. Como

exemplo, podem ser citadas as técnicas de prototipagem rápida, em específico a técnica de sinterização seletiva a laser (SLS). Além de permitir a construção de estruturas 3D, esta técnica também permite a produção de peças personalizadas de acordo com a fratura/lesão a ser restaurada.⁵

De tal modo, no presente caso foi estudado o processamento de compósitos por SLS, produzidos com diferentes concentrações mássicas, onde o poli(L-co-D,L) ácido láctico (PLDLA) foi utilizado como matriz polimérica bioreabsorvível, e o BG 58S utilizado como partícula dispersa com a função de estabilização do pH e regeneração óssea (oesteocondução). O biovidro utilizado foi produzido pelo método sol-gel, sendo sua composição e estrutura avaliadas. Os compósitos produzidos por SLS foram avaliados mecânica e quimicamente para avaliação das porcentagens de BG adicionadas.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver *scaffolds* porosos biodegradáveis de matriz polimérica (PLDLA) e partículas de BG 58S via SLS para aplicação na área de cirurgia buco-maxilo-facial.

Estes poderão ser aplicados em ossos da região facial como enxertos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Investigar a síntese do BG 58S pelo processo sol-gel;
- Avaliar a fabricação via sinterização a laser de *scaffolds* de PLDLA e seus compósitos com BG;
- Determinar qual porcentagem de partículas de BG 58S (em massa) nos compósitos apresenta estrutura, propriedades mecânicas e químicas adequadas para a aplicação;
- Investigar a citotoxicidade *in vitro* do *scaffold* para avaliar sua viabilidade como implante ósseo.

2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

2.1 SCAFFOLDS

Scaffolds (ou arcabouços) são dispositivos implantados em defeitos ósseos presentes nos seres humanos e em animais, cujo objetivo é induzir e direcionar o crescimento de novo tecido ósseo no local lesionado.^{3;6;7}

Esta indução se deve ao fato do *scaffold* apresentar a função de substrato para adesão, proliferação e diferenciação das células com consequente formação do tecido ósseo de forma direcionada à medida que o *scaffold* se degrada.

Para a produção de *scaffolds* devem ser observadas e analisadas algumas características, sendo apresentadas a seguir, as objetivadas para este desenvolvimento:

- *Possibilidade de transporte de células*: além de biocompatível, o *scaffold* deve promover a adesão, proliferação e diferenciação das células do tecido ósseo;
- *Osteocondutividade*: possibilidade de conduzir o crescimento de tecido ósseo (osteocondução) no osso hospedeiro, produzindo uma forte ligação entre o *scaffold* e o hospedeiro;
- *Porosidade*: o *scaffold* deve apresentar porosidade comunicante e estrutura com poros de tamanho entre 100 e 300 µm. Estas características são necessárias para que haja migração de células em todas as três dimensões, permitindo assim a penetração de células no *scaffold*, o crescimento do tecido, a formação de vasos sanguíneos (angiogênese) e o transporte de nutrientes;
- *Estabilidade*: deve apresentar estabilidade física e química, além de permitir sua fácil esterilização;
- *Biodegradabilidade*: a degradação do *scaffold* deve ocorrer com velocidade adequada à velocidade de regeneração do tecido. Os produtos da degradação devem ser não-tóxicos e, de preferência, metabolizados pelo corpo;
- *Área de superfície*: a relação área de superfície/volume deve ser alta para permitir o máximo crescimento de células;
- *Propriedades mecânicas*: as propriedades mecânicas dos materiais utilizados devem ser compatíveis com as

solicitações impostas ao tecido onde ocorrerá a implantação.^{3;6;7}

2.2 VIDRO BIOATIVO (BG)

O vidro bioativo, do inglês *bioactive glass* (BG), também chamado de biovidro, pode ser definido como:

*“Vidro projetado para provocar uma específica resposta biológica através de reações controladas de superfície”.*⁸

O primeiro vidro bioativo desenvolvido foi o chamado 45S5 Bioglass®. Este vidro foi desenvolvido no início dos anos 70 por Larry Hench e tem sua composição baseada no sistema SiO₂- Na₂O- CaO- P₂O₅. Esta composição possibilita a formação de uma camada de apatita carbonatada (HCA) a qual forma uma ligação interfacial forte com o tecido ósseo.^{8;9}

Com o intuito de medir o tempo para formação desta ligação entre a interface do BG e do tecido, foi proposto por Hench o Índice de Bioatividade, I_B. Este índice indica o tempo necessário para que mais de 50% da interface de um material bioativo faça ligação com o tecido (t_{0,5bb}).^{9;10}

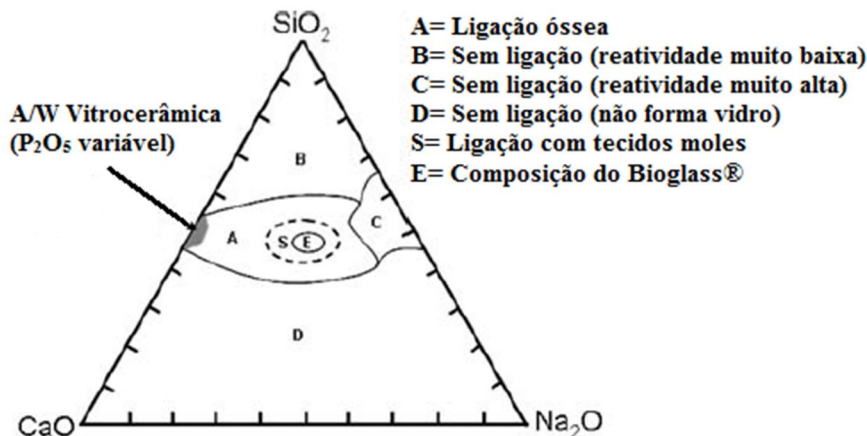
$$\text{Índice de Bioatividade: } I_B = 100 / t_{0,5bb}$$

Através deste Índice (I_B) pode-se classificar os materiais em diferentes classes. O BG 45S5, por exemplo, apresenta I_B maior do que 8; portanto, é classificado como sendo da Classe A (materiais que têm capacidade de fazer ligação tanto com tecidos moles quanto com tecidos duros e promovem osteocondução e osteoprodução) e é representado no diagrama ternário (Figura 1) pela região E.

Materiais com valores de I_B menores que 8 e maiores que zero representam a Classe B, no diagrama localizados na região A (os quais fazem ligação apenas com tecidos duros). Como exemplo apresenta-se a hidroxiapatita sintética.^{8;9;10}

A região A do diagrama (Figura 1) expõe materiais com concentração de 45 a 55% em mol de SiO₂, sendo estes os que apresentam a capacidade de ligação com o tecido ósseo.¹¹

Figura 1: Diagrama ternário do sistema SiO_2 - Na_2O - CaO , com as regiões de formação de ligação entre material e tecidos. Composições da região A apresentam 6% em peso de P_2O_5 .

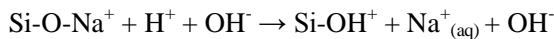


Fonte: Adaptado de HENCH, 2006.¹²

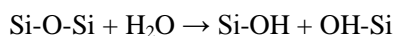
2.2.1 Mecanismos de bioatividade

A formação de ligação entre a interface do BG e do tecido ósseo ocorre através de mudanças químicas e estruturais na superfície do material quando o mesmo entra em contato com o meio aquoso do corpo. Estas alterações ocorrem em 10 estágios:

- 1) Primeiramente ocorre troca iônica de Na^+ e Ca^{2+} do material com H^+ ou H_3O^+ da solução, provocando hidrólise dos grupos de sílica e criando grupos silanóis (causando aumento do pH da solução.)



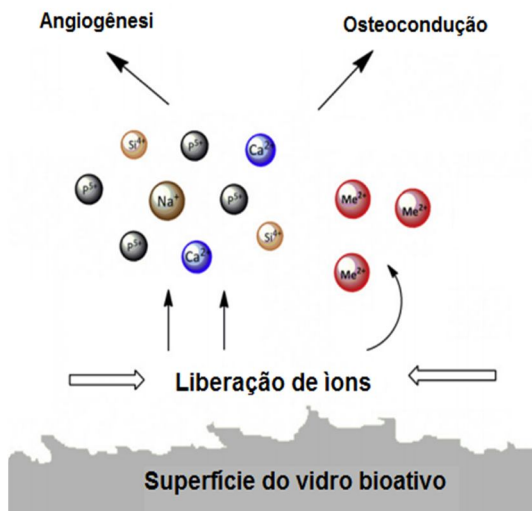
- 2) A troca de cátions aumenta a concentração de hidroxilas na solução, promovendo o ataque do reticulado de sílica presente no material. Sílica solúvel é perdida para a solução na forma de $\text{Si}(\text{OH})_4$ devido à quebras de ligação Si-O-Si , continuando a formação de grupos silanóis (Si-OH) na superfície do material.



- 3) Ocorre condensação e repolimerização de uma camada rica em SiO_2 na superfície do material.
- 4) Grupos Ca^{2+} e PO_4^{3-} migram para a superfície através da camada rica em SiO_2 , formando um filme rico em $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ acima da camada de sílica. Em seguida ocorre o crescimento deste filme amorfo de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ através da incorporação de cálcio e fósforo da solução.
- 5) Dá-se a cristalização do filme amorfo de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ pela incorporação dos ânions OH^- e CO_3^{2-} provenientes da solução, formando camada de hidroxila de apatita carbonatada (HCA).
- 6) Ocorre adsorção e dessorção de fatores de crescimento biológicos na camada de HCA (continuada durante todo o processo) para ativar a diferenciação de células.
- 7) Os macrófagos atuam na remoção de detritos, permitindo a ocupação dos espaços pelas células.
- 8) Ocorre a ligação das células com a superfície bioativa.
- 9) Diferenciação das células para formação de células de crescimento ósseo (osteoblastos).
- 10) A matriz extracelular é gerada pelos osteoblastos para formação do osso.^{10;13;14;15}

Na Figura 2 é apresentado um esquema mostrando esta liberação de íons, ou seja, o mecanismo de bioatividade, com posterior formação da camada de apatita carbonatada. Após formação desta camada, ocorrem as respostas biológicas, resultando na formação de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e no crescimento ósseo (osteocondução).⁴

Figura 2: Resposta biológica da dissolução iônica dos biovidros.



Fonte: adaptado de HOPPE, A.; GÜLDAL, N. S.; BOCCACCINI, A. R., 2011.⁴

2.2.2 Vidro bioativo 58S

Devido às suas excelentes propriedades, ainda hoje se utiliza e estuda o primeiro BG produzido, 45S5. Porém, este é proveniente do processo de fusão, no qual são utilizadas temperaturas extremamente elevadas, além de processos posteriores para obtenção do material final.

Com o intuito de obter um novo vidro bioativo similar ou melhor que o 45S5, realizando processamento a temperaturas mais baixas, foi desenvolvido o vidro bioativo 58S nos anos 90, através do processamento via sol-gel.¹² Como este processo ocorre a temperaturas mais baixas, desde a temperatura ambiente até 600 - 700°C, algumas desvantagens dos processos de fundição são eliminadas e são obtidas vantagens como menor custo operacional e fácil produção de pós.¹⁵

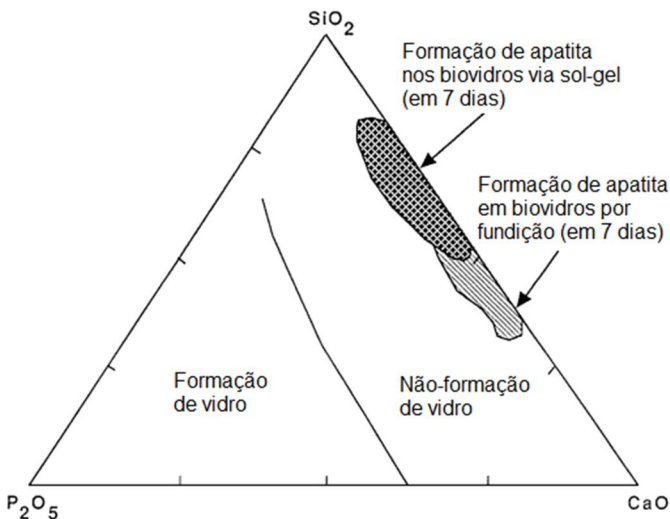
O BG 58S apresenta a composição química: 60% SiO₂, 36% CaO, 4% P₂O₅ (% em mol) e 58% SiO₂, 33% CaO, 9% P₂O₅ (% em massa).^{4; 16; 17} Seu nome é originado a partir desta composição 58S (58% de SiO₂ em massa).

Devido a esta composição e por ser processado via sol-gel, o 58S apresenta mais rápida formação de HCA na sua superfície em relação ao 45S5 (~5h *in vitro* e até 4 semanas *in vivo*).^{12; 15} Este BG apresenta degradação significativa com correspondente liberação de

sílica solúvel e, além disso, estudos mostram que tratamentos realizados com os produtos da dissolução iônica deste BG promovem a ativação celular por meio da simulação de proliferação de osteoblastos.^{4; 16; 17}

Apesar de este BG apresentar 60% mol de SiO_2 , o mesmo é capaz de promover a ligação com tecido ósseo, uma vez que é processado via sol-gel, permitindo a extensão da região de ligação com o osso até composições com 90% de SiO_2 .¹² Os materiais produzidos via sol-gel além de apresentarem alta bioatividade, até mesmo para 90% em mol de concentração de sílica, apresentam maior velocidade de formação de HCA em relação aos biovidros produzidos pela fundição convencional. Estas se devem à maior liberação de sílica solúvel a qual promove a nucleação de cristais de hidroxiapatita no material vítreo.^{10; 15} Na Figura 3 é apresentado o diagrama ternário com a variação das composições de bioatividade dos vidros produzidos via sol-gel em comparação com os vidros produzidos por fusão.¹³

Figura 3: Composições de bioatividade dos vidros produzidos via sol-gel em relação aos vidros produzidos por fundição.



Fonte: Adaptado de HENCH; WHEELER; GREENSPAN, 1998.¹³

2.3 PROCESSAMENTO VIA SOL-GEL

O processamento de materiais pela técnica conhecida como sol-gel é muito utilizado por:

- (i) ser realizado a baixas temperaturas (desde a temperatura ambiente até 600 – 700 °C);
- (ii) obter como resultado material com elevadas pureza e homogeneidade;
- (iii) permitir variar a estrutura do material por meio do controle das reações de hidrólise e policondensação que ocorrem durante a síntese;
- (iv) ser obtida uma maior bioatividade, possibilitando o controle da mesma pela mudança da composição ou microestrutura;
- (v) apresentar grande facilidade de produção de pós;
- (vi) obter porosidade interconectada em escala nanométrica, fato este que pode promover a impregnação do material com fases biológicas ativas, como fatores de crescimento. Esta técnica ainda permite a produção de esponjas com poros intercomunicantes de 10 – 200 µm, o que permite a reprodução da estrutura de ossos trabeculares.^{10; 18; 19}

Os materiais produzidos via sol-gel além de apresentarem alta bioatividade, até mesmo para 90% em mol de concentração de sílica, apresentam maior velocidade de formação de HCA (apatita carbonatada) em relação aos biovidros produzidos pela fundição convencional. Estas se devem à maior liberação de sílica solúvel a qual promove a nucleação de cristais de hidroxiapatita no material vítreo.^{10; 15}

O processo sol-gel recebe este nome, pois inicialmente são utilizados reagentes que formam o sol, partículas coloidais (com diâmetro de 1 – 100 nm) dispersas em um líquido. Em seguida, forma-se o gel, rede rígida e interconectada com porosidade submicrométrica e cadeias poliméricas cujo comprimento médio é superior a 1 µm.^{10; 20}

Este processamento é realizado em algumas etapas:

1) mistura: o sol é formado através da mistura mecânica das partículas coloidais em água; as reações envolvendo o tetraetil ortosilicato (TEOS - fornecedor de silício para a formação do vidro) liberam água e álcool que resultam no início da formação das redes de sílica, as quais mantém presos em seu interior água e álcool expelidos pela reação do TEOS. Estas reações são chamadas de hidrólise e policondensação e podem ocorrer em variadas temperaturas;

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

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

4) envelhecimento: o material do molde permanece imerso em líquido por um período de tempo que pode variar de horas a alguns dias, durante este período continuam a ocorrer as reações de policondensação concomitantemente com a solução e reprecipitação de redes do gel, fator que aumenta a espessura dos pescoços formados entre as partículas e diminui a porosidade;

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

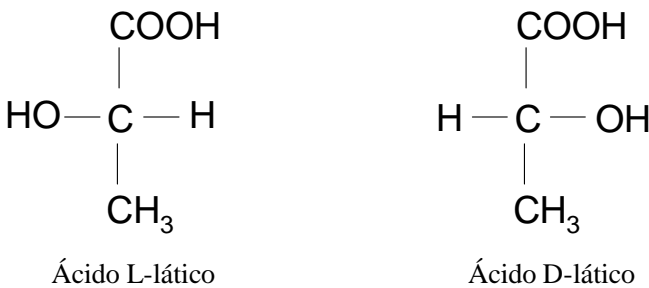
6) desidratação ou estabilização química: após esta etapa o sólido se torna ultraporoso e estável quimicamente uma vez que as ligações de silanol são removidas da rede dos poros;

7) densificação: os poros são eliminados por meio da exposição do material a altas temperaturas.²⁰

2.4 POLIÁCIDOS LÁTICOS (PLA)

Os poliácidos láticos (PLA) são polímeros bioabsorvíveis da família dos poliésteres alifáticos e pertencentes à classe dos poli (α -hidroxi ácidos). Este polímero é sintetizado a partir do monômero do ácido lático (ácido 2-hidroxi-propanóico), o qual é opticamente ativo e apresenta duas formas isoméricas: ácido L-lático (levogiro) e ácido D-lático (dextrogiro), respectivamente PLLA e PDLA. A forma opticamente inativa é representada pela mistura racêmica dos dois isômeros, L-D, formando o copolímero PLDLA. As formas isoméricas opticamente ativas são apresentadas na Figura 4.^{21;22;23}

Figura 4: Estereoisômeros do ácido lático.



A síntese do polímero PLA ocorre a partir de dois métodos: 1) polimerização direta do monômero de ácido lático, originando um polímero de baixo peso molecular; 2) polimerização por abertura de anel do lactídeo (obtido pela dimerização do ácido lático), permitindo a obtenção de polímeros com alto peso molecular (>100.000 g/mol).^{21;22;23;24}

Os polímeros derivados do PLA são amplamente utilizados na área médica uma vez que apresentam propriedades mecânicas adequadas, boa biocompatibilidade e biodegradabilidade. A degradação destes polímeros ocorre através da hidrólise de suas ligações ésteres quando estes entram em contato com o fluido corpóreo. Esta cisão hidrolítica tem como produto oligômeros solúveis e não tóxicos, os quais são transformados em CO₂ e H₂O pelo processo metabólico do organismo, proporcionando a bioabsorção destes polímeros.^{21;22;25;26}

A seguir é apresentada a Tabela 1, com algumas propriedades referentes ao PLLA (polímero derivado do PLA, que é mais frequentemente utilizado na área médica), PLDLA (polímero derivado do PLA, o qual é utilizado neste trabalho) e, PGA (poli ácido glicólico, polímero bioabsorvível também da família dos poliésteres).²¹

Tabela 1: Propriedades mecânicas de alguns biopolímeros.

Fonte: RIBEIRO, 2006.²¹

Polím.	Módulo de elasticidade (GPa)	Alongamento (%)	Resistênci a à flexão (MPa)	Densidade (g/cm ³)	T _m (°C)	T _g (°C)
PLLA	3-5	3-6	50-60	1,25-1,30	178-200	55-65
PLDLA	1-3	2-5	40-50	1,25-1,27	Amorfo	50-60
PGA	6-7	4-8	60-70	1,50-1,70	220-230	35-45

O PLLA, pelas propriedades mecânicas apresentadas e por apresentar degradação lenta (uma vez que é um polímero com alta cristalinidade) pode ser aplicado na área médica em: cirurgias ortopédicas e buco-maxilo-faciais; dispositivos de liberação de fármacos; suturas; enxertos.^{22; 27;21}

2.4.1 Poli (L-co-D,L) ácido lático (PLDLA)

O PLDLA é o copolímero formado pela mistura racêmica dos isômeros L e D do monômero de ácido lático. Ao formar esta mistura, os isômeros não se organizam de forma a criar uma estrutura cristalina, resultando em um polímero amorfo.^{21;27;28}

Uma vez que este copolímero apresenta-se na forma amorfa, possui maior taxa de degradação sem geração de fragmentos cristalinos, ou seja, é absorvido em menor tempo pelo organismo quando comparado ao PLLA (alta cristalinidade), sendo esta uma das vantagens do uso do PLDLA. O tempo de absorção destes polímeros encontra-se na Tabela 2.^{21;25;26; 29}

Aliado a esta maior taxa de degradação, o PLDLA também apresenta propriedades mecânicas adequadas (Tabela 1, seção 2.4), o que o torna almejado para aplicações onde é necessária a regeneração óssea.^{25; 26}

Alguns exemplos de aplicações são como parafusos, cirurgias ortopédicas e buco-maxilo-faciais e enxertos ósseos.²⁸

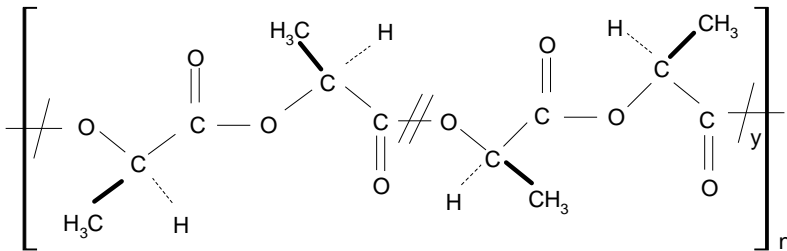
Tabela 2: Tempo de degradação de polímeros bioreabsorvíveis.

Fonte: RIBEIRO, 2006.²¹

Polímero	PLLA	PLDLA	PGA
Tempo de degradação até a completa bioabsorção (meses)	>24	12~16	6~12

Neste trabalho será utilizado o copolímero PLDLA (poli (L-co-D,L ácido láctico)), na proporção 70:30. Isto é, 70% L-lático e 30% D,L, cuja fórmula é apresentada na Figura 5.^{26; 30}

Figura 5: Fórmula molecular do poli (L-co-D,L ácido láctico).



Fonte: Adaptado de EVONIK, 2011. Disponível em:

<http://biomaterials.evonik.com/product/biomaterials/Specifications/evonik-specification-resomer-lr-708.pdf>, acessado em: 12 jan. 2013.³⁰

2.5 COMPÓSITOS DE PLDLA/BG58S

O tecido ósseo é composto basicamente por uma combinação de polímeros naturais e apatita biológica, combinando as características de

diferentes materiais. Com o intuito de reproduzir estas características, *scaffolds* são produzidos combinando dois ou mais materiais para que sejam alcançadas propriedades mecânicas e outras características semelhantes às do material do tecido ósseo.³

Compósitos de polímeros biodegradáveis, como PLDLA, PGA e PHB, e cerâmicas bioativas, como hidroxiapatita (HAp), tricálcio fosfato (TCP) e biovidros, são estudados por apresentarem características necessárias para implantação óssea como: boas propriedades mecânicas, biodegradabilidade e biocompatibilidade.^{3;31;32}

O biopolímero degradável sintético, PLDLA, é utilizado em cirurgias ortopédicas uma vez que apresenta elevada estabilidade mecânica e excelente biocompatibilidade *in vivo*.²⁹ Entretanto, esta característica de biodegradabilidade deve ser controlada.

Quando implantados no corpo, os biopolímeros degradáveis iniciam sua degradação, sofrendo hidrólise e tornando o meio ácido, podendo provocar uma resposta inflamatória indesejável. Para que seja neutralizada a acidez provocada no meio pela degradação dos polímeros, podem ser adicionadas fases inorgânicas a este, como por exemplo, partículas de biovidro. Como já mencionado na seção 2.2.1, os biovidros quando em contato com o meio corpóreo, iniciam trocas de íons que neutralizam o pH ácido da degradação polimérica. Além disso, a dissolução do biovidro favorece a formação de camadas de apatita cristalina tanto na sua superfície, quanto, na superfície do polímero, o que controla a degradação ácida do mesmo e proporciona ao polímero a característica de bioatividade. Característica pouco presente nos biopolímeros quando puros.^{33;31;29;3;34; 35}

Na Tabela 3 são apresentados alguns exemplos de compósitos biodegradáveis e bioativos de biopolímeros e biocerâmicas utilizados na engenharia de tecidos para fabricação de *scaffolds*, bem como suas propriedades mecânicas, sendo todos os exemplos citados de *scaffolds* porosos.^{3;29}

Tabela 3: Propriedades mecânicas de compósitos biodegradáveis e bioativos.
 Fonte: adaptado de REZWAN, 2006 e CHEN, 2008.^{29; 3}

Biocompósito		Porcentagem de cerâmica (%)	Porosidade (%)	Tamanho de poro (µm)	Compressão (C), Tração (T), Flexão (F) (MPa)	Módulo(MPa)
Cerâmica	Polímero					
HA	PLLA	50 (wt)	85-96	100x300	0,39 (C)	10-14
HA	PCL	25 (wt)	60-70	450-740		76-84
Bioglass®	PLLA	25-50 (wt)	77-80	~100	1,5-3,9 (T)	137-260
Bioglass®	PLDLA	5-29 (wt)	94	~100	0,07-0,08	0,65-1,2
Biovidro fosfato A/W	PLDLA	20-40 (wt)	85,5-95,2	10-50	0,017-0,020 (C)	0,075-0,12
Osso esponjoso				98-154	4-12 (C)	100-500

Para produção destes *scaffolds* compósitos de biopolímero e biocerâmica, podem ser utilizadas variadas técnicas de fabricação para que se obtenha uma estrutura tridimensional. Esta estrutura 3D deve apresentar uma rede interconectada de poros para que as células migrem em seu interior e ocorra vascularização e conseqüente crescimento do tecido ósseo.^{22;35} Dentre estas técnicas podem ser citadas: evaporação de solvente/lixiviação de sal; separação de fase termicamente induzida; emulsificação/liofilização; formação de espuma por gás; *solid free-form* (SFF, fabricação livre), também chamada prototipagem rápida, onde se encontra a técnica de SLS (sinterização seletiva a laser), sendo esta última a utilizada neste trabalho.^{3;29;22}

Scaffolds de PLDLA/BG58S foram produzidos por variadas técnicas, porém, quando se tratando da técnica de produção via SLS, foram encontrados *scaffolds* de PCL/HAp, PLDLA/HAp, PLDLA/b-TCP, PEEK/HAp, etc,^{36;37;38;} sem serem encontrados exemplos de trabalhos com *scaffolds* de PLDLA/BG58S produzidos por SLS.

2.6 PROTOTIPAGEM RÁPIDA (OU, PROCESSOS DE FABRICAÇÃO POR ADIÇÃO DE CAMADAS)

Prototipagem rápida (PR) é um termo que se refere a processos de fabricação auxiliados por computador (CAM – *Computer Aided Manufacturing*) nos quais são produzidos protótipos ou modelos de geometria complexa com suporte de sistema computacional (CAD-*Computer Aided Design*).^{39; 40}

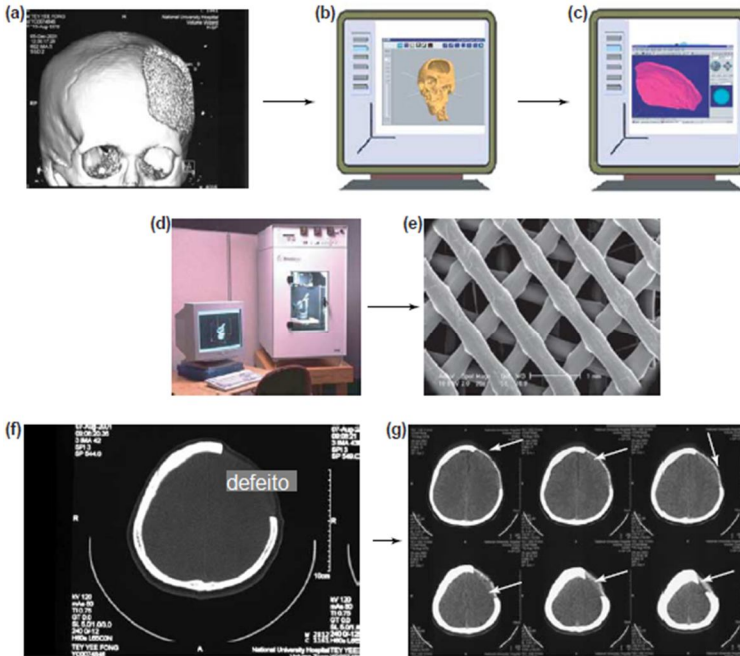
Os processos de prototipagem rápida se caracterizam por serem realizados pela adição sucessiva de camadas de material para formação de um componente final sólido, não necessitando de retirada de material até a obtenção da geometria final almejada. Este tipo de processamento proporciona a obtenção de peças tridimensionais com geometria complexa e alto grau de precisão.^{39; 41}

Para que seja gerado um sólido através de camadas, um modelo 3D é gerado em CAD e posteriormente convertido para um arquivo tipo STL (*Structural Triangular Language*). Este arquivo STL é fatiado em planos paralelos, sendo cada uma destas “fatias” correspondentes a uma camada de construção do protótipo nas máquinas de PR.^{39; 40}

Dentre os principais tipos de processamento de PR para fabricação de protótipos pode-se citar: estereolitografia (*stereolithography*), impressão tridimensional (3DP, *3Dimensional Printing*), modelagem por fusão e deposição (FDM, *Fused Deposition Modeling*), manufatura de objetos laminados (LOM, *Laminated Object Manufacturing*) e a sinterização seletiva a laser (SLS).^{39; 41; 42; 40}

Na Figura 6 é apresentado um esquema como exemplo das etapas de uma técnica de PR para obtenção de um *scaffold*, onde (a) apresenta uma tomografia de fratura de crânio, cujos dados são transferidos para o *software* da máquina de FDM; (b) no *software* é desenvolvido o desenho da peça a ser encaixada na fratura; (c) apresenta o desenho produzido camada por camada, de acordo com as fatias de imagens da fratura provenientes da tomografia (f, g). Após a finalização do projeto da peça, o equipamento de FDM (d) produz o *scaffold* (e) específico de acordo com a fratura.³⁶

Figura 6: Esquema representando etapas da FDM.



Fonte: Adaptado de HUTMACHER; SITTINGER; RISBUD, 2004.³⁶

2.6.1 Sinterização Seletiva a Laser (SLS)

Dentre uma das técnicas da tecnologia de prototipagem rápida apresenta-se a sinterização seletiva a laser, a qual produz objetos tridimensionais sólidos por meio da sinterização de camada por camada de material particulado (cerâmico, metálico ou polimérico).⁴²

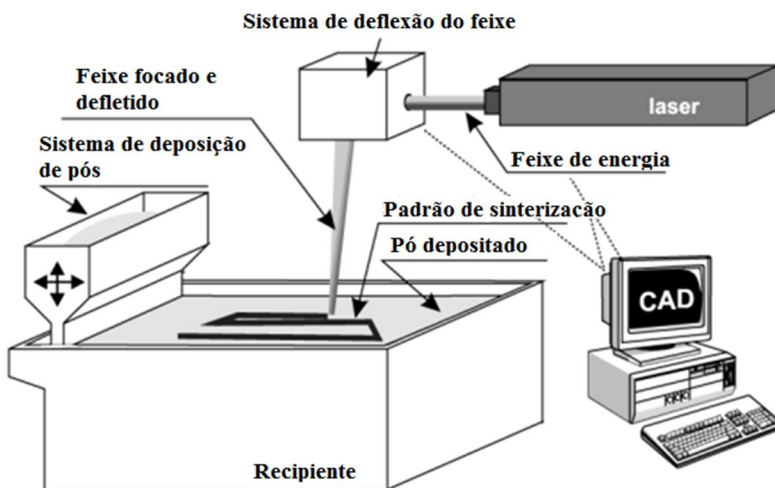
A primeira camada de material particulado é depositada em uma plataforma móvel que se movimenta com um grau de liberdade, no plano paralelo ao solo. Esta plataforma é aquecida por resistências. No caso de materiais poliméricos, estas temperaturas são próximas da T_g (quando é utilizado material amorfo) ou temperaturas 10 a 20°C abaixo da T_m (quando material semicristalino).^{42;39}

Com o auxílio de um sistema óptico, o feixe de laser varre esta primeira camada depositada, sinterizando o material nas regiões determinadas pelo comando do arquivo STL previamente gerado. Em seguida, a plataforma é movimentada para a adição de uma nova camada de material particulado em cima da anterior e a sinterização do

material adicionado corresponde à fatia seguinte gerada pelo arquivo STL. Este processo se repete até que sejam sinterizadas todas as camadas do material, formando o sólido final com a geometria desejada. Posteriormente a peça é retirada e são realizados acabamentos finais, caso necessário (ex: jateamento, limpeza, pintura, entre outros).^{39; 42;43;36;44;45}

Na Figura 7 é apresentado um esquema com os principais componentes da máquina de SLS: plataforma móvel (recipiente, onde é depositado o pó e onde são encontradas as resistências); sistema de deposição de pó (para a formação das camadas consecutivas); sistema de deflexão do feixe (onde se encontra o sistema óptico, composto pelos espelhos galvanométricos e lentes); computador (software) e o canhão de laser.^{39; 46}

Figura 7: Esquema de funcionamento da técnica de SLS.



Fonte: Adaptado de KRUTH et al, 2003.⁴⁶

Os tipos de laser mais utilizados na técnica de SLS são: laser de CO_2 , com comprimento de onda de $10,6 \mu\text{m}$, recomendado para sinterização de materiais poliméricos e orgânicos. E laser de Nd:YAG, com comprimento de onda de $1,06 \mu\text{m}$, recomendado para sinterização de materiais cerâmicos e metálicos.^{39; 40; 41; 47}

A sinterização dos materiais poliméricos, também chamada de coalescência, ocorre por meio dos seguintes eventos:

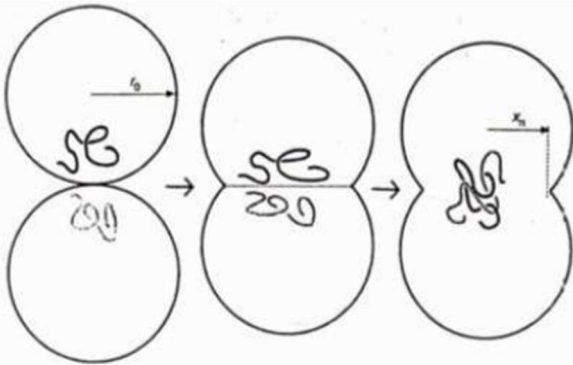
Microfusão localizada (locais de contato) e crescimento dos contatos (necks): com a incidência da energia do feixe laser, as áreas de contato das partículas de pó adjacentes iniciam pontos de fusão e, por consequência, iniciam a formação de *necks*, os quais terão seu diâmetro aumentado com o progresso do processo de sinterização.

Transporte de material por fluxo viscoso: é o mecanismo de transporte verificado com a formação dos *necks*.

Entrelaçamento físico entre as cadeias poliméricas de partículas adjacentes: ao se apresentarem no estado fundido, as cadeias poliméricas adquirem grande mobilidade, emaranhando-se com cadeias poliméricas da partícula adjacente, promovendo a rigidez mecânica dos *necks* após o resfriamento.^{42;39;41;47; 40}

Na Figura 8 é apresentado um esquema dos eventos de coalescência citados.

Figura 8: Ilustração esquemática do processo de coalescência das partículas de polímero.



Fonte: KLAUSS, 2010.³⁹

Algumas das vantagens apresentadas pela técnica de SLS são alta liberdade geométrica e alta precisão dimensional (com resolução de micrometros - μm), o que permite a obtenção de peças com detalhes bem definidos e a obtenção de designs complexos.

Um fator que tem influência sobre estes detalhes é a microestrutura das peças produzidas. Esta microestrutura final depende dos parâmetros de processo e características geométricas do material particulado utilizado, como formato das partículas e distribuição de

tamanho, os quais influenciam na densidade do material compactado.^{45;48;49}

Alguns dos parâmetros de processamento que influenciam as propriedades finais das peças obtidas por SLS são as variáveis do laser (potência, velocidade de varredura e diâmetro pontual do foco) e a temperatura da plataforma móvel.

Por meio dos parâmetros relacionados ao laser pode-se estimar a densidade de energia do laser, a qual representa a quantidade de energia fornecida para as partículas de pó por unidade de área, eq. 1.^{50;51;52}

$$\rho = \frac{P}{v \times d} \quad (1)$$

Onde ρ é a densidade de energia do laser (J/mm^2), P é a potência do laser (W), v é a velocidade de varredura (mm/s) e d é o diâmetro pontual do foco (mm).

A temperatura da plataforma móvel, como já citado, deve permanecer de 10 a 20°C abaixo da T_m para polímeros semicristalinos e, para polímeros amorfos a temperatura de referência deve ser a T_g . Esta temperatura da plataforma funciona como um pré-ativador do mecanismo de sinterização, permitindo que o laser forneça apenas a quantidade de energia necessária para a finalização do processo, ou seja, para que ocorra a união entre as partículas.^{39;42}

A SLS tem como aplicações mais comuns a produção de protótipos e peças para diferentes áreas, como eletrônica, mecânica e médica (fabricação de *scaffolds* porosos).^{39; 48}

2.7 APLICAÇÕES DE SCAFFOLDS EM LESÕES BUCO-MAXILO-FACIAIS

Lesões e fraturas ósseas ocorridas na região facial e região maxilar devem ser estabilizadas para que o tecido danificado reestabeleça sua forma e função.

Para que ocorra esta estabilização podem ser utilizadas placas e parafusos reabsorvíveis para fixação dos fragmentos ósseos e *scaffolds* para utilização como enxerto ósseo (em substituição a enxertos autógenos, alógeno, etc).^{21;53}

Para serem utilizados como enxerto ósseo, os *scaffolds* devem apresentar algumas características, como osteocondução, dentre outras

já citadas anteriormente. Estes enxertos irão reparar, restaurar ou substituir o tecido ósseo lesionado, devendo ser posteriormente absorvidos à medida que conduzem células para a formação de um novo tecido. Dentre as lesões frequentemente tratadas com a utilização de enxertos podem ser citadas: perda óssea do rebordo alveolar por doença periodontal e cirurgias traumáticas; perda óssea do rebordo por razões fisiológicas como falta de função do mesmo ou carga protética inadequada; preenchimento de lesões provocadas por cistos; levantamento de seio maxilar; etc.^{53; 54; 55}

3 MATERIAIS

3.1 VIDRO BIOATIVO (BG58S)

Para o processamento via sol-gel do biovidro 58S, empregado como partícula dispersa na matriz polimérica, foram utilizados os materiais listados a seguir:

- Tetraetil ortosilicato (TEOS): Sigma Aldrich, grau reagente 98%, 131903-1litro, lote STBB8489V. A partir deste composto é obtida a sílica, presente nos biovidros.
- Trietil fosfato (TEP): Sigma Aldrich, 99,8%, 538728-1litro, lote MKBC5090. A partir deste composto é obtido o fosfato presente nos biovidros, sendo este fosfato influente na biodegradação dos BGs.
- Nitrato de cálcio tetra hidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$): Vetec, cod. 000663.08, lote 1006753. Deste são obtidos os íons de cálcio que, junto com os íons de fósforo, participam da formação da camada de tecido na superfície do material.
- Ácido nítrico (HNO_3): Vetec, 68%, cód. 000451.06, lote:0903829. Utilizado para controlar o pH da solução.
- Álcool etílico (etanol): Synth, P.A.-A.C.S., lote A1084.01.BJ. Utilizado como solvente da solução.

3.2 PLDLA

O PLDLA empregado como matriz polimérica dos *scaffolds* foi sintetizado pelo Laboratório de Biomateriais do Centro de Ciências Médicas e Biológicas da Pontifícia Universidade Católica (PUC) de Sorocaba, São Paulo, pela professora Eliana A. de Rezende Duek.

3.3 SBF

Para realização do ensaio de degradação das amostras de BG58S e das amostras de compósitos de PLDLA/BG58S foi produzido SBF (simulated body fluid), solução em que a concentração de íons se assemelha à do plasma sanguíneo humano.

Para preparar 1l de SBF, reagentes foram adicionados em 960 ml de água destilada nas seguintes quantidades e na seguinte ordem: 6,5456 g de NaCl; 2,2682 g de NaHCO_3 ; 0,373 g de KCl; 0,1419 g de Na_2HPO_4 ; (a solução é aquecida a 36,5-37°C); 0,3049 g de

MgCl₂*6H₂O; 10 mL 1M-HCl; 0,3675 g de CaCl₂; 0,071 g de Na₂SO₄; 6,057 g de Tris [CNH₂(CH₂OH)₃]. Após a completa dissolução o pH foi ajustado para 7,4 por meio da adição de 30 ml de 1M HCl.^{56,57}

4 MÉTODOS

4.1 VIDRO BIOATIVO 58S

4.1.1 Síntese pelo processo sol-gel

O vidro bioativo 58S foi sintetizado pelo processo sol-gel como descrito a seguir:

- Um *erlenmeyer* foi posicionado sobre um agitador magnético, em banho-maria a 50 °C (temperatura necessária para iniciar as reações na solução), Figura 9;

- TEOS foi adicionado ao *erlenmeyer*, em seguida, adicionou-se 2M de ácido nítrico e etanol;

- Após 30 minutos, tempo necessário para que se iniciassem as reações, foi adicionado TEP ao *erlenmeyer*, e necessários mais 20 minutos de reação;

- Nitrato de cálcio tetrahidratado foi adicionado, sendo necessário mais 1h para que a solução fosse finalizada;

- A solução pronta foi colocada em estufa (Estufa de esterilização e secagem, Nova Ética, 402/D) a 70 °C por 24h para promover a secagem e geleificação do material;

- Posteriormente foi realizado o tratamento térmico do material em forno tipo mufla a 600 °C, com taxa de aquecimento de 1 °C/min e patamar de 120 minutos;

- Após ser tratado termicamente, o material foi submetido à moagem em moinho excêntrico (BP Engenharia, CB2-T), obtendo partículas com $d_{50} = 12,15\mu\text{m}$ (Mastersizer 2000, Malvern Instruments) e densidade do pó de $2,50\text{ g/cm}^3$ (picnômetro a hélio).

Figura 9: Aparato para síntese via sol-gel do biovidro 58S.



Fonte: Autor.

4.1.2 Caracterização do vidro bioativo

O material particulado proveniente da síntese sol-gel foi empregado como partícula dispersa na matriz polimérica dos compósitos.

Também foi utilizado para realizar os seguintes ensaios:

- Difração de raio-X (DRX) (Difratômetro vertical, Philips PW1150);
- Espectroscopia por infravermelho (FTIR) (Espectrofotômetro Bruker, Tensor 27), pastilha de BG particulado e KBr na proporção 1:100,^{58;59}
- e, para produção de amostras para o ensaio de degradação.

4.1.3 Ensaio de degradação

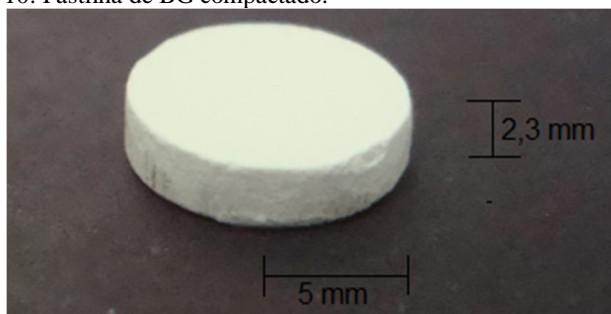
Ao ser implantado no corpo humano, o BG58S apresenta reações como a formação de camadas de apatita carbonatada em sua superfície, fato que provoca variação de massa no mesmo. Além da formação de HCA, o mesmo também sofre degradação devido às reações com o meio. Para observar estes fenômenos, foi realizado o

ensaio de degradação do material com a posterior observação do mesmo no microscópio eletrônico de varredura (MEV).

4.1.3.1 Preparação de amostras

Para realização do ensaio de degradação, foram produzidas pastilhas de BG compactado. Estas pastilhas foram compactadas com BG puro, sem aditivos, em uma prensa uniaxial com pressão inicial de compactação de 65 MPa durante 1 minuto e, em seguida, pressão de 170 MPa, também durante 1 minuto. A matriz utilizada foi uma matriz cilíndrica de diâmetro 10 mm, sendo compactadas amostras com altura de 2,30 mm ($\pm 0,06$),⁶⁰ como apresentado na Figura 10.

Figura 10: Pastilha de BG compactado.



Fonte: Autor.

4.1.3.2 Método do teste

Cada pastilha teve sua massa medida e foi colocada em um tubo Falcon contendo 40 ml de SBF.⁶⁰ Estes tubos foram colocados em banho termostático (Banho Maria com agitação, Nova Ética, 500/D) a 37°C, para simular a temperatura do corpo humano. O pH da solução de cada tubo foi medido após 5h de imersão das amostras. Um grupo de 3 amostras foi retirado do banho após 1 dia, sendo medido o pH da solução de SBF do tubo e a massa das amostras úmidas (excesso de fluido retirado com lenço de papel). Após pesadas, estas foram secas em estufa a 35°C por 48h e suas massas foram novamente medidas. Este processo foi repetido para outros grupos de 3 amostras cada, retirados do banho após 5, 15 e 30 dias de imersão.

Com os valores obtidos foi calculada a variação de massa das amostras, como descrito na equação 2.^{61;62}

$$Vm = \frac{(M_S - M_0)}{M_0} \times 100 \quad (2)$$

Vm refere-se à variação de massa da amostra, M_S refere-se à massa da amostra seca e M_0 à massa inicial.

A partir deste mesmo ensaio também pode ser calculada a porcentagem de absorção de fluido pela amostra, utilizando-se os valores das massas das amostras úmidas antes de as mesmas serem colocadas na estufa, de acordo com a equação 3.⁶²

$$Ab = \frac{(M_U - M_0)}{M_0} \times 100 \quad (3)$$

Ab refere-se à absorção de fluido (água) pela amostra, M_U refere-se à massa da amostra úmida e M_0 à massa inicial.

4.2 POLI (L-co-D,L) ÁCIDO LÁTICO (PLDLA)

4.2.1 Moagem do material polimérico

Para poder ser processado juntamente com o BG58S visando a formação dos *scaffolds*, o PLDLA, originalmente em pélete, passou por um processo de cominuição com auxílio de nitrogênio líquido.

Péletes foram depositados em pequena quantidade (40 a 60g) em um liquidificador industrial (Liquidificador industrial de aço inox, TRON, 25000 rpm). Nitrogênio líquido foi adicionado e o material foi moído. O processo foi repetido sempre com quantidade de material entre 40 e 60g, até obtenção de quantidade necessária de material com partículas na faixa granulométrica entre 150 e 300 μ m, medidos por meio de peneiras granulométricas. Estes tamanhos de partícula foram utilizados por serem os indicados para obtenção da porosidade necessária aos *scaffolds*.^{3;63} O rendimento total da moagem foi de aproximadamente 35%.

4.2.2 Caracterização do polímero PLDLA

Uma vez que o polímero foi sintetizado em laboratório, foram realizados os seguintes ensaios de caracterização, utilizando-se as partículas obtidas no processo de moagem:

- Cromatografia de permeação em gel (GPC) (Schmadzu, UFLC), polímero particulado foi solubilizado em THF;
- Espectroscopia por infravermelho (FTIR) (Bruker Spectrophotometer, Tensor 27), PLDLA particulado foi aquecido e conformado em pastilha;
- Ressonância magnética nuclear (RMN) (Varian, NMR AS 400);
- Calorimetria exploratória diferencial (DSC) (Shimadzu, DSC – 50), temperatura inicial de 20°C com taxa de aquecimento de 5°C/min até 200°C (atmosfera de nitrogênio).

4.3 FABRICAÇÃO DE COMPÓSITOS DE PLDLA/BG58S POR SLS

4.3.1 Processamento por SLS

Para produção dos compósitos de PLDLA/BG58S, inicialmente foram arbitradas as porcentagens de biovidro a serem adicionadas à matriz polimérica. Estas porcentagens foram 0, 10, 20, 30 e 40% em massa de BG58S, cujos valores são observados na literatura com diferentes técnicas de fabricação e biovidros.^{34;64;65}

Para obtenção destas composições de *scaffolds*, PLDLA particulado e cada respectiva porcentagem em massa de BG (em pó) foram misturados em um misturador em Y por 45min.

Conforme seção 2.6.1, a plataforma móvel da máquina de SLS foi aquecida a 50°C e uma camada de polímero puro (0% m de BG) foi depositada. Esta primeira camada de material foi sinterizada de acordo com o desenho do corpo de prova a ser produzido (corpo de prova retangular, sendo feito em lotes de 4 peças. Isto é, cada desenho a ser sinterizado apresentava 4 retângulos de 35,0 x 5,0 x 2,3 mm cada.).

A plataforma foi baixada 760 µm no plano paralelo ao solo e uma nova camada de polímero puro foi depositada sobre a camada anterior, sendo este novo material espalhado e alinhado por meio de um perfil metálico reto. Em seguida esta nova camada de material foi sinterizada com o mesmo desenho, proporcionando a sinterização desta nova camada e a sinterização entre a camada anterior e a nova. Este processo foi repetido uma terceira vez, formando um sólido final com espessura de 2,3 mm através da deposição de 3 camadas de material.

Todas as composições de material foram produzidas de igual maneira, com temperatura da plataforma de 50°C, 3 camadas de material com movimentação da plataforma de 760 µm por camada e produção de corpos de prova retangulares.

Em relação às propriedades do laser, foram produzidos corpos de prova com características variadas, utilizando-se o laser de CO₂, da marca Synrad Series 48 lasers, refrigerado a água, com potência nominal de 20W e diâmetro pontual do foco de 0,2 mm.

A velocidade de varredura do feixe laser inicialmente utilizada foi arbitrada de acordo com trabalhos anteriores^{39;42} como sendo 44,5 mm/s. Contudo, de acordo com experimentos realizados com variação de potência e de velocidade do feixe laser, melhores resultados de coalescência entre as partículas deste material foram observados para velocidade de 39,8 mm/s, sendo esta velocidade mantida constante e utilizada em todos os processamentos. A potência também foi variada, sendo utilizado 5,4W (ver seção 5.3.1).

4.3.2 Caracterização do material compósito

Após a produção dos *scaffolds* pela técnica de SLS, os mesmos foram caracterizados por meio de análise dinâmico-mecânica (DMA), ensaio de degradação, citotoxicidade, análise da porosidade através de tomografia computadorizada e microscopia eletrônica de varredura.

4.3.2.1 Análise dinâmico-mecânica (DMA)

Os corpos de prova foram avaliados através do equipamento de análise dinâmico-mecânica (DMA, Q800, TA Instruments /laboratório CIMJECT), sob flexão de dois pontos (*Single Cantilever*), sendo obtidas curvas de tensão-deformação, módulo de armazenamento (E') e tangente de perda (tan δ). Os corpos de prova foram preparados via SLS já com o formato especificado para o tipo de garra utilizado com *Single Cantilever* (retangular: 35,0 x 5,0 x 2,3 mm).

As curvas de tensão-deformação foram obtidas com força aplicada a uma taxa de 2N/min até força máxima de 18N, com pré-carga de 0,0001N, a 30°C.

O módulo de armazenamento e a tangente de perda foram obtidas com temperatura inicial de 30°C e final de 65°C, com taxa de aquecimento de 3°C/min, e isoterma de 1min, frequência de 1Hz e deformação máxima de 0,5%.

4.3.2.2 Ensaio de degradação

Corpos de prova retangulares produzidos via SLS foram cortados em pedaços de 5,0 x 5,0 x 2,3 mm.

Para cada condição de amostra foram colocados 3 desses pedaços em um tubo Falcon com 15 ml de SBF. Cada amostra teve sua massa medida e em seguida, foi depositada no tubo Falcon.

Estes tubos foram colocados em banho termostatizado (Banho Maria com agitação, Nova Ética, 500/D) a 37°C, para simular a temperatura do corpo humano. O primeiro grupo de amostras foi retirado do banho após 1 dia, sendo medido o pH da solução de SBF do tubo e a massa das amostras úmidas (excesso de fluido retirado com lenço de papel). Após pesadas, estas foram secas em estufa a 35°C por 48h e suas massas foram novamente medidas. Este processo foi repetido para os outros grupos de amostras retirados do banho após 5, 15 e 30 dias de imersão.

Com os valores obtidos foram calculadas a variação de massa das amostras e a absorção de água pelas mesmas, como descrito nas equações 2 e 3, apresentadas anteriormente.

4.3.2.3 Citotoxicidade - método de incorporação do vermelho neutro

Para realização do teste de citotoxicidade, as amostras passaram pelo processo de esterilização por raios gama, com dose aplicada de 20 kGy, pela empresa CBE Embrarad.

O teste de citotoxicidade foi realizado pelo método de incorporação do vermelho neutro e a linhagem de células utilizada foi NCTC Clone 929 (fibroblastos de tecido conectivo de camundongo), no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN-SP, pela professora Sizue Ota Rogero.

Neste método foram utilizados os extratos das amostras diluídos com o meio de cultura da manutenção da linhagem celular em 50; 25; 12,5 e 6,25%. Soluções com a linhagem celular foram colocadas em microplacas de 96 poços, sendo estas incubadas por 24 h a 37 °C em estufa úmida com 5% de CO₂ para a formação da monocamada celular. Em seguida o meio de cultura foi substituído pelos extratos das amostras diluídos nas respectivas proporções e pelos controles positivo (material que causa dano celular, citotóxico) e controle negativo (material que não causa dano à célula, atóxico), todos em triplicata, e a placa incubada novamente a 37°C. 24h depois, o extrato foi substituído por solução de MEM (meio mínimo de Eagle) contendo 50 µg de vermelho neutro/ml.

Após a incorporação do vermelho neutro pelas células, o meio foi retirado e as células foram lavadas primeiramente com solução PBS (tampão fosfato-salina) e em seguida com solução de CaCl₂ em formaldeído. Em seguida, cada poço da placa recebeu solução de ácido

acético em etanol, a placa sofreu agitação por 10 min e posterior leitura em um espectrofotômetro (Organon Teknika Reader 530 version 1.24), em 540 nm. Através deste resultado foi calculada a média de viabilidade celular (%) em relação ao controle (100%) para cada grupo de amostras.^{66;67}

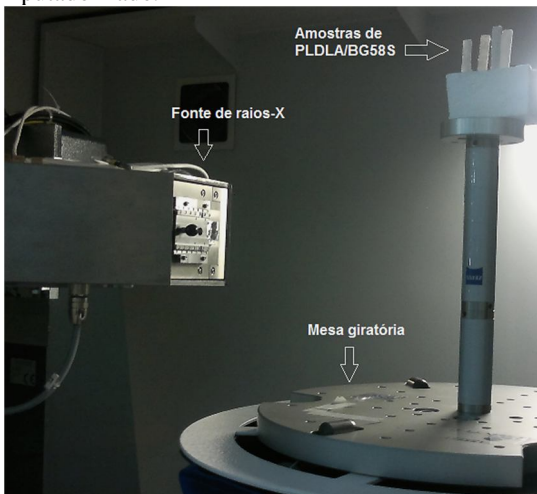
4.3.2.4 Porosidade

Para observação e medição da porosidade foi utilizado o tomógrafo computadorizado (Metrotom 1500, Zeiss), do LABMETRO/UFSC, locado nas dependências do LABelectron.

Amostras de compósitos de PLDLA/BG58S foram presas em um cubo de isopor para que ficassem na posição vertical, sem que houvesse anteparo ou objetos ao seu redor, como pode ser observado na Figura 11.

Este cubo de isopor foi posicionado no topo de uma haste, a qual se encontra em uma mesa giratória, com rotação de 360° para que todo o volume das amostras fosse varrido por feixes de raio-X, gerando projeções 2D dos objetos. Estas projeções (radiografias) foram processadas pelo *software* Volume Graphics, gerando imagens 3D. Neste mesmo *software* foi possível medir a porosidade das amostras através das imagens 3D geradas.^{68;69}

Figura 11: Amostras de PLDLA/BG58S no interior da câmara de leitura do tomógrafo computadorizado.



Fonte: Autor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentados os resultados da análise da estrutura e da composição do biovidro sintetizado via sol-gel.

Na sequência serão apresentados os resultados dos ensaios de caracterização do polímero PLDLA e, por fim, os resultados das propriedades mecânicas e químicas dos *scaffolds* compósitos produzidos por SLS.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO BIOVIDRO 58S SINTETIZADO

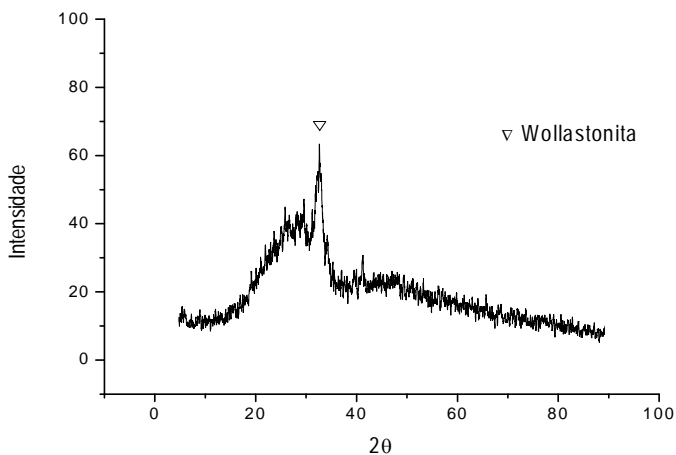
5.1.1 Difração de raio-X (DRX)

Para caracterização da estrutura do BG58S sintetizado foi obtido o espectro de DRX do mesmo, apresentado na Figura 12.

Neste espectro pode ser observada a região amorfa do material e o pico em 2θ igual a 34, indicando a presença da fase cristalina wollastonita (CaSiO_3). Esta fase apresenta influência na bioatividade do material, auxiliando na formação da camada de apatita carbonatada, responsável pela ligação com o tecido ósseo.^{16;70;71}

Este espectro comprova a estrutura do BG sintetizado, mostrando que o mesmo apresenta estrutura de acordo com literatura.

Figura 12: Espectro de DRX do BG58S sintetizado



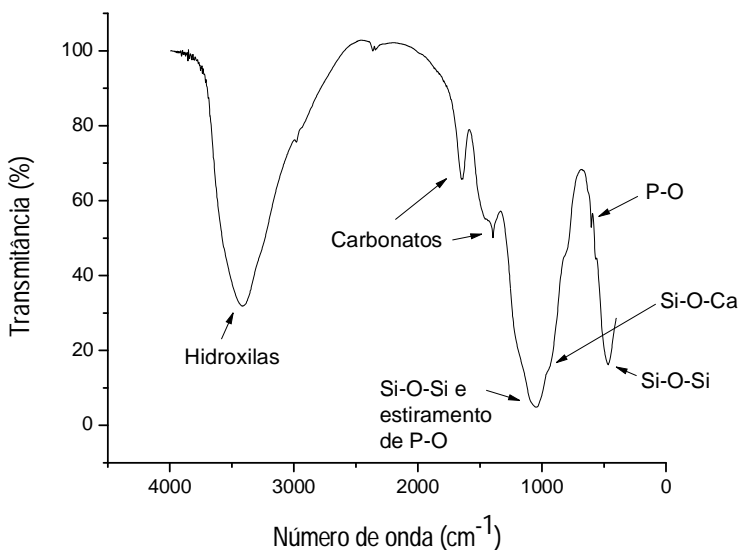
5.1.2 Espectroscopia por infravermelho (FTIR)

O espectro de FTIR obtido para o BG 58S é apresentado na Figura 13. Neste pode-se observar o pico de 465 cm^{-1} referente às ligações de dobramento de Si-O-Si. Em 601 cm^{-1} , o pico referente à P-O, modo de dobramento vibracional do PO_4^{-3} tetraédrico na HCA cristalina (apatita carbonatada), provavelmente resultante da reação do pó de BG com a umidade atmosférica. A inclinação próxima a 930 cm^{-1} é associada ao modo de vibração de Si-O-Ca. A região em torno de 1045 cm^{-1} é referente ao estiramento assimétrico de Si-O-Si e à vibração de estiramento de P-O. Em 1395 e 1647 cm^{-1} estão presentes bandas referentes a carbonatos e em 3410 cm^{-1} bandas referentes a hidroxilas.

17;70;56;72

Todos os picos apresentados são compatíveis com a composição do BG58S apresentada na literatura.

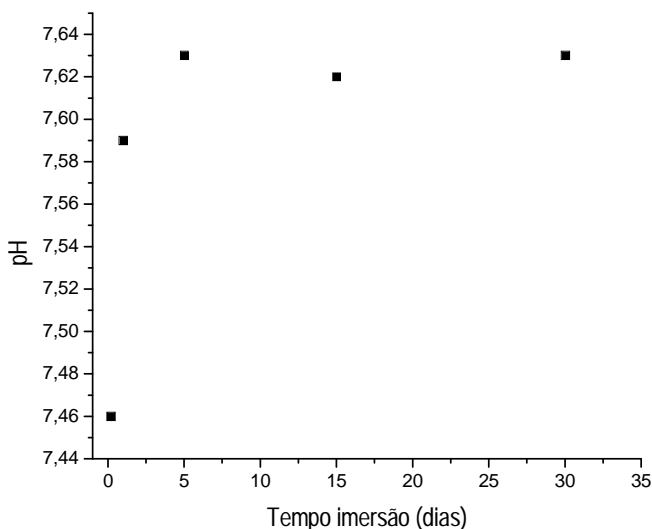
Figura 13: Espectro de FTIR do BG58S sintetizado.



5.1.3 Ensaio de degradação

Os valores de pH, variação de massa e absorção de fluido (água do SBF) das amostras de BG produzidas e analisadas conforme seção 4.1.3, são apresentados respectivamente nas Figuras 14, 15 e 16.

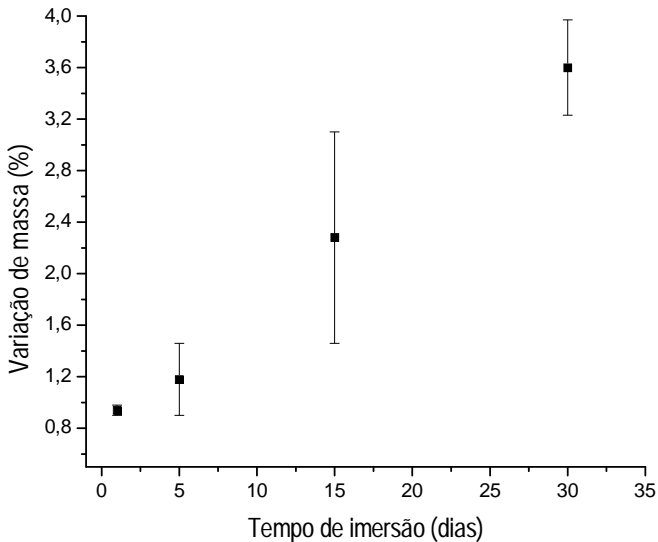
Figura 14: Gráfico do comportamento do pH em relação ao tempo de imersão das amostras.



Conforme Figura 14, pode-se observar o aumento do pH da solução de SBF no tempo inicial de imersão das amostras de BG. E posterior estabilização do mesmo com o tempo de imersão. Isto se deve à troca iônica do material com a solução. Quando as amostras são imersas em SBF, cátions do material são substituídos por íons H^+ da solução para formação da camada de grupos silanóis (Si-OH) na superfície do material. Com a retirada de íons H^+ do meio, ocorre o aumento do pH. Posteriormente, como o meio não é trocado, ocorre o equilíbrio desta troca iônica com consequente equilíbrio do pH do meio.

Na Figura 15, pode-se observar o aumento de massa do material após o tempo de imersão do mesmo em SBF.

Figura 15: Variação de massa das amostras de BG 58S sintetizado.

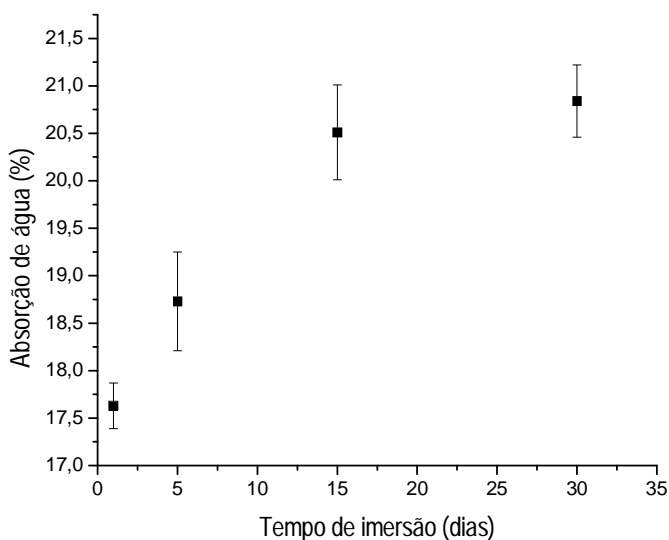


Como já mencionado, quando o material é imerso em SBF, ocorre intensa troca iônica do mesmo com o meio, sendo íons de H^+ incorporados pelo material. Devido a esta intensa troca iônica, ocorre a quebra de ligações Si-O-Si do material, liberando sílica solúvel no meio. Os grupos silanóis da superfície do material sofrem policondensação formando uma camada rica em SiO_2 . Em seguida, ocorre migração de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} para superfície do material formando um filme amorfo rico em $CaO-P_2O_5$ na superfície da camada rica em SiO_2 . Este filme amorfo cristaliza devido à incorporação de íons OH^- e CO_3^{2-} da solução e forma uma camada de apatita carbonatada. Quando o material encontra-se no corpo humano, a partir desta camada de apatita formada, ocorre a adsorção de fatores de crescimento biológico, ativando a diferenciação de células, que promovem a formação e crescimento do tecido ósseo e a consequente interação do material com o tecido.^{10;15}

Uma vez que as amostras encontram-se imersas em SBF, forma-se esta nova camada de apatita na superfície do material, sendo esta a provável responsável pelo aumento de massa do mesmo. Esta camada pode ser observada nas micrografias das amostras obtidas através do microscópio eletrônico de varredura, as quais são apresentadas na seção 5.1.4.

Na Figura 16 pode-se observar que as amostras de BG58S absorvem grande quantidade de água quando imersas e a porcentagem de absorção de água aumenta com o tempo de imersão das mesmas.

Figura 16: Absorção de água das amostras do BG58S sintetizado.



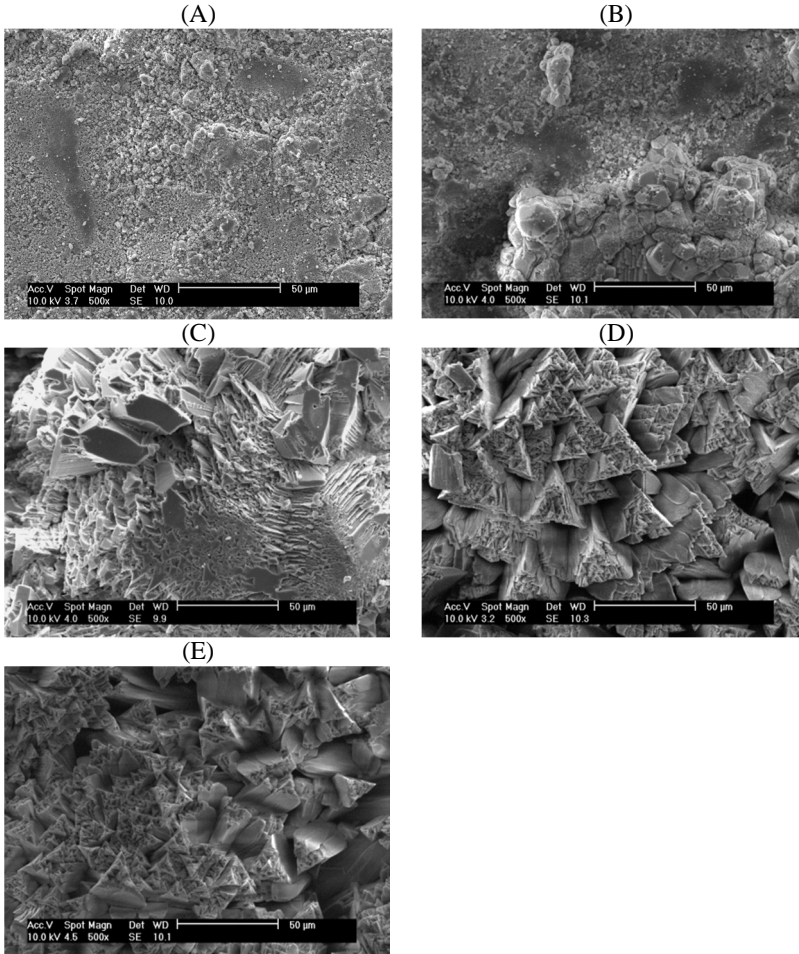
5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após o ensaio de degradação, as pastilhas de BG58S foram levadas ao MEV (Microscópio Eletrônico de Varredura, Philips XL 30), obtendo micrografias com 500x de aumento e espectros de análises químicas.

As micrografias (Figura 17) apresentam a superfície de uma pastilha de BG sem ter sido imersa em SBF; em sequência, a superfície de pastilhas imersas em SBF por 1, 5, 15 e 30 dias.

Nas pastilhas imersas pelos períodos de 1 e 5 dias (imagens B e C) é observado o início de formação dos cristais na superfície do material. Nas pastilhas imersas por 15 e 30 dias (imagens D e E) pode ser vista a camada de cristais de apatita que apresenta estruturas facetas e recobre toda a superfície da amostra.

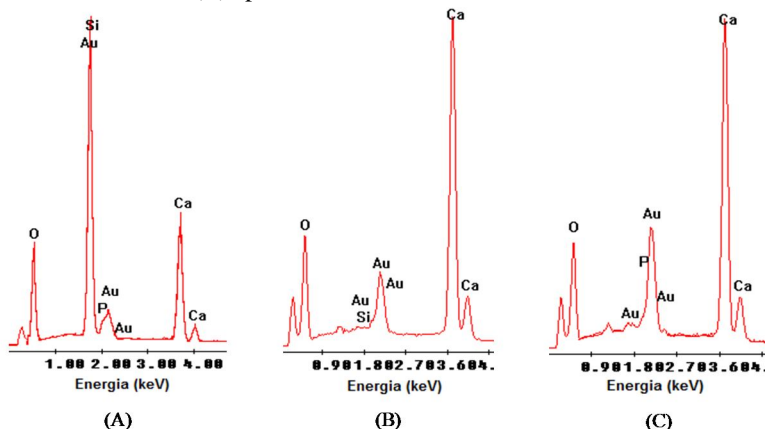
Figura 17: (A) Micrografia de pastilha de BG sem imersão em SBF. (B) Micrografia de pastilha de BG após 1 dia de imersão. (C) Micrografia de pastilha de BG após 5 dias de imersão. (D) Micrografia de pastilha de BG após 15 dias de imersão. (E) Micrografia de pastilha de BG após 30 dias de imersão.



Para confirmar a composição química destas estruturas, são apresentados na Figura 18, os espectros da análise química realizada através da energia dispersiva de raios-X (EDS) (microscópio eletrônico de varredura, Philips, XL30). No primeiro espectro (A) é apresentada a composição química do BG sem imersão, onde pode ser observada a

presença de silício, cálcio, fósforo e oxigênio (principais componentes do BG) e a presença de ouro devido ao recobrimento da amostra para a análise. No espectro B, é apresentada a composição química do BG após 15 dias de imersão em SBF, contendo maior concentração de cálcio e menor concentração de silício. No espectro C, é apresentada a composição química do BG após 30 dias de imersão, contendo maior concentração de cálcio e apresentando fósforo, necessário à composição da camada de apatita. Ambos os espectros (B e C) confirmam a formação da estrutura de apatita na superfície do material.

Figura 18: Espectros da composição química do BG (A) sem imersão, (B) após 15 dias de imersão e (C) após 30 dias de imersão.



5.2 CARACTERIZAÇÃO DO POLÍMERO PLDLA

5.2.1 Cromatografia de permeação em gel (GPC) e calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Para caracterização do polímero sintetizado pelo laboratório de Biomateriais da PUC de Sorocaba/SP, foram realizados ensaios de GPC e DSC, cujos resultados encontram-se na Tabela 4 e na Figura 19, respectivamente.

Tabela 4: Resultados das massas moleculares médias do PLDLA, obtidos pela técnica de GPC.

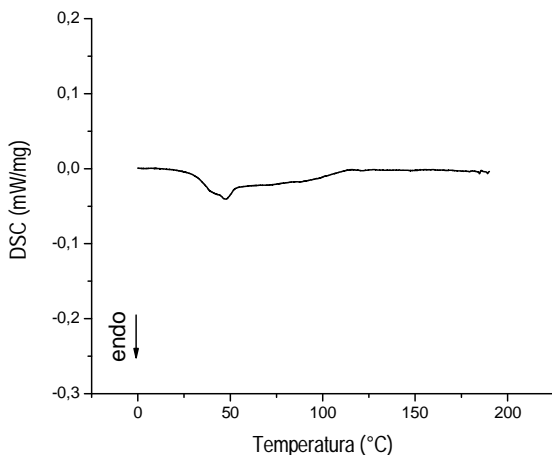
Massas moleculares médias	Valores	Unidade
Massa molecular numérica média (Mn)	78.498	g/mol
Massa ponderal média (Mw)	153.596	g/mol
Massa molecular Z média (Mz)	267.521	g/mol
Massa molecular (Z+1) média (Mz1)	399.986	g/mol
Índice de polidispersividade (Mw/Mn)	1,95668	-

A massa molecular dos biopolímeros está diretamente ligada ao seu tempo de degradação, onde polímeros de baixa massa molecular apresentam degradação mais rápida que polímeros de alta massa molecular ($M_w > 10^5$ g/mol). Além disso, polímeros de alta massa molecular, como o PLDLA, apresentam maior resistência mecânica, característica necessária para a aplicação como fixadores de fraturas ósseas.^{26;28;21}

No gráfico de DSC apresentado para o polímero amorfo PLDLA, pode ser observada a T_g do material a 42°C . Os valores regulares para este polímero estão entre 50 e 60°C .^{26;73}

Este valor apresenta-se menor que a literatura, podendo ser devido à massa molecular mais baixa do material sintetizado, ou, ao armazenamento irregular do material previamente ao ensaio.

Figura 19: Gráfico de DSC do polímero PLDLA sintetizado.

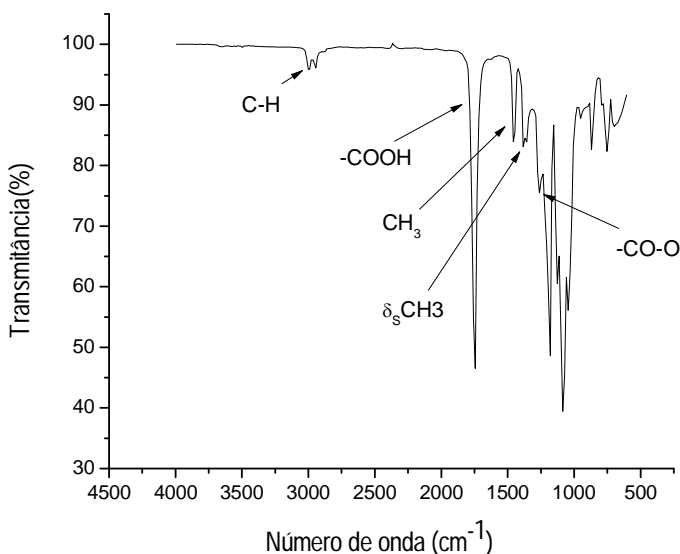


5.2.2 Espectroscopia por infravermelho (FTIR)

O espectro de FTIR obtido para o polímero PLDLA sintetizado é apresentado na Figura 20, onde podem ser observados alguns picos. Os picos iniciais estão em 3000 e 2943 cm^{-1} , os quais se referem às ligações de estiramento de C-H, devido aos grupos metil e metino. O pico em 1744 cm^{-1} refere-se ao estiramento dos grupos de carboxila. Em 1458 cm^{-1} estão presentes os modos de deformação assimétrica de CH_3 . Em 1383 cm^{-1} é observada a deformação simétrica de $\delta_s\text{CH}_3$. O pico de 1261 cm^{-1} refere-se aos modos de estiramento dos grupos éster $-\text{CO}-\text{O}$.^{73;24;26}

Os picos apresentados representam grupos importantes da estrutura molecular do PLDLA, o que mostra que a estrutura do polímero sintetizado está de acordo com a literatura.^{24;26}

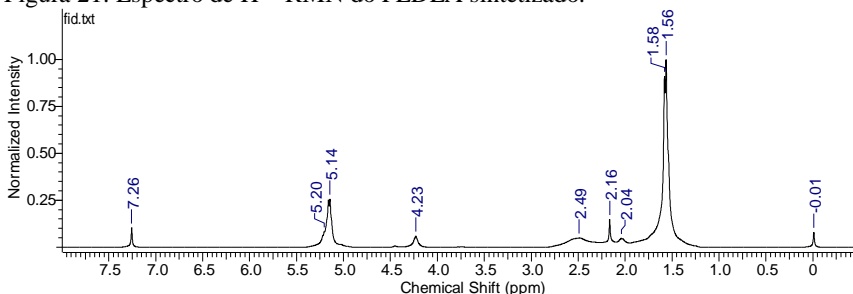
Figura 20: Espectro de FTIR do polímero PLDLA sintetizado



5.2.3 Ressonância magnética nuclear (RMN)

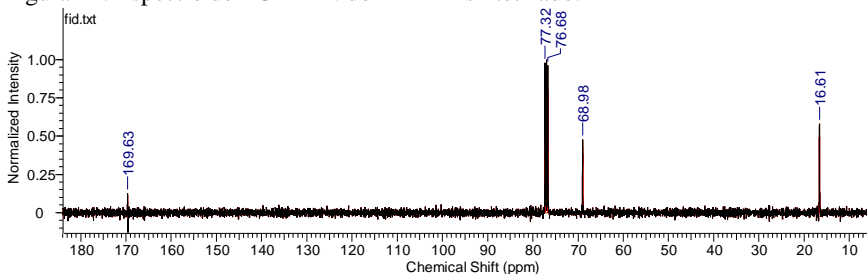
A Figura 21 apresenta o espectro de RMN H^1 do polímero PLDLA, utilizando $CDCl_3$. O pico duplo (dubletos) em 1,56 ppm representa prótons de $-CH_3$ vizinhos a C-H; o multipletto em 5,14 ppm representa os grupos $-CH$ presentes na cadeia polimérica e em 7,26 ppm são representados os grupos $-OH$.^{24;26;73}

Figura 21: Espectro de H^1 -RMN do PLDLA sintetizado.



A Figura 22 apresenta o espectro de RMN- ^{13}C do polímero de PLDLA sintetizado, usando $CDCl_3$. O pico em 16,61 ppm representa grupos $-CH_3$, em 68,98 ppm grupos $-CH$ e em 169,63 ppm, grupos $-COO$.^{24;26}

Figura 22: Espectro de ^{13}C -RMN do PLDLA sintetizado.



Em ambos os espectros de RMN foram identificados os grupos importantes da estrutura molecular do polímero PLDLA, mostrando que o polímero sintetizado apresenta a estrutura do PLDLA.²⁶

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS *SCAFFOLDS* COMPÓSITOS

5.3.1 Processamento dos *scaffolds* compósitos

De acordo com os testes realizados na máquina de SLS, foi possível processar polímero puro com apenas 2W de potência. Entretanto, com adição de 10% em massa (%m) de BG, a potência mínima necessária para que ocorresse coalescência entre as partículas foi de 4,2W. Com adição de 20% m de BG, foram necessários 4,6W de potência e com adição de 30% m de BG foram necessários 5,4W.

Outras porcentagens de BG não foram possíveis de serem fabricadas, pois com 40% m de BG ou mais, 5,4W de potência não forneceu a energia suficiente para a coalescência do material.

Para que fosse possível a produção de compósitos com valores de BG acima de 30% m, a potência do laser deveria ser aumentada, contudo, com valores de 5,6W de potência o polímero apresentou elevada degradação. Também não foi possível aumentar a temperatura da plataforma, pois acima de 50°C o material iniciava processo de amolecimento, aderindo à superfície da plataforma, impossibilitando sua retirada sem causar danos à peça.

Foi observado que, com 5,4W de potência do laser, era possível a sinterização de polímero puro (00% m de BG) sem ocorrência de degradação; logo, foram processados compósitos com 0, 10, 20 e 30% m de BG, todos com 5,4W de potência.

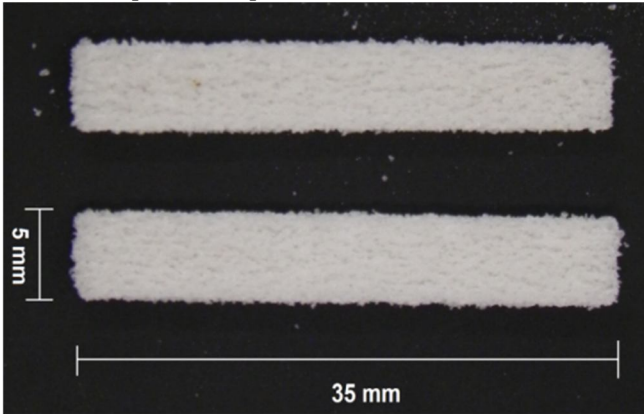
Os grupos processados e ensaiados são apresentados na Tabela 5, com suas respectivas potências, densidade de energia (ρ) e nome para identificação.

Tabela 5: Composições, potências do laser e densidade de energia para as amostras processadas. Todas com velocidade do feixe de 39,8 mm/s.

Composição	Potência do Laser (W)	Nome amostra	ρ (J/mm ²)
Polímero puro	5,4	00BG5,4W	0,678
10% m de BG	5,4	10BG5,4W	0,678
20% m de BG	5,4	20BG5,4W	0,678
30% m de BG	5,4	30BG5,4W	0,678

Na Figura 23 é apresentada a imagem de duas amostras produzidas via SLS.

Figura 23: Amostras produzidas por SLS.



Fonte: Autor.

5.3.2 Análises mecânicas

Através do ensaio no equipamento de DMA podem ser obtidas as curvas de tensão-deformação dos materiais. Para obtenção destas curvas, foram analisadas 3 amostras de cada condição, sendo o gráfico apresentado na sequência. Também é apresentada a Tabela 6, com as médias dos valores de módulo de flexão (E), tensão de ruptura (σ) e deformação (ϵ) destes materiais.

Figura 24: Gráfico de tensão-deformação das amostras.

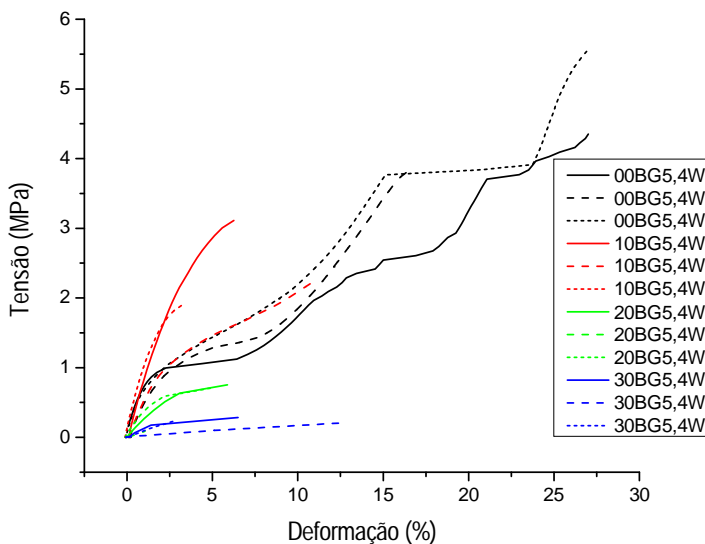


Tabela 6: Nome e valores das propriedades mecânicas das amostras.

Amostra	E (MPa)	σ (MPa)	$\epsilon_{ruptura}$ (%)
00BG 5,4W	68,07 \pm 16,16	3,69 \pm 0,12	23,45 \pm 6,09
10BG 5,4W	79,00 \pm 23,75	2,43 \pm 0,61	6,92 \pm 3,94
20BG 5,4W	20,88 \pm 11,87	0,52 \pm 0,37	4,01 \pm 2,58
30BG 5,4W	10,09 \pm 08,39	0,24 \pm 0,04	7,36 \pm 5,13

A partir do gráfico de tensão-deformação apresentado e da Tabela 6, pode-se observar que: compósitos com 10%*m* de BG apresentaram valores mais elevados de módulo elástico em relação às amostras de polímero puro e de amostras com 20 e 30%*m* de BG. E os valores do módulo elástico dos compósitos decresceram à medida que foi aumentada a porcentagem de biovidro.

Em relação aos valores de tensão de ruptura, pode-se observar que com o aumento da porcentagem de biovidro na matriz polimérica, os valores de tensão decresceram, apresentando valores significativamente baixos para compósitos com 20 e 30%*m* de BG, em comparação com polímero puro.

Estes menores valores de rigidez do compósito com 20 e 30% m de BG podem ser explicados pela presença de partículas de biovidro, as quais dificultam a formação de *necks* entre as partículas poliméricas, promovendo uma coalescência deficiente nos compósitos. Acima de 20% m de BG, a presença de partículas cerâmicas também pode atuar como concentrador de tensão, o que reduz a resistência mecânica do compósito.

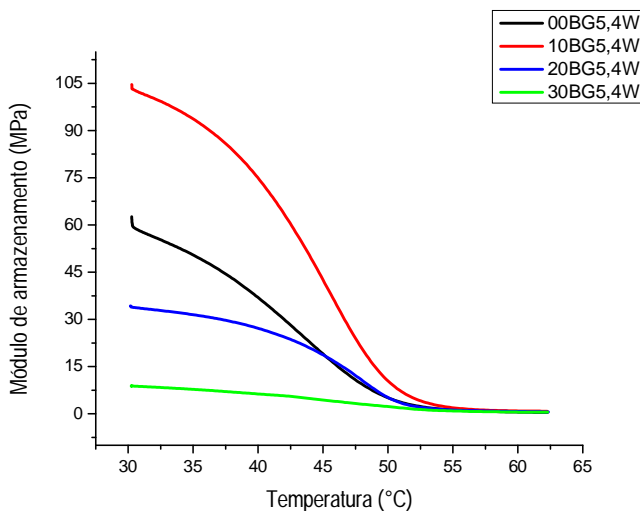
Os valores de deformação apresentados indicam maiores valores para os polímeros puros e valores decrescentes para aumento de porcentagem de BG (10 e 20% m). Compósitos com 30% m de BG apresentaram maiores valores de deformação que compósitos com 10 e 20% m de BG, no entanto estes se devem à um possível escorregamento das amostras de 30% m BG nas garras do aparelho de DMA, devido sua fragilidade ao serem presas às garras do equipamento.

Valores de módulo de flexão (E) e de tensão de ruptura (σ) decresceram com a adição de partículas de biovidro, tendo o compósito de 10% m de BG apresentado melhores resultados para estes valores.

Além dos gráficos de tensão-deformação, o equipamento de DMA permite analisar as características viscoelásticas do material por meio das curvas de tangente de perda ($\text{Tan } \delta$) e módulo de armazenamento (E'), ambos em função da temperatura.

As variações dos módulos de armazenamento das amostras em função da temperatura são apresentadas na Figura 25.

Figura 25: Módulo de armazenamento das amostras.

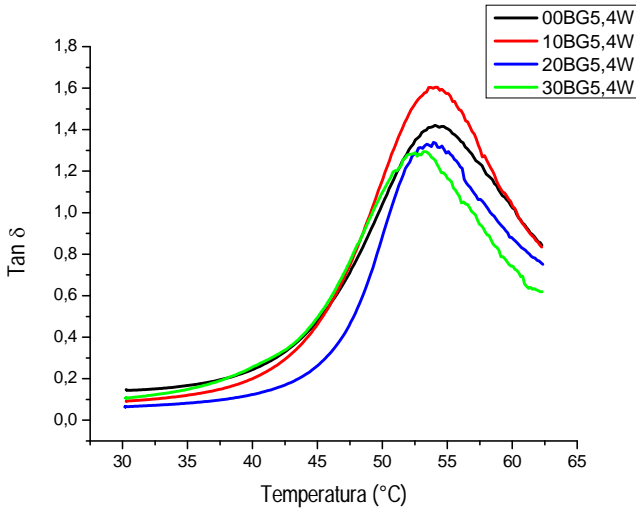


Através do gráfico, pode-se observar que amostras de polímero puro apresentaram módulo de armazenamento ~60MPa, com queda a 50°C. Amostras de 10BG5,4W apresentaram valor de módulo (~105MPa) maior que amostras de polímero puro, apresentando acentuada queda a 52°C. Amostras de 20BG5,4W apresentaram valor de módulo (~33MPa) inferior ao de 10BG5,4W e polímero puro, apresentando queda suave a 50°C. Amostras de 30BG5,4W apresentaram o menor valor de módulo (~9MPa), porém, apresentaram queda mínima no valor do mesmo.

Esta queda dos valores apresentada em torno da temperatura de 50°C caracteriza-se pela temperatura de transição vítrea do material (T_g), na qual ocorre a movimentação das cadeias poliméricas, provocando um decaimento do valor do módulo do material.

As curvas de tangente de perda ($\tan \delta$) dos materiais são apresentadas na Figura 26.

Figura 26: Tangente de perda das amostras.



Nos gráficos de $\text{Tan } \delta$ são obtidas as temperaturas de transição vítrea (T_g) dos materiais. Estas são definidas pela temperatura correspondente ao pico de $\text{Tan } \delta$. As T_g dos materiais estão apresentadas na Tabela 7, juntamente com seus valores de $\text{Tan } \delta$.

Tabela 7: Valores de T_g e $\text{Tan } \delta$ das amostras.

Amostra	T_g (°C)	$\text{Tan } \delta$ (-)
00BG5,4W	54	1,42
10BG5,4W	54	1,60
20BG5,4W	53	1,34
30BG5,4W	52	1,28

A partir do gráfico e da tabela apresentados, pode-se dizer que as amostras com presença de biovidro (10BG5,4W e 20BG5,4W) apresentaram os picos de $\text{Tan } \delta$ com mínima variação de temperatura em relação à amostra 00BG5,4W, não sendo considerado deslocamento neste eixo. Já a amostra de 30BG5,4W apresentou deslocamento para a esquerda no gráfico (2°C). Contudo, este deslocamento também apresenta-se pouco significativo.

Uma vez que a presença de biovidro no polímero parece não influenciar no deslocamento da temperatura de máxima $\text{Tan } \delta$, sugere-se

que o mesmo não apresenta influência sobre a T_g do material polimérico.

Por meio destes dados pode-se observar também a diferença entre os valores de $\tan \delta$ (amortecimento), sendo este obtido pela relação entre os módulos de perda (E'') e de armazenamento (E') ($\tan \delta = E''/E'$), isto é, a relação entre a energia dissipada e a energia armazenada pelo material. Com os picos mais altos indicando maior dissipação de energia do material.

O pico para a amostra de 10BG5,4W apresenta valores maiores de $\tan \delta$ em relação às outras amostras, indicando maior dissipação de energia deste material.

Os valores de T_g obtidos pela análise de DMA apresentaram valores acima do obtido por DSC (42°C), porém, dentro da faixa apontada pela literatura (50 a 60°C).^{26;73} Isto se deve a uma provável falha de armazenamento da amostra polimérica anteriormente ao ensaio de DSC, uma vez que a amostra polimérica deve ser mantida em ambiente controlado.

5.3.3 Porosidade

Através das micrografias obtidas via MEV (seção 5.3.5) e da análise realizada com o tomógrafo, foi observada a presença de porosidade intercomunicante nos *scaffolds* produzidos. Também foi confirmada a presença de poros com tamanho entre 100 e 300 μm , sendo ambas características necessárias para que haja migração das células para o interior do *scaffold*, sua fixação e posterior crescimento do tecido.

Na Tabela 8 são apresentados os valores de porosidade dos *scaffolds* obtidos por meio da análise realizada pelo tomógrafo computadorizado.

Tabela 8: Valores de porosidade dos *scaffolds* obtidos pelo tomógrafo.

Amostra	Porosidade (%)
00BG5,4W	38
10BG5,4W	26
20BG5,4W	27
30BG5,4W	30

Na Figura 27 é apresentada a imagem obtida das amostras pelo *software* Volume Graphics. As amostras desta imagem foram

seccionadas transversalmente e as imagens dessas seções são apresentadas na Figura 28.

Figura 27: Imagem dos *scaffolds* de PLDLA/BG58S obtida pelo *software* Volume Graphics.

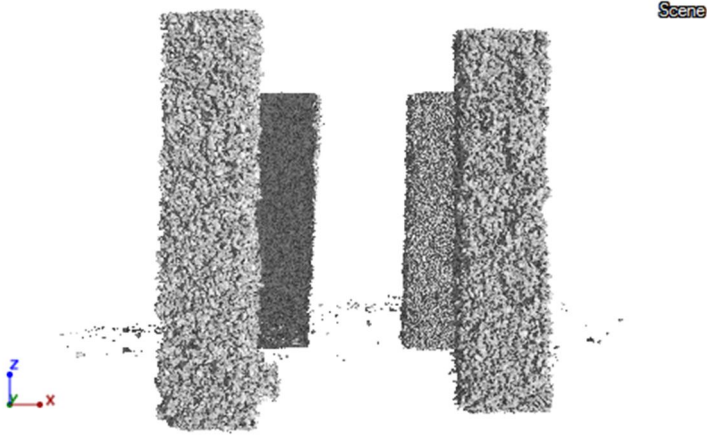
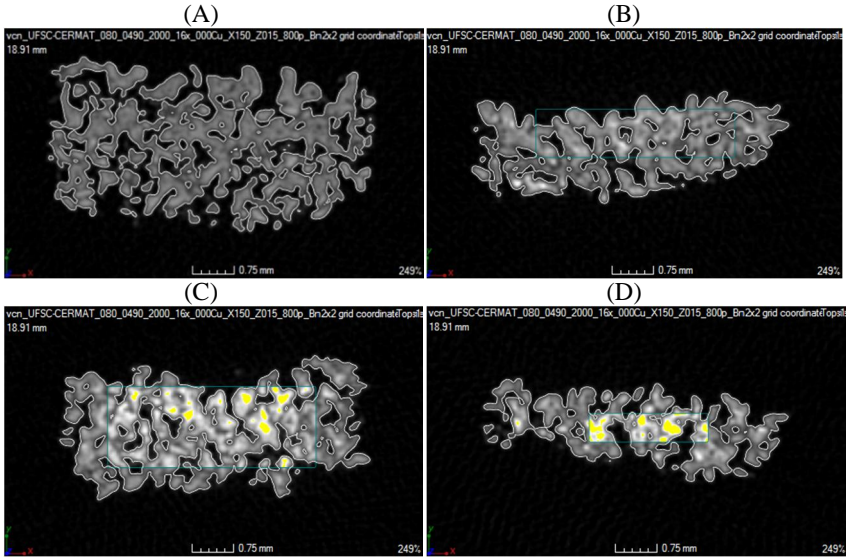


Figura 28: Seção transversal das amostras: (A) 00BG5,4W, (B) 10BG5,4W, (C) 20BG5,4W e (D) 30BG5,4W. Todas com linha de escala de 0,75mm.



Através das imagens obtidas pela tomografia, também se pode inferir que, a coalescência deficiente das partículas poliméricas encontra-se apenas na superfície do material (micrografias de MEV, seção 5.3.5). Já no interior das peças, a coalescência entre as partículas está presente, o que confere certa resistência mecânica à peça, como observado na seção anterior por meio dos resultados obtidos via DMA.

Uma vez que o tomógrafo computadorizado possui baixa resolução para estes corpos de prova (30 μm), a porosidade dos *scaffolds* apresentou valores discrepantes não compatíveis com as imagens observadas no MEV. Logo, foram realizados cálculos teóricos², utilizando-se os valores geométricos, massa e densidade dos materiais (BG e PLDLA), sendo os valores apresentados na tabela 9 e estando de acordo com as imagens apresentadas.

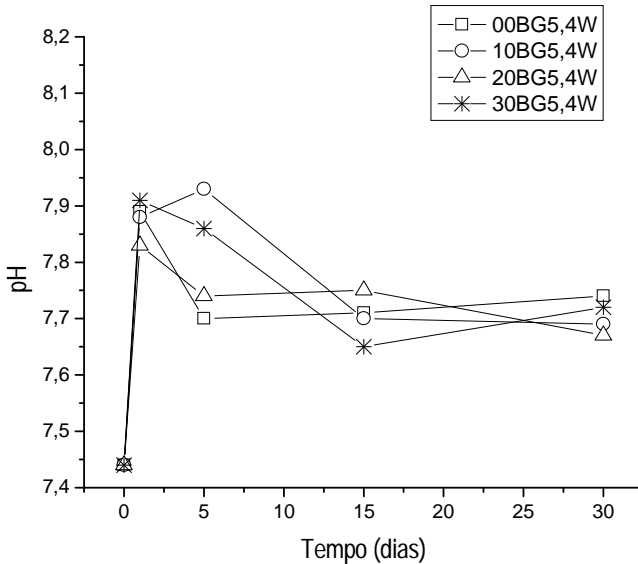
Tabela 9: Valores de porosidade dos *scaffolds* obtidos por cálculo.

Amostra	Porosidade (%)
00BG5,4W	85
10BG5,4W	65
20BG5,4W	79
30BG5,4W	69

5.3.4 Ensaio de degradação

Através do ensaio de degradação das amostras sinterizadas via SLS, foram obtidos os gráficos do comportamento de pH das amostras (Figura 29), da variação de massa das mesmas (Figura 30) e da absorção de água (Figura 31). Cada ponto representa a média de medidas de 3 amostras e são apresentadas linhas de tendência para melhor visualização do comportamento.

Figura 29: Variação de pH das amostras sinterizadas via SLS em função do tempo de imersão (em dias).



As amostras foram imersas em solução de SBF com pH inicial medido de 7,44.

Após 1 dia de imersão todas as soluções apresentaram aumento no valor de pH, devido a absorção de íons provenientes da solução pelas amostras.

Após 5 dias de imersão as amostras absorveram grande quantidade de água (Figura 31). Este fluido absorvido inicia o processo de degradação do material polimérico, ou seja, a hidrólise das ligações ésteres dos mesmos, liberando oligômeros no meio. Esta quebra dos grupos funcionais, com posterior liberação para o meio, torna a solução mais ácida. Contudo, para amostras com porcentagem de BG, pode-se observar que a diminuição do pH não foi acentuada para 10BG5,4W e 30BG5,4W.

O pH das amostras de 10BG5,4W apresentou aumento após 5 dias de imersão. Isto ocorre uma vez que as partículas de BG apresentam caráter básico, amenizando a acidez do meio provocada pela liberação dos oligômeros poliméricos. Além disso, a troca iônica entre solução e amostra inicia a formação de camada de HCA na superfície do material que apresenta porcentagens de BG.

Após 15 dias, a camada de HCA formada não consegue se sustentar na superfície do material, delaminando e soltando-se da superfície do mesmo. Contudo, assim que esta camada de HCA se desprende, uma nova camada é formada na superfície, sendo este um ciclo contínuo, uma vez que a solução de SBF não é renovada.

Com esta simultânea formação e delaminação de camadas de HCA na superfície do material, o pH da solução se estabiliza após 15 e 30 dias de imersão.

Este comportamento apresentado pelas amostras é o comportamento que se deve ser observado para que haja biocompatibilidade dos materiais.

Figura 30: Variação de massa das amostras sinterizadas via SLS em função do tempo de imersão (em dias).

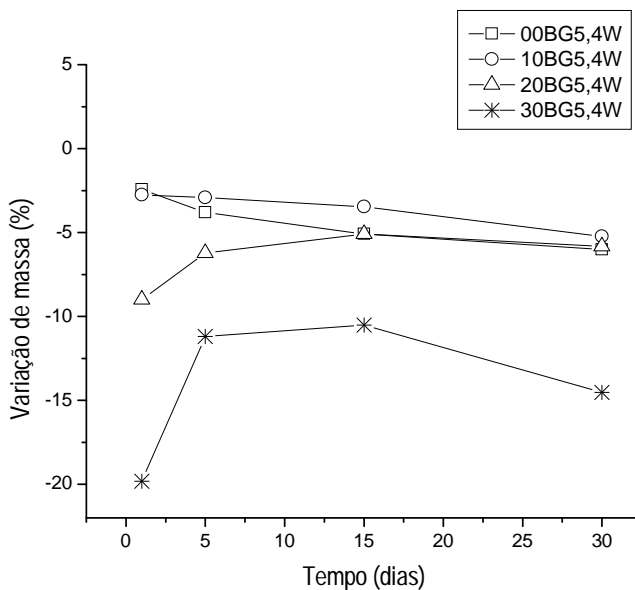


Tabela 10: Valores de variação de massa das amostras ao longo do tempo de imersão.

Dias de imersão	Variação de Massa (%)			
	00BG5,4W	10BG5,4W	20BG5,4W	30BG5,4W
1	-2,43±1,19	-2,75±1,14	-9,00±5,73	-19,82±9,95
5	-3,80±0,70	-2,92±0,48	-6,22±0,55	-11,19±8,85
15	-5,08±1,00	-3,46±0,54	-5,09±0,89	-10,52±5,90
30	-6,01±0,09	-5,23±0,55	-5,82±1,20	-14,52±5,60

Através da Figura 30, pode-se observar que todas as amostras apresentaram variação de massa negativa. As amostras de 00BG5,4W apresentaram queda nos valores de variação de massa ao longo do tempo, isto é, a reação de hidrólise se mostrou presente e evoluiu ao longo do tempo de imersão.

As amostras de 10BG5,4W apresentaram comportamento constante de perda de massa durante o tempo de imersão. Apesar de a matriz polimérica sofrer hidrólise e perder massa, as partículas de BG promovem a formação de camada de HCA na superfície do material, o que pode se equiparar à massa polimérica perdida, proporcionando uma perda de massa com valores próximos ao longo do tempo.

As amostras de 20BG5,4W apresentam redução na perda de massa ao longo do tempo de imersão, isto é, há um indicativo de ganho de massa após 5 dias de imersão, podendo ser também devido à formação da camada de HCA. Após 15 e 30 dias, há ainda formação de camada de HCA na superfície do material.

As amostras de 30BG5,4W apresentaram elevados valores de perda de massa nas primeiras 24h de imersão. Após 5 dias, há um indicativo de ganho de massa, podendo este ser observado pela formação de HCA na superfície do material e pela elevada absorção de água do material, uma vez que seu excesso pode não ter sido totalmente removido antes da pesagem da massa úmida (vide seção 4.3.2.2). Também pode ser observado pela Tabela 10 que este material apresenta elevados desvios em suas medidas, mostrando sua menor estabilidade mecânica quando imerso em SBF, ou seja, fraca coalescência entre as partículas.

Por meio das micrografias de MEV, a serem apresentadas na seção 5.3.5, pode-se observar que as amostras contendo partículas de BG apresentaram um deficiente coalescimento entre si. Esta má sinterização de partículas permite a rápida entrada de água nas amostras, sendo absorvida em grande quantidade, como pode ser observado na Figura 31. Quando as amostras são retiradas da solução, parte da água que havia no interior das amostras escorre para seu exterior, levando algumas das partículas que não apresentavam resistência mecânica suficiente para se manterem unidas à amostra (sem formação de *necks*). Este fator também apresenta influência na variação de massa das amostras e é compatível com o resultado apresentado.

Figura 31: Absorção de água das amostras sinterizadas vis SLS em função do tempo de imersão (em dias).

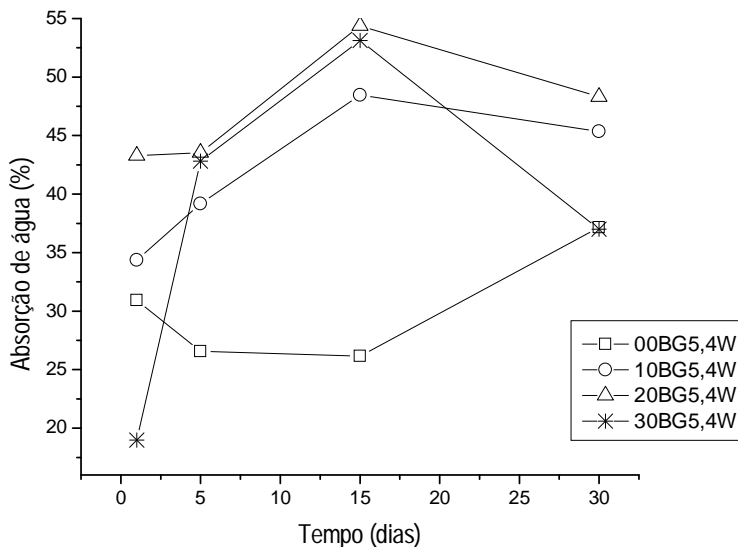


Tabela 11: Valores de absorção de água pelas amostras ao longo do tempo de imersão.

Dias de imersão	Absorção de água (%)			
	00BG5,4W	10BG5,4W	20BG5,4W	30BG5,4W
1	30,94±22,60	34,36±10,45	43,29±5,98	18,99±18,01
5	26,56±4,31	39,18±4,57	43,55±3,15	42,82±5,02
15	26,16±3,41	48,47±8,25	54,39±2,45	53,13±5,61
30	37,15±16,62	45,35±4,81	48,31±2,08	37,01±9,52

A partir da Figura 31, pode-se observar que todas as composições absorvem elevada quantidade de água e amostras com a presença de partículas de biovidro apresentam maior absorção de água.

5.3.5 Microscopia eletrônica de varredura

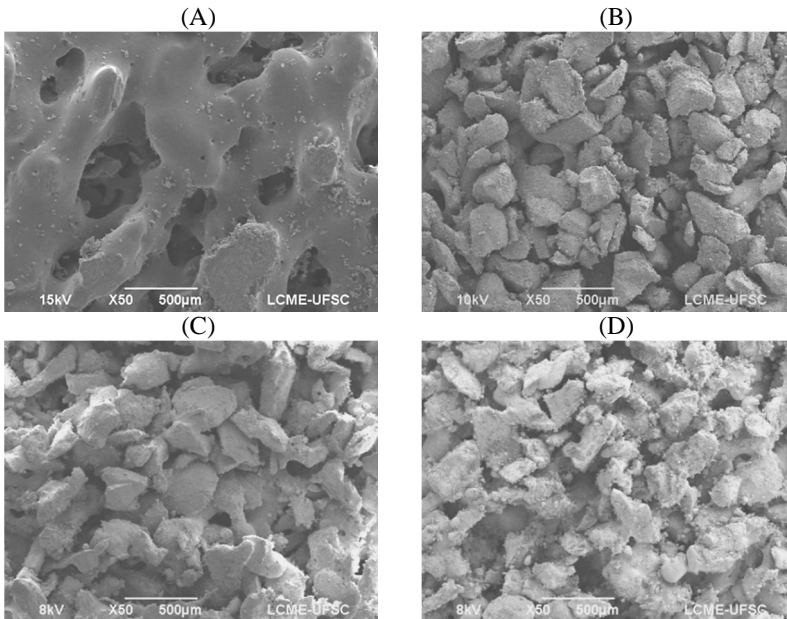
Micrografias das amostras dos compósitos produzidos foram obtidas para as amostras sem imersão em SBF, após 1 dia de imersão, após 5, 15 e 30 dias de imersão. Contudo, serão apresentadas as

micrografias apenas das amostras sem imersão e após 30 dias de imersão para comparação das condições iniciais e finais das amostras.

A Figura 32 apresenta as micrografias das amostras sem imersão em SBF, com aumento de 50x.

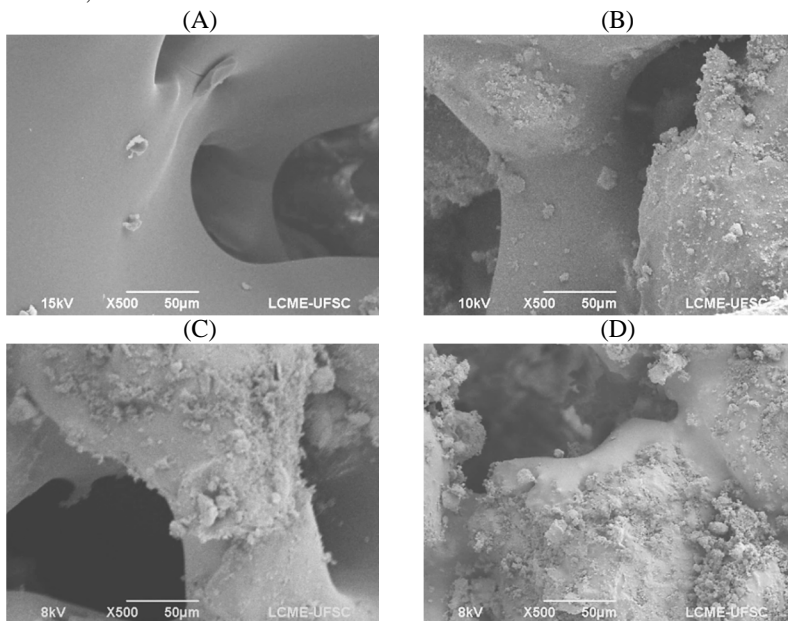
Como pode ser observado, as amostras de polímero puro apresentaram coalescência entre suas partículas. No entanto, a presença de BG dificulta a formação de *necks* entre as partículas poliméricas, promovendo um deficiente coalescimento entre as mesmas.

Figura 32: Amostras (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W e (D) 30BG 5,4W. Todas sem imersão.



A Figura 33 mostra as micrografias das amostras também sem imersão, porém, com aumento de 500x, evidenciando a presença de *necks* em todas as amostras. Isto é, estes estão presentes mesmo nas amostras com BG, porém, em pequeno número. Como observado por meio da tomografia, os *necks* estão presentes no interior das amostras.

Figura 33: Amostras (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W e (D) 30BG 5,4W. Todas sem imersão.



A Figura 34 apresenta as micrografias das amostras após 30 dias de imersão em SBF com 50X de aumento. Nestas é possível observar a formação de camada de sobreposição recobrendo a superfície do material em forma de pequenas esferas. Esta camada podendo ser a camada de HCA formada através das trocas iônicas do material com o meio.

A Figura 35 apresenta as micrografias das amostras imersas em SBF por 30 dias, porém, com aumento de 500x para melhor visualização da estrutura formada.

Figura 34: Amostras (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W e (D) 30BG 5,4W. Todas após 30 dias de imersão.

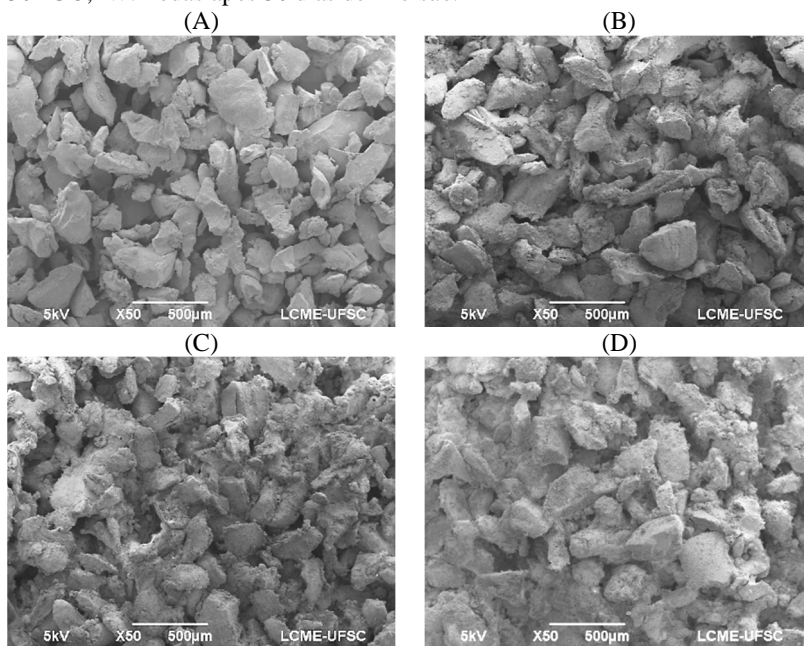
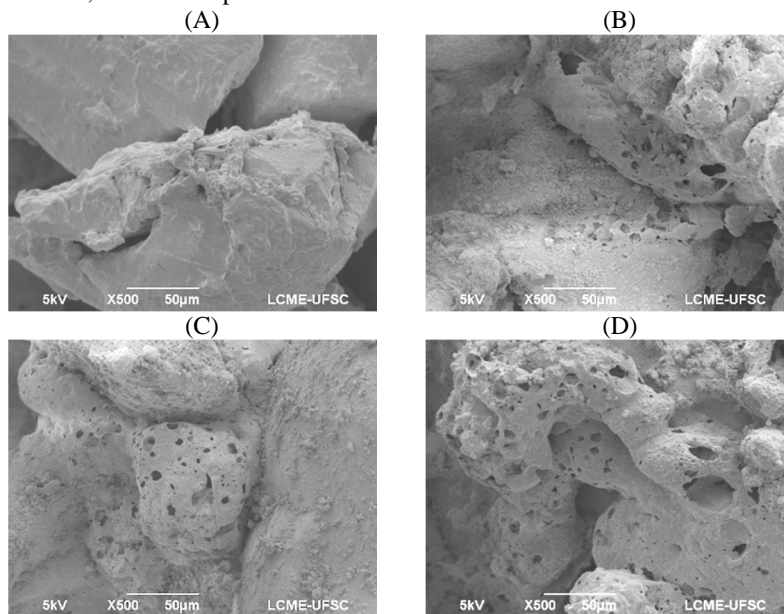


Figura 35: Amostras (A) 00BG 5,4W, (B) 10BG 5,4W, (C) 20BG 5,4W e (D) 30BG 5,4W. Todas após 30 dias de imersão.



5.3.6 Citotoxicidade

Para que possa ser comprovada a característica de biocompatibilidade de um material, o primeiro teste realizado é o ensaio de citotoxicidade. Com a comprovação da não toxicidade do mesmo, pode ser dada continuidade aos estudos, podendo ser realizados ensaios mais complexos e testes em animais.^{74;67;66}

O teste de citotoxicidade realizado neste trabalho foi o teste pelo método de incorporação do vermelho neutro, o qual se apresenta como um teste *in vitro* com baixo custo, de alta eficiência, reprodutivo e quantitativo.⁶⁷

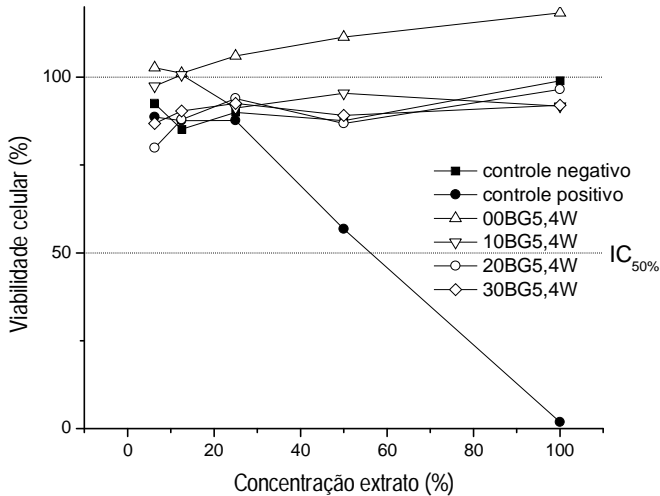
Neste método, um corante solúvel em água (vermelho neutro) atravessa a membrana plasmática e fixa-se na matriz lisossomal, o que provoca coloração da célula viva. Quando a membrana lisossomal sofre alterações ocorre redução da incorporação do corante, com isso as células vivas são diferenciadas das danificadas ou mortas através da intensidade de cor da cultura celular.^{67;66;}

Na Figura 36 são apresentados os valores calculados de viabilidade celular e os índices de citotoxicidade (IC_{50%}) para as

amostras, obtidos por meio da leitura da intensidade da cor do meio, de acordo com a seção 4.3.2.3.

O índice de citotoxicidade indica a concentração do extrato que provoca a lise ou morte de 50% das células do meio.⁶⁶

Figura 36: Viabilidade celular das amostras.



Neste teste, amostras são consideradas tóxicas quando cruzam a linha do índice de citotoxicidade ou quando apresentam curva totalmente abaixo da linha de $IC_{50\%}$. Uma vez que todas as amostras testadas tiveram comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, obtiveram valores de viabilidade acima de $IC_{50\%}$, todas as amostras de PLDLA/BG 58S são não-citotóxicas. Isto é, não apresentam citotoxicidade.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho visou-se a produção do biovidro 58S (BG58S) pelo processamento sol-gel e sua caracterização. Bem como a produção de *scaffolds* de PLDLA/BG58S em diferentes proporções de material e a análise mecânica e química destes compósitos.

Com a síntese do biovidro e a partir dos espectros de infravermelho e de DRX do material sintetizado, foi comprovada a composição e estrutura referentes ao biovidro 58S. Esta composição também é confirmada através do espectro de EDS, no qual é identificada a presença de Si, Ca e P referentes à composição do biovidro.

Através do ensaio de degradação, das micrografias e do espectro de EDS apresentados, foi observada a característica osteocondutora do BG58S, por meio da formação de cristais de apatita carbonatada (HCA) na sua superfície. Tal característica está diretamente envolvida na formação de ligação entre o material e o tecido ósseo, confirmando as características almejadas no material sintetizado.

Este biovidro foi sintetizado com o intuito de ser utilizado como partícula osteocondutora biodegradável dispersa em matriz polimérica de PLDLA (poli (L-co-D,L ácido láctico)), produzindo *scaffolds* via SLS (sinterização seletiva a laser).

A produção de *scaffolds* de PLDLA/BG58S se mostrou viável por meio desta técnica.

Contudo, a presença de partículas de BG dificulta a absorção da energia do laser pelas partículas poliméricas, tendo sido trabalhadas variadas potências do laser obtendo-se como potência final de processamento 5,4W.

A presença de BG58S nas composições de 20 e 30% m apresentou decréscimo nas propriedades mecânicas dos *scaffolds* em relação ao polímero puro.

Já a presença de 10% m de BG58S aumentou o módulo elástico do *scaffold* em relação ao polímero puro e apresentou tensão máxima de ruptura inferior ao polímero puro, porém superior à tensão apresentada pelos compósitos com 20 e 30% m de BG.

Por meio das medidas de pH dos *scaffolds* imersos em SBF entre 1 e 30 dias, foi observado que as amostras produzidas apresentaram um comportamento compatível com o almejado para materiais biocompatíveis, ou seja, apresentaram aumento nos valores de pH na fase inicial, com posterior redução destes valores e posterior estabilização dos mesmos próximo ao valor do pH do SBF.

Com o ensaio de degradação dos *scaffolds* foi observada a perda de massa dos materiais quando imersos em SBF, indicando o caráter biodegradável dos mesmos.

Através da técnica de tomografia computadorizada foi possível observar a estrutura porosa, com porosidade intercomunicante dos *scaffolds* e com tamanho adequado para condução das células.

Com o ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro foi possível observar que todas as amostras são não-tóxicas, sendo possível sua aplicação como biomaterial.

Os testes realizados comprovaram a possibilidade de produção de *scaffolds* biocompatíveis biodegradáveis porosos através da técnica de SLS, com melhores resultados mecânicos obtidos para *scaffolds* compósitos de PLDLA com 10% m de partículas osteocondutoras de BG58S, sendo estes passíveis de aplicação em cirurgia buco-maxilo-faciais, como material biodegradável para preenchimento de lesões (enxertos ósseos).

REFERÊNCIAS

- 1 SANTOS, D. V. D. **Estudo das propriedades mecânicas de compósitos a base de poli(L-ácido láctico) e nano-hidroxiapatita obtidos por extrusão**. 2011. Dissertação Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 2 PEREIRA, R. V. **Fabrication of Open-Porous Resorbable Hydroxyapatite/Fibrinogen Scaffolds in a One Step Process**. 2010. 75 Diploma thesis (Materials Engineer). Bremen University, Bremen.
- 3 CHEN, Q.; ROETHER, J. A.; BOCCACCINI, A. R. Tissue Engineering Scaffolds from Bioactive Glass and Composite Materials. In: (Ed.). **Topics in tissue engineering**, v.4, 2008. cap. 6,
- 4 HOPPE, A.; GÜLDAL, N. S.; BOCCACCINI, A. R. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. **Biomaterials**, v. 32, n. 11, p. 2757-2774, 2011. ISSN 0142-9612.
- 5 HUTMACHER, D. W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. **Biomaterials**, v. 21, n. 24, p. 2529-2543, 2000. ISSN 0142-9612.
- 6 BASU, B.; KATTI, D.; KUMAR, A. **Advanced biomaterials : fundamentals, processing, and applications**. Hoboken, N.J. Westerville, Ohio: John Wiley & Sons ; The American Ceramic Society, 2009. xxii, 746 p., 8 p. of plates ISBN 9780470193402 (cloth) 0470193409 (cloth).
- 7 BARROCA, N.; DANIEL-DA-SILVA, A. L.; VILARINHO, P. M.; FERNANDES, M. H. V. Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 9, p. 3611-3620, 2010. ISSN 1742-7061.
- 8 ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. D. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

- 9 BEST, S. M.; PORTER, A. E.; THIAN, E. S.; HUANG, J. Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, p. 1319-1327, 2008. ISSN 0955-2219.
- 10 HENCH, L. L.; JONES, J. R.; SEPULVEDA, P. Bioactive materials for tissue engineering scaffolds. In: (Ed.). **Future strategies for tissue and organ replacement**. London River Edge, NJ: Imperial College Press ; Distributed by World Scientific Pub., 2002. cap. 1, p.xix, 427 p. ISBN 1860943101/ 186094311X (pbk.).
- 11 PARK, J.; LAKES, R. S. **Biomaterials an Introduction**. 3. Springer Science+Business Media, LLC, 2007.
- 12 HENCH, L. L. The story of Bioglass. **J Mater Sci Mater Med**, v. 17, n. 11, p. 967-78, Nov 2006. ISSN 0957-4530 (Print)/ 0957-4530 (Linking).
- 13 HENCH, L.; WHEELER, D.; GREENSPAN, D. Molecular Control of Bioactivity in Sol-Gel Glasses. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 13, n. 1-3, p. 245-250, 1998/01/01 1998. ISSN 0928-0707.
- 14 HENCH, L. L.; BEST, S. Ceramics, glasses, and glass-ceramics. In: PRESS, E. A. (Ed.). **Biomaterials science : an introduction to materials in medicine; Ratner, et al.**, 2004.
- 15 ANDRADE, Â. L.; DOMINGUES, R. Z. Cerâmicas bioativas: estado da arte. **Química Nova**, v. 29, p. 100-104, 2006. ISSN 0100-4042.
- 16 SEPULVEDA, P.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 58, n. 6, p. 734-40, 2001. ISSN 0021-9304 (Print)/ 0021-9304 (Linking).
- 17 ZHONG, J.; GREENSPAN, D. C. Processing and properties of sol-gel bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 53, n. 6, p. 694-701, 2000. ISSN 0021-9304 (Print)/ 0021-9304 (Linking).
- 18 FEDERMAN, S. R.; BUONO, V. T. L.; VASCONCELOS, W. L. Determinação da espessura de filme bioativo SiO₂-CaO-P₂O₅

- obtido via sol-gel. **Cerâmica**, v. 55, p. 177-180, 2009. ISSN 0366-6913.
- 19 BALAMURUGAN, A.; BALOSSIER, G.; KANNAN, S.; MICHEL, J.; REBELO, A. H. S.; FERREIRA, J. M. F. Development and in vitro characterization of sol-gel derived CaO-P2O5-SiO2-ZnO bioglass. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 2, p. 255-262, 2007. ISSN 1742-7061.
- 20 HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical Reviews**, v. 90, n. 1, p. 33-72, 1990/01/01 1990. ISSN 0009-2665.
- 21 RIBEIRO, R. P. **Efeito da radiação gama no comportamento in vitro de um copolímero bioabsorvível**. 2006. Dissertação Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro.
- 22 CASADEI, A. P. M. **Arcabouço de PLLA/HAp sinterizado com potencial de utilização em regeneração de tecido ósseo**. 2009. Tese Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 23 GUPTA, B.; REVAGADE, N.; HILBORN, J. Poly(lactic acid) fiber: An overview. **Progress in Polymer Science**, v. 32, n. 4, p. 455-482, 2007. ISSN 0079-6700.
- 24 PROIKAKIS, C. S.; MAMOZELOS, N. J.; TARANTILI, P. A.; ANDREOPOULOS, A. G. Stability of DL-poly(lactic acid) in aqueous solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 87, n. 5, p. 795-804, 2003. ISSN 1097-4628.
- 25 BARAÚNA, G. S.; PIERUCCI, A.; OLIVEIRA, A. D.; DUARTE, M. A. T.; DUEK, E. A. R. Estudo da degradação "in vivo" de poli(L-co-D,L-ácido láctico) aplicado como prótese para regeneração nervosa periférica. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 12, p. 298-306, 2007. ISSN 1517-7076.
- 26 MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Síntese e caracterização do copolímero poli (L-co-D,L Ácido Láctico). **Polímeros**, v. 17, p. 123-129, 2007. ISSN 0104-1428.
- 27 BRONZINO, J. D. **Biomedical engineering fundamentals**. Taylor & Francis Group, LLC, 2006.

- 28 COIMBRA, M. E. R.; ELIAS, C. N.; COELHO, P. G. In vitro degradation of poly-L-D-lactic acid (PLDLA) pellets and powder used as synthetic alloplasts for bone grafting. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 10, p. 3227-3234, 2008/10/01 2008. ISSN 0957-4530.
- 29 REZWAN, K.; CHEN, Q. Z.; BLAKER, J. J.; BOCCACCINI, A. R. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 18, p. 3413-31, Jun 2006. ISSN 0142-9612 (Print) 0142-9612 (Linking).
- 30 EVONIK. Technical Information RESOMER LR 708. 2011. Disponível em: <
<http://biomaterials.evonik.com/product/biomaterials/Specifications/evonik-specification-resomer-lr-708.pdf>>. Acesso em: 12 jan. 2013.
- 31 BOCCACCINI, A. R.; NOTINGHER, I.; MAQUET, V.; JEROME, R. Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by Bioglass particles for tissue engineering applications. **J Mater Sci Mater Med**, v. 14, n. 5, p. 443-50, May 2003. ISSN 0957-4530 (Print) 0957-4530 (Linking).
- 32 MAQUET, V.; BOCCACCINI, A. R.; PRAVATA, L.; NOTINGHER, I.; JÉRÔME, R. Porous poly(α -hydroxyacid)/Bioglass® composite scaffolds for bone tissue engineering. I: preparation and in vitro characterisation. **Biomaterials**, v. 25, n. 18, p. 4185-4194, 2004. ISSN 0142-9612.
- 33 ROETHER, J. A.; BOCCACCINI, A. R.; HENCH, L. L.; MAQUET, V.; GAUTIER, S.; JÉRÔME, R. Development and in vitro characterisation of novel bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams and Bioglass® for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 23, n. 18, p. 3871-3878, 2002. ISSN 0142-9612.
- 34 VERRIER, S.; BLAKER, J. J.; MAQUET, V.; HENCH, L. L.; BOCCACCINI, A. R. PDLA/Bioglass® composites for soft-tissue and hard-tissue engineering: an in vitro cell biology assessment. **Biomaterials**, v. 25, n. 15, p. 3013-3021, 2004. ISSN 0142-9612.

- 35 MOHAMAD YUNOS, D.; BRETCANU, O.; BOCCACCINI, A. Polymer-bioceramic composites for tissue engineering scaffolds. **Journal of Materials Science**, v. 43, n. 13, p. 4433-4442, 2008/07/01 2008. ISSN 0022-2461.
- 36 HUTMACHER, D. W.; SITTINGER, M.; RISBUD, M. V. Scaffold-based tissue engineering: rationale for computer-aided design and solid free-form fabrication systems. **Trends in Biotechnology**, v. 22, n. 7, p. 354-362, 2004. ISSN 0167-7799.
- 37 LEONG, K. F.; CHEAH, C. M.; CHUA, C. K. Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2363-2378, 2003. ISSN 0142-9612.
- 38 DUAN, B.; WANG, M.; ZHOU, W. Y.; CHEUNG, W. L.; LI, Z. Y.; LU, W. W. Three-dimensional nanocomposite scaffolds fabricated via selective laser sintering for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 12, p. 4495-4505, 2010. ISSN 1742-7061.
- 39 KLAUSS, P. **Desenvolvimento de dispositivos poliméricos implantáveis para a liberação de fármacos fabricados por sinterização seletiva a laser**. 2010. Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 40 DABBAS, F. **Sinterização seletiva a laser de compósitos poliamida/hidroxiapatita e polietileno/hidroxiapatita com gradientes funcionais aplicáveis em engenharia de tecidos**. 2006. Dissertação Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 41 LEITE, J. L. **Sinterização seletiva a laser de blendas de PA12/PEAD, PA6/PA12 e PMMA/PS com gradientes funcionais aplicáveis em componentes anti-fricção** 2007. (Doutorado). Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 42 PAGGI, R. A. **Sinterização seletiva a laser de compósitos com gradiente funcional entre poliamida 12 e nanotubos de carbono aplicáveis no setor aeroespacial** 2008. Departamento de

Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

- 43 KRUTH, J.-P.; A MERCELIS, P.; A VAN VAERENBERGH, J.; A FROYEN, L.; A ROMBOUTS, M. Binding Mechanisms in Selective Laser Sintering and Selective Laser Melting. **Rapid prototyping journal**, p. 26-36, 2005.
- 44 ANTONOV, E. N.; BAGRATASHVILI, V. N.; WHITAKER, M. J.; BARRY, J. J. A.; SHAKESHEFF, K. M.; KONOVALOV, A. N.; POPOV, V. K.; HOWDLE, S. M. Three-Dimensional Bioactive and Biodegradable Scaffolds Fabricated by Surface-Selective Laser Sintering. **Advanced Materials**, v. 17, n. 3, p. 327-330, 2005. ISSN 1521-4095.
- 45 SALMORIA, G. V.; PAGGI, R. A.; LAGO, A.; BEAL, V. E. Microstructural and mechanical characterization of PA12/MWCNTs nanocomposite manufactured by selective laser sintering. **Polymer Testing**, v. 30, n. 6, p. 611-615, 2011. ISSN 0142-9418.
- 46 KRUTH, J. P.; WANG, X.; LAOUI, T.; FROYEN, L. Lasers and materials in selective laser sintering. **Assembly Automation**, v. 23, n. 4, p. 357-371, 2003. ISSN 0144-5154.
- 47 KULMAN, C. **Desenvolvimento de sistema-protótipo de sinterização seletiva a laser, visando a obtenção de componentes com gradientes funcionais** 2006. Dissertação (Mestre). Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- 48 SALMORIA, G. V.; LEITE, J. L.; AHRENS, C. H.; LAGO, A.; PIRES, A. T. N. Rapid manufacturing of PA/HDPE blend specimens by selective laser sintering: Microstructural characterization. **Polymer Testing**, v. 26, n. 3, p. 361-368, 2007. ISSN 0142-9418.
- 49 SALMORIA, G. V.; AHRENS, C. H.; KLAUSS, P.; PAGGI, R. A.; OLIVEIRA, R. G.; LAGO, A. Rapid manufacturing of polyethylene parts with controlled pore size gradients using selective laser sintering. **Materials Research**, v. 10, p. 211-214, 2007. ISSN 1516-1439.

- 50 SALMORIA, G. V.; KLAUSS, P.; PAGGI, R. A.; KANIS, L. A.; LAGO, A. Structure and mechanical properties of cellulose based scaffolds fabricated by selective laser sintering. **Polymer Testing**, v. 28, n. 6, p. 648-652, 2009. ISSN 0142-9418.
- 51 SAVALANI, M. M.; HAO, L.; ZHANG, Y.; TANNER, K. E.; HARRIS, R. A. Fabrication of porous bioactive structures using the selective laser sintering technique. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H-Journal of Engineering in Medicine**, v. 221, n. H8, p. 873-886, Nov 2007. ISSN 0954-4119.
- 52 CHEUNG, W. L.; ZHOU, W. Y.; LEE, S. H.; WANG, M.; IP, W. Y. Selective laser sintering of porous tissue engineering scaffolds from poly(L)/carbonated hydroxyapatite nanocomposite microspheres. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 19, n. 7, p. 2535-2540, Jul 2008. ISSN 0957-4530.
- 53 FERREIRA, L. M. **Avaliação da Biocompatibilidade de diferentes biomateriais aplicados na substituição óssea: revisão de literatura**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- 54 LIMAS, C. D. **Momento atual do uso de biomateriais na recuperação de defeitos ósseos unitários**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso Departamento de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- 55 FARDIN, A. C.; JARDIM, E. C. G.; PEREIRA, F. C.; GUSKUMA, M. H.; ARANEGA, A. M.; GARCIA JÚNIOR, I. R. Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura. **Innovations Implant Journal**, v. 5, p. 48-52, 2010. ISSN 1984-5960.
- 56 SEPULVEDA, P.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. **J Biomed Mater Res**, v. 61, n. 2, p. 301-11, Aug 2002. ISSN 0021-9304 (Print) 0021-9304 (Linking).
- 57 TAS, A. C. Biomimetic coating & testing. 2012. Disponível em: < <http://www.cuneyttas.com/How-to-prepare-SBF-solution.htm> >. Acesso em: 19 march 2012.

- 58 QUEIROZ, C. M. G. D. A. **Cristalização de biomateriais vitrocerâmicos e mineralização em meio fisiológico simulado.** 2005. (Doutorado). Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro, Universidade de Aveiro, Aveiro.
- 59 D'APUZZO, M.; ARONNE, A.; ESPOSITO, S.; PERNICE, P. Sol-Gel Synthesis of Humidity-Sensitive P2O5-SiO2 Amorphous Films. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 247-254, 2000/03/01 2000. ISSN 0928-0707.
- 60 SIQUEIRA, R. L. **Processamento sol-gel de pós bioativos vítreos e cristalinos.** 2010. Dissertação, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- 61 ROOHANI-ESFAHANI, S. I.; NOURI-KHORASANI, S.; LU, Z. F.; APPELYARD, R. C.; ZREIQAT, H. Effects of bioactive glass nanoparticles on the mechanical and biological behavior of composite coated scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 7, n. 3, p. 1307-1318, 2011. ISSN 1742-7061.
- 62 BLAKER, J. J.; NAZHAT, S. N.; MAQUET, V.; BOCCACCINI, A. R. Long-term in vitro degradation of PDLA/bioglass bone scaffolds in acellular simulated body fluid. **Acta Biomater**, v. 7, n. 2, p. 829-40, Feb 2011. ISSN 1878-7568 (Electronic) 1742-7061 (Linking).
- 63 KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v. 26, n. 27, p. 5474-91, Sep 2005. ISSN 0142-9612 (Print) 0142-9612 (Linking).
- 64 TSIGKOU, O.; HENCH, L. L.; BOCCACCINI, A. R.; POLAK, J. M.; STEVENS, M. M. Enhanced differentiation and mineralization of human fetal osteoblasts on PDLA containing Bioglass® composite films in the absence of osteogenic supplements. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 80A, n. 4, p. 837-851, 2007. ISSN 1552-4965.
- 65 KAZARIAN, S. G.; ANDREW CHAN, K. L.; MAQUET, V.; BOCCACCINI, A. R. Characterisation of bioactive and resorbable polylactide/Bioglass® composites by FTIR spectroscopic imaging. **Biomaterials**, v. 25, n. 18, p. 3931-3938, 2004. ISSN 0142-9612.

- 66 ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, Á. S. Teste in vitro de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials Research**, v. 6, p. 317-320, 2003. ISSN 1516-1439.
- 67 DAGUANO, J. K. M. F.; SANTOS, C.; ROGERO, S. O. Avaliação da citotoxicidade de biocerâmicas desenvolvidas para uso em sistemas de implantes. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 12, p. 134-139, 2007. ISSN 1517-7076.
- 68 BARTSCHER, M.; HILPERT, U.; GOEBBELS, J.; WEIDEMANN, G. Enhancement and Proof of Accuracy of Industrial Computed Tomography (CT) Measurements. **CIRP Annals - Manufacturing Technology**, v. 56, n. 1, p. 495-498, 2007. ISSN 0007-8506.
- 69 CERTI, F. Tomografia Computadorizada Industrial. p. Centro de Metrologia e Instrumentação, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0007850607001199> >. Acesso em: 05 fev 2013.
- 70 BALAMURUGAN, A.; SOCKALINGUM, G.; MICHEL, J.; FAURE, J.; BANCHET, V.; WORTHAM, L.; BOUTHORS, S.; LAURENT-MAQUIN, D.; BALOSSIER, G. Synthesis and characterisation of sol gel derived bioactive glass for biomedical applications. **Materials Letters**, v. 60, n. 29-30, p. 3752-3757, Dec 2006. ISSN 0167-577X.
- 71 JONES, J. R.; EHRENFRIED, L. M.; HENCH, L. L. Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 7, p. 964-73, Mar 2006. ISSN 0142-9612 (Print) 0142-9612 (Linking).
- 72 ARCOS, D.; GREENSPAN, D. C.; VALLET-REGI, M. Influence of the stabilization temperature on textural and structural features and ion release in SiO₂-CaO-P₂O₅ sol-gel glasses. **Chemistry of Materials**, v. 14, n. 4, p. 1515-1522, Apr 2002. ISSN 0897-4756.
- 73 KAITIAN, X.; KOZLUCA, A.; DENKBAS, E. B.; PISKIN, E. Poly (D,L-Lactic Acid)Homopolymers: synthesis and characterization. **Tr. J. of Chemistry**, v. 20, p. 43-53, 1995.

IDRIS, S. B.; DÅNMARK, S.; FINNE WISTRAND, A.; ARVIDSON, K.; ALBERTSSON, A.-C.; BOLSTAD, A. I.; MUSTAFA, K. Biocompatibility of Polyester Scaffolds with Fibroblasts and Osteoblast-like Cells for Bone Tissue Engineering. **Journal of bioactive and compatible polymers**, v. 25, p. 567-583, 2010.