

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**Propriedades Mecânicas e Bioativas de PLA, PCL e suas  
blendas com HA impressas por FFF**

**Kawany Munique Boriolo Shimomura**

**SÃO CARLOS -SP**  
**2021**

# **Propriedades Mecânicas e Bioativas de PLA, PCL e suas blendas com HA impressas por FFF**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Lidiane Cristina Costa

São Carlos-SP  
2021



## ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC)

**NOME:** Kawany Munique Boriolo Shimomura

**RA:** 727391

**TÍTULO:** Propriedades mecânicas e bioativas de PLA, PCL e suas blendas com HA impressas por FFF

**ORIENTADOR(A):** Profa. Dra. Lidiane Cristina Costa


**CO-ORIENTADOR(A):**

**DATA/HORÁRIO:** 16/11/2021, 15h

### BANCA – NOTAS:

	Monografia	Defesa
Profa. Dra. Lidiane Cristina Costa	8,5	9,5
Dr. César Augusto Gonçalves Beatrice	8,5	9,5
<b>Média</b>	8,5	9,5

Certifico que a defesa de monografia de TCC realizou-se com a participação a distância dos membros Profa. Dra. Lidiane Cristina Costa e Dr. César Augusto Gonçalves Beatrice e depois das arguições e deliberações realizadas, os participantes à distância estão de acordo com as informações redigidas nesta ata de defesa.

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Lidiane Cristina Costa

## **AGRADECIMENTO**

Gostaria de agradecer ao grupo do qual fiz parte em minha iniciação científica: Luiz Antonio Pessan, Lidiane Cristina Costa, Cesar Augusto Gonçalves Beatrice e Eduardo Backes, que me introduziram no grandioso universo dos biomateriais e que me motivaram a buscar mais conhecimento neste campo.

Também gostaria de agradecer ao curso de Engenharia de Materiais da Universidade de Federal de São Carlos (UFSCar) e a Fundação ao Amparo de Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por me proporcionar todo o suporte necessário para que fosse possível meu engajamento sobre o tema.

Agradeço a minha mãe, Raquel, e minha avó, Yoshie, por me apoiarem nas adversidades emocionais e por me presentear com valiosos conselhos profissionais e acadêmicos.

## RESUMO

Medidas de reparação óssea envolvendo cirurgias e substituições de tecidos estão cada vez mais presentes nos dias atuais, além do progressivo avanço do mercado de próteses, implantes e tecnologias que investem na área da saúde. De 2009 a 2011, aproximadamente 225 milhões de pacientes tiveram um diagnóstico médico relacionado à ortopedia, custando cerca de 215 bilhões de dólares se contar com substituição de quadris e joelhos (CHEN, 2019). Nesse contexto, inúmeras pesquisas são realizadas atualmente com o objetivo de desenvolver uma opção mais vantajosa para os casos de cirurgias envolvendo o tecido ósseo. Com base na Engenharia de Materiais, consegue-se aprofundar em materiais bioativos e biocompatíveis, entre eles polímeros e compósitos, que são candidatos altamente qualificados para uma possível substituição do tecido referido. Através de uma revisão de literatura, foi possível encontrar inúmeros materiais e as técnicas mais promissoras e aprofundar sobre eles. Neste trabalho, estudaremos sobre a viabilidade de scaffolds, obtidos pelo processo de FFF (Fabricação por Filamento Fundido), de uma blenda PLA/PCL (poliácido láctico/policaprolactona) com carga de HA (hidroxiapatita) serem utilizados a fim de substituir tecidos ósseos.

**Palavras-chave:** Biomateriais. FFF. PCL. PLA. Hidroxiapatita. Impressão 3D. Manufatura Aditiva. Blenda. Compósito. Bioatividade.

## RESUMO EM LÍNGUA ESTRANGEIRA

Bone repair measures involving surgeries and tissue replacements are increasingly present today, in addition to the progressive advancement of the market for prostheses, implants and technologies that invest in the health area. From 2009 to 2011, approximately 225 million patients had a medical diagnosis related to orthopedics, costing about 215 billion dollars if hip and knee replacement are included (CHEN, 2019). In this context, numerous researches are currently carried out with the aim of developing a more advantageous option for cases of surgeries involving bone tissue. Based on Materials Engineering, it is possible to go deeper into bioactive and biocompatible materials, including polymers and composites, which are highly qualified candidates for a possible replacement of the referred tissue. Through a literature review, it was possible to find numerous materials and the most promising techniques and to delve into them. In this work, we will study the feasibility of scaffolds, obtained by the FFF process (Fused Filament Fabrication), of a PLA/PCL (polylactic acid/polycaprolactone) blend with HA (hydroxyapatite) load to be used in order to replace bone tissue.

Keyword: Biomaterials. FFF. PCL. PLA. Hydroxyapatite. 3D printing. Additive Manufacturing. Blend. Composite. Bioactivity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura básica do osso humano	03
Figura 2 - Estrutura química do PLA	08
Figura 3 - Estrutura química do PCL	10
Figura 4 - Estrutura química da HA	12
Figura 5 - Scaffolds com estrutura Gyroid 3D e pilar 0-90°	20
Figura 6 - Estrutura típica de um scaffold fabricado por impressão 3D	22
Figura 7 - Esquema ilustrativo de uma Impressora 3D	24

## LISTA DE SIGLAS

CAD - 3D computer-aided design (Design Tridimensional Assistido por Computador)

FDA - Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos)

FDM® - Fused Deposition Modeling (Modelagem por Deposição Fundida)

FFF - Fabricação por Filamento Fundido

HA - Hidroxiapatita

hMSCs - Human Mesenchymal Stem Cells (Células tronco Humanas provindas da medula óssea)

nHA - nano hidroxiapatita

PCL - Poli Caprolactona

PGA - Poli Ácido Glicólico

PHB - Poli Butirato Hidroxil

PLA - Poliacido láctico

STL - Surface Tessellation Language (Linguagem de Mosaico de Superfície)

TCP - Tricalcium Phosphate



## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b>	01
2	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	03
2.1	MATERIAIS	XX
2.1.1	<b>O osso e suas características</b>	XX
2.1.2	<b>Biomateriais</b>	XX
2.1.2.1	Policaprolactona	XX
2.1.2.2	Poliácido Láctico	XX
2.1.2.3	Hidroxiapatita	XX
2.1.2.4	Blendas poliácido láctico/policaprolactona	XX
2.1.2.5	Degradação	XX
2.2	SCAFFOLD	XX
2.3	Fabricacao por Filamentos Fundidos	XX
3	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>XX</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>XX</b>
	<b>GLOSSÁRIO</b>	<b>XX</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as doenças que afetam mundialmente a população, as que afetam os ossos estão entre as que mais causam problemas, principalmente para a população adulta e terceira idade. Segundo estatísticas de 2014 da obra “The Burden of Musculoskeletal Diseases in the United States”, as fraturas causadas por osteoporose, por exemplo, podem crescer de 10,2 milhões em 2010 para 13,6 milhões em 2030 (CHEN, 2019). Segundo dados de 2019, anualmente, 500.000 pessoas recebem tratamento médico devido a fragilidade óssea causada por osteoporose (NHS, 2021). Esta é responsável por 8,9 milhões de fraturas no mundo, segundo dados de 2021 divulgados no Dia Mundial da Osteoporose.

Para esses tipos de debilitações se passou a recorrer a enxertos de tecidos. Esses enxertos, que podem ser enxertos ósseos autólogos (retirada de tecidos, órgãos ou células de um indivíduo e transplantar para si mesmo) e enxertos ósseos alogênicos (retirada de tecidos, órgãos ou células de um indivíduo para outro da mesma espécie), foram usados por muito tempo na Europa e Estados Unidos para contornar problemas relacionados a fraturas e disfunções ósseas, mas essa coleta é prejudicial ao corpo e limitada, além das questões de difíceis condições de armazenamento e manuseio do material doador congelado e complicações imunológicas (KOKUBO, 2003; MAXSON, 2010). Entre alguns exemplos de casos prejudiciais ao paciente podemos citar a perda de função no local doado, morbidade do local doador, transmissão de doenças e dificuldade de adaptação do tecido ao novo ambiente (MIAO, 2019; MADRID, 2019). Por isso, materiais artificiais como implantes ósseos são usados como uma alternativa.

Nesse contexto, a Engenharia de Tecidos se apresenta como a área que estuda o reparo e substituição de tecidos danificados ou ausentes. Esse campo de estudo inclui a biologia celular, ciências e engenharia dos materiais, e fatores bioquímicos e físico-químicos (MAXSON, 2010).

Utiliza também os chamados biomateriais que tem por objetivo substituir ou reconstruir tecidos danificados. Estes materiais devem estimular e controlar a proliferação celular; possuir uma taxa de degradação similar à taxa de formação do

novo tecido; ser capaz de suportar cargas realizadas in situ; ter capacidade ser medida a proliferação, diferenciação e anexação de células; ter boa osteocondutividade (capacidade do osso de formar células em locais danificados através de scaffolds a fim de, lentamente, substituí-los com um novo osso ao longo do tempo) com o tecido ósseo hospedeiro; ter biodegradabilidade; ter resistência mecânica compatível com o local a ser substituído; ter adequada porosidade; ser possível de ser fabricado em formas complexas e ser viável para comercialização e procedimentos clínicos.

Também envolve a fabricação de scaffolds que simulam a matriz extracelular nativa imitando suas funções mecânicas e fisiológicas (MIAO, 2019). Esses scaffolds recebem uma atenção especial quando fabricados com poliácido láctico e policaprolactona, principalmente quando há presença de carga cerâmica, como a hidroxiapatita.

Visto isso, a Engenharia de Materiais tem o papel de estudar os materiais com melhores estruturas e comportamentos térmicos, físicos, biológicos e reológicos relacionando-os com suas propriedades a fim de prever seu comportamento em específicas técnicas de processamento. Tudo isso ajuda a desenvolver o melhor material para esta aplicação tão específica.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 MATERIAIS

#### 2.1.1 O Osso e suas características

O tecido ósseo é uma combinação orgânica/inorgânica e há, naturalmente, um polímero, colágeno, é um mineral, apatita, sendo que os nano cristais de apatita estão depositados nas fibras de colágeno. Suas propriedades combinadas são mais favoráveis do que as vantagens de cada um individualmente (LI, 2013; KOKUBO,2003). Por esse motivo, compósitos são uma escolha conveniente para substituições de tecidos ósseos (ARMENTANO, 2010).

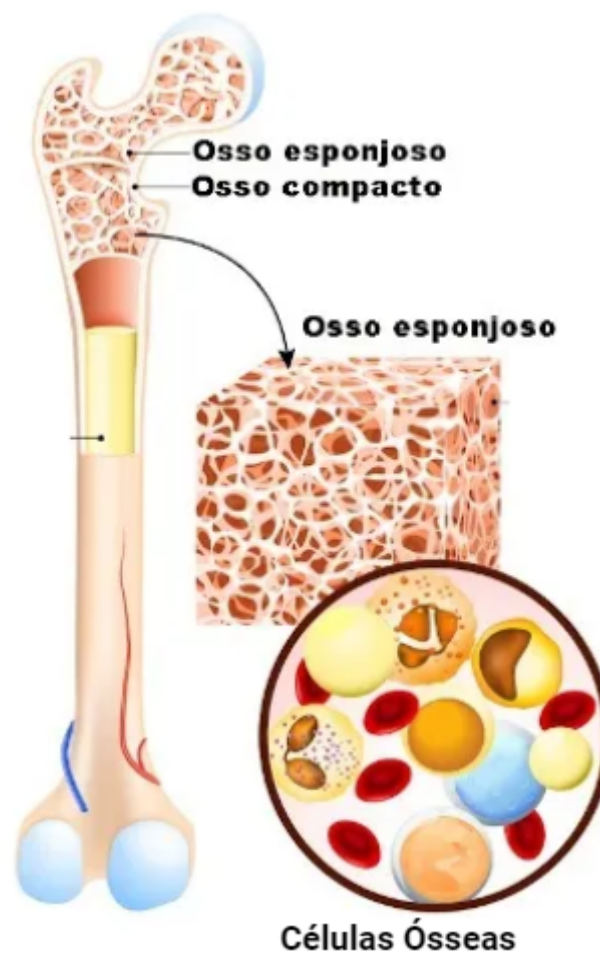


Figura 1: Estrutura básica do osso humano (SANTOS, H. “Medula Óssea”. Biologia Net).

O osso é composto de 60-70% de mineral, 10-20% de colágeno e 9-20% de água em massa (HUANG, 2018). É formado pelo osso cortical (ou compacto), uma casca compacta que se encontra na parte externa e é mais denso com menos de 10% em volume de porosidade e suas cavidades são visíveis. O osso compacto é responsável pela proteção, suporte e resistência da estrutura óssea macroscópica e são normalmente encontrados nas diáfises (haste longa do osso). A estrutura óssea macroscópica também é formada pelo osso esponjoso, um núcleo poroso com 50 a 90% em volume de porosidade, na parte interna. Suas cavidades são intercomunicantes e é muito encontrado em ossos curtos, chatos e irregulares. Também estão presentes em epífises (as extremidades alargadas de um osso longo). Na figura 1 está representada a estrutura óssea macroscópica do osso (CHEN, 2019; KHAJAVI, 2015, MAGALHÃES, 2020).

Além da estrutura microscópica, também há a microscópica, classificada em primária e secundária. A primária tem menos minerais e mais osteócitos (células maduras derivadas dos osteoblastos, residentes em lacunas da matriz óssea) em relação ao tecido ósseo secundário. Na fase embrionária, o tecido ósseo primário é o primeiro a ser formado, sendo pouco encontrado em adultos. É encontrado em locais que estão passando por remodelação, como por exemplo, alvéolos dentários e regiões de inserção de tendões. Por sua vez, o tecido ósseo secundário possui fibras colágenas organizadas em lamelas, paralelas uma em relação à outra. Em cada lamela é possível encontrar os osteócitos (MAGALHÃES, 2020).

Grande parte do tecido ósseo é feito por colágeno tipo 1, que também é um componente da matriz extracelular. O colágeno tipo 1 possui um módulo elástico em torno de 100 MPa e o do osso é aproximadamente 2 GPa (KHAJAVI, 2015). As células vivas fazem parte de apenas 1% do volume do osso. Assim, é possível fazer testes in vitro com uma estrutura tridimensional simulando a estrutura do osso, sem a participação de células vivas, bastando a presença de grupos funcionais para a nucleação da apatita na sua superfície (CHEN, 2019).F

Uma das habilidades dos tecidos é a capacidade regenerativa, a qual depende do local, tipo de tecido e do tamanho da fratura. No caso do tecido cartilaginoso sua capacidade de cura é produzida pela sua natureza avascular e

aneural, e apresenta uma baixa habilidade regenerativa. Defeitos nesse tecido podem ocasionar disfunção e dor local (GONZÁLEZ, 2019). Cerca de 70% dos casos de disfunção da articulação temporomandibular (articulação localizada na base do crânio em frente à estrutura da orelha e liga o maxilar inferior (mandíbula) ao maxilar superior (maxila)), por exemplo, estão relacionados com o deslocamento do disco da articulação temporomandibular. Esse local possui capacidade regenerativa muito baixa e o reparo ou reposição do disco é problemática (TAO, 2019). Ou seja, seria necessário recorrer a meios que envolvem cirurgia em muitas situações (MAXSON, 2010).

Para os casos em que a capacidade de cura do osso não é o suficiente, é comum recorrer-se a métodos tradicionais de implantação, como osteotomias sub instrumentadas, que é a introdução de implantes no corpo com diferentes tipos de superfícies e uso de osteótomos (conjunto de instrumentos especializados para implantação) (DONG, 2018). Há diferentes maneiras de tratar um defeito ósseo, como os enxertos citados anteriormente, o que não convém. Para isso, a alternativa estudada é o desenvolvimento de um tecido artificial que mimetize as características físicas e biológicas do local danificado.

Nesse contexto, a Engenharia de Materiais propõe técnicas para auxiliar no desenvolvimento de materiais para utilização em implantes de regeneração óssea. Unindo materiais com estruturas e características específicas, consegue-se obter propriedades adequadas para esse tipo de aplicação usando métodos específicos de processamento.

Alguns dos requisitos necessários para a regeneração de um tecido desenvolvido em laboratório, estão: células adequadas, scaffolds biomédicos e componentes bioativos (YEO, 2019). Outros pontos importantes desse processo serão discutidos mais adiante.

### 2.1.2 Biomateriais

Biomateriais são aqueles que ficam em contato com o tecido vivo e têm por objetivo substituir ou reconstruir tecidos danificados, estimulando e controlando a

proliferação celular, a fim de obter resultados como a regeneração óssea (FILHO, 2016). Entre os requisitos desses materiais utilizados nas aplicações de engenharia de tecidos pode-se citar: ter capacidade ser medida a proliferação, diferenciação e anexação de células; boa osteocondutividade (capacidade de promover crescimento ósseo) com o tecido ósseo hospedeiro; biodegradabilidade (capacidade de degradação biológica de materiais orgânicos por organismos vivos); resistência mecânica compatível com o local a ser substituído, porosidade; fabricação em formas complexas; viabilidade para comercialização e procedimentos clínicos (TAO, 2019). Além disso, as propriedades mecânicas devem ser avaliadas mesmo quando o novo tecido está sendo formado, pois a observação da capacidade de suturar é essencial para o processo de implantação e a pós-implantação (ARMENTANO, 2010; CENGIZ, 2019).

Os biomateriais para aplicações ósseas buscam mimetizar as propriedades mecânicas e bioquímicas do osso e por muito tempo materiais metálicos foram os principais materiais utilizados para este fim por possuírem, em sua maioria, alta resistência, ductilidade e tenacidade à fratura (FILHO, 2016). Metais e ligas metálicas como liga cobalto-cromo, aços inoxidáveis, titânio e suas ligas são largamente utilizados para fixação e substituição de ossos danificados, sendo utilizados em mais de 70% dos implantes feitos de biomateriais metálicos. No entanto, essas aplicações não se adequam totalmente ao desejado devido à demasiada resistência mecânica dos metais e a sua incompatibilidade biomecânica, principalmente quando comparamos o alto valor do módulo elástico em relação ao osso humano. Além disso, podem ser tóxicos ao corpo, ter baixa adesão ao tecido e ter efeito de proteção contra tensões devido ao elevado módulo elástico (ALIZADEH, 2019).

Há materiais cerâmicos bioativos que têm a propriedade de reagir com fluidos fisiológicos e formar ligações tenazes com tecidos duros (ou tecidos moles em alguns casos) espontaneamente, permitindo que sirvam como suportes temporários do osso humano. Entre esses materiais podem ser citados: fosfato tricálcico (TCP) e hidroxiapatita (HA) (BLAKER, 2003; ARMENTANO, 2010; KOKUBO, 2003). Essas biocerâmicas são capazes de suportar ambientes químicos mais críticos do que os

metais e polímeros, possuem boa biocompatibilidade (capacidade de interagir adequadamente com um sistema biológico, sem provocar danos ou rejeição), osteocondutividade, biodegradabilidade, restaurabilidade e hidrofiliçidade (TAO, 2019). Além disso, a taxa de Ca/P dos fosfatos de cálcio influencia diretamente em sua degradação e bioatividade (habilidade de estabelecer ligações de natureza química entre o material e o tecido ósseo). Essas cerâmicas são largamente utilizadas em reconstruções ósseas, revestimentos de implantes ortopédicos, aplicações odontológicas e *drug delivery* (ALIZADEH, 2019).

A HA, por exemplo, se destaca devido à sua estrutura e composição, que são similares às do osso mineral, além de conseguir ajudar na formação do osso. Ademais, apresenta boa osteocondutividade e alta resistência mecânica (ARMENTANO, 2010).

Materiais cerâmicos reabsorvíveis (cerâmicas absorvíveis pelo corpo sem causar danos à saúde) como TCP e HA apesar de muita similaridade com o osso natural, têm menor tenacidade à fratura e maior módulo elástico, apresentando um comportamento muito frágil, principalmente quando porosos (KOKUBO, 2003; RAKOVSKY, 2010).

Além das biocerâmicas serem altamente utilizadas na biomedicina, os polímeros se destacam desde as últimas décadas devido à notável biocompatibilidade, propriedades elásticas e propriedades bio-inertes (propriedade de não causar reação no organismo, uma vez que possuem uma estabilidade química elevada) de vários deles (GONZÁLEZ, 2019). Muitos são biodegradáveis, geralmente classificados em polímeros de base natural, como polissacarídeos e proteínas, e em polímeros sintéticos, como PLA (Poliácido láctico), PCL (Poli Caprolactona), PGA (Poli Ácido Glicólico), PHB (Poli Butirato Hidroxil), muito utilizados em aplicações biomédicas (ARMENTANO, 2010).

Os polímeros naturais possuem propriedades mecânicas inferiores aos polímeros sintéticos, mas têm melhores propriedades biológicas como a facilidade de reconhecimento biológico, beneficiando a adesão e função celular. Os sintéticos, além das propriedades mecânicas mais elevadas, possuem degradação controlável, reprodutibilidade e possibilidade de alteração de formas. A desvantagem,



dependendo do uso, é a superfície hidrofóbica e a ausência de sinais de reconhecimento celular (CENGIZ, 2019; ARMENTANO, 2010).

Polímeros sintéticos como PCL, PLA e PGA podem ser utilizados em diversas aplicações biomédicas e em contato com o corpo humano, sendo aplicadas como suportes físicos, vasos sanguíneos sintéticos, implantes de quadril entre outras. O PCL, por exemplo, recebeu enorme atenção pelas suas características biocompatíveis, biodegradáveis e inertes, principalmente para aplicações de implantes de longa duração, promovendo regeneração óssea. Este é um ótimo candidato para utilização em aplicações ortopédicas (GONZÁLEZ, 2019).

Polímeros biodegradáveis não são bons osteocondutores e se degradam em produtos ácidos, o que pode causar inflamação e osteólise (reabsorção ativa da matriz óssea, com conseqüente redução da massa óssea) quando em contato com o osso. Além disso, estruturas porosas feitas destes polímeros não possuem resistência mecânica suficiente para serem implantadas em sítios que suportam cargas (RAKOVSKY, 2010).

Os biomateriais compostos por mais de um tipo de polímero, independente se é natural ou sintético, geralmente apresentam melhor desempenho do que quando se utiliza apenas um polímero (CENGIZ, 2019). Ao utilizar compósitos de polímero e cerâmica, além de contornar as complicações de propriedades das cerâmicas bioativas, já citadas anteriormente, melhora-se a propriedade mecânica e a osteocondutividade no polímero (BLAKER, 2003). Existem diversos estudos que comprovam que esses compósitos conseguem uma maior similaridade mecânica com o osso esponjoso natural e com isso, é possível obter boa bioatividade e controle da macro e microestrutura para reparar defeitos ósseos (CHEN, 2019; ARMENTANO, 2010).

No entanto, alguns estudos mostram que, ao incorporar essa carga, o aumento da bioatividade não acompanha proporcionalmente o aumento de propriedades mecânicas. Há, na verdade, um limite de reforço de carga que a matriz polimérica suporta, indicado pela superexposição das partículas cerâmicas nos poros da superfície. Ademais, dependendo do polímero utilizado para esta finalidade pode desencadear respostas inflamatórias, pela liberação de produtos ácidos da

degradação, no tecido do hospedeiro (ARMENTANO, 2010; BLAKER, 2003).

### 2.1.2.1 Políácido láctico

Dentre os diferentes tipos de polímeros, o PLA se destacou em aplicações biomédicas e foi aprovado em 1996 pela FDA, agência norte-americana que regula a comercialização de medicamentos, dispositivos médicos e alimentos, para a implantação em humanos (ALIZADEH, 2019). É um poliéster que, após degradado, pode ser absorvido no corpo humano. Isso ocorre através da decomposição das cadeias poliméricas em subprodutos que são metabolizados no ciclo de Krebs (BACKES, 2017).

O PLA é derivado de fontes renováveis como batata, amido de milho e cana-de-açúcar e a sua sintetização é feita pela abertura de anel de lactídeo formando o ácido láctico, o qual é produzido pela fermentação dessas fontes renováveis da agricultura. Vale-se dizer que seus monômeros não são tóxicos e é um material possível de ser reciclado e reutilizado para impressão 3D em aplicações não biomédicas (ALIZADEH, 2019; CHEN, 2019).

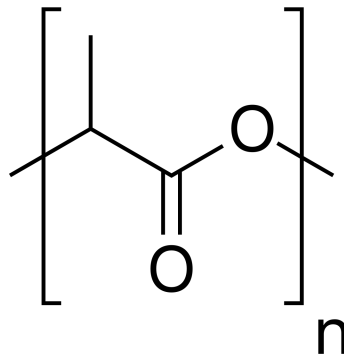


Figura 2 - Estrutura química do PLA (WIKIPEDIA.Polylactic Acid)

A estrutura química do PLA é representada na Figura 2 acima. Apresenta grupos ésteres mais suscetíveis ao ataque hidrolítico, influenciando diretamente na sua degradação quando há a quebra das cadeias poliméricas (GONÇALVES, 2015).

Entre suas características pode-se dizer que é semicristalino com baixa taxa de cristalização, tem natureza hidrofóbica e boa biodegradabilidade (ALIZADEH,

2019). Possui baixa rigidez com 3,5 GPa de módulo elástico e 59 MPa de resistência à tração. O PLA possui uma Tg de 55 a 60°C e baixa resistência ao calor. Apesar de frágil, possui boas propriedades mecânicas, possui transparência e é de fácil processamento (CHEN, 2019).

O PLA possui dois estereoisômeros, que influenciam diretamente em suas propriedades, chamados de poliácido lático levógiro ou Poli(L-ácido lático) (PLLA) e o poliácido lático dextrógiro ou Poli(D-ácido lático) (PDLA). Os isômeros diferem entre si utilizando uma luz polarizada. Os estereoisômeros resultam da síntese química do ácido lático com a hidrólise da lactonitrila utilizando um ácido forte (GIMENES, 2017).

Em relação à solubilidade do PLA, este tem baixa solubilidade na maioria dos solventes orgânicos sendo solúvel em apenas solventes tóxicos como cloreto de metileno e clorofórmio (CHEN, 2019).

PLA possui biocompatibilidade com o tecido nativo e é biodegradável, facilitando processos que envolvem introdução de implantes de PLA no corpo, pois não necessita de cirurgias adicionais, como para remover o dispositivo (ALIZADEH, 2019). Além disso, não sofre reação eletroquímica no corpo devido a baixa condutividade (CHEN, 2019).

Há estudos e aplicações que mostram que revestimento de implantes metálicos com PLA consegue aumentar a resistência contra corrosão e melhorar a atividade biológica do implante. No entanto, a rigidez do PLA pode impedir sua aplicação em scaffolds para a restauração de determinados ossos. Por isso, é comum modificar o material com outro polímero de elasticidade e resistência apropriada (CHEN, 2019).

Entre as companhias que produzem dispositivos médicos comerciais utilizando PLA podem ser citadas Biomet (EUA), Takiron (Japão), Zimmer (EUA) e Sysorb (Switzerland)(CHEN, 2019).

#### 2.1.2.2 Policaprolactona

O PCL é um poliéster alifático desenvolvido no começo de 1930 e pertence, assim como o PLA, ao grupo do poli( $\alpha$ -hidróxi ácidos) (PARK, 2019; CHRISTEN, 2020). É obtido por polimerização por abertura de anel da  $\epsilon$ -caprolactona e possui cadeia linear, ou seja, não há grupos laterais volumosos em sua estrutura química (CARAMELLA, 2016).

Na figura 2 é possível visualizar a estrutura química do PCL. Este é um polímero semicristalino com uma baixa temperatura de transição vítrea, de  $-60^{\circ}\text{C}$  aproximadamente, o que pode gerar problemas durante o processamento, e se encontra majoritariamente na forma amorfa (KIM, 2019). Sua temperatura de amolecimento é em torno de  $59-64^{\circ}\text{C}$  dependendo de sua cristalinidade (CARAMELLA, 2016).

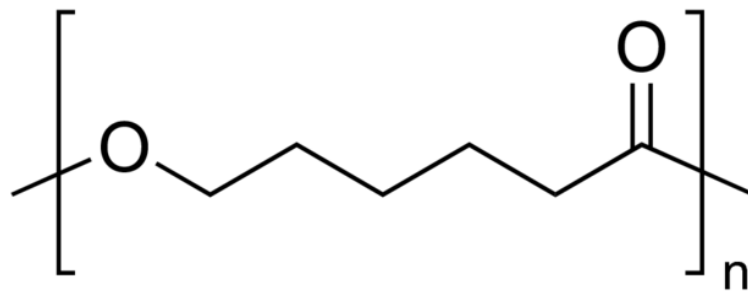


Figura 2 - Estrutura química do PCL (POLYSCIENCES. Polycaprolactone, MW 50000, powder)

As propriedades mecânicas de scaffold de PCL são alteráveis de acordo com a geometria e porosidade. A porosidade dos scaffolds de PCL pode ir de 51,1% a 80,9% e sua resistência a compressão de 10 MPa à 0,6 MPa (YUAN, 2019). O módulo elástico do PCL varia de 35,5 a 140,4 MPa e o do osso é de pouco acima de 7 GPa (HUANG, 2020). Os scaffolds de PCL puro apresentam um módulo de compressão de 100 a 200 MPa dependendo da porosidade (VISSCHER, 2019). Esses valores não atendem completamente os requisitos de resistência para uma substituição óssea, sendo necessário modificações como a introdução de cargas cerâmicas ou utilização do material em blendas.

Um dos primeiros dispositivos feitos utilizando PCL foram as suturas e, em comparação a outros biopolímeros reabsorvíveis (polímeros absorvíveis pelo corpo sem causar danos à saúde), possui uma taxa mais lenta de degradação, menos

reações contra corpos externos e facilidade de manipulação (CHRISTEN, 2020; PARK, 2019). Estas características levaram os pesquisadores a estudarem a aplicação do PCL em tecidos biológicos. Lei D. et. al, por exemplo, estudou a fabricação de scaffolds de PCL por impressão 3D com forma tubular, com elasticidade radial e boa flexibilidade. Quando combinado com condrócitos (células presentes no tecido cartilaginoso) este possui propriedades de resistência e elasticidade similares às do tecido nativo da cartilagem traqueal (LEI, 2019). Quando feitos com scaffolds, matrizes extracelulares são formadas entre seus poros indicando que é biocompatível e capaz de formar neo tecidos adjacentes como a matriz extracelular (PARK, 2019).

Outros estudos ainda comprovam a regeneração óssea em pouco tempo com a utilização desse biomaterial, como Rohner et al., que constatou a formação óssea após 3 meses em scaffolds de PCL com medula óssea revestida (MADRID, 2019).

Esse polímero sintético é indicado para implantes de longa duração pelo seu caráter hidrofóbico e grau de cristalinidade, que prolonga a taxa de degradação (CARAMELLA, 2016; KIM, 2019). No entanto, podem haver restrições como a fumaça produzida por fumantes, a qual pode interromper a integração do implante de PCL com o tecido hospedeiro e reduzir a vascularização do implante aumentando o risco de infecção (PARK, 2019).

Devido às suas boas propriedades de viscoelasticidade em relação à outros polímeros biodegradáveis, pode ser manufaturado em diversas estruturas (espumas, microesferas, filmes, micelas, nanofibras, entre outros) (CHRISTEN, 2020). No entanto, algumas características limitam ampliar sua aplicação, como atividades bio regulatórias, hidrofobicidade, contribuição de carga neutra e suscetibilidade à degradação mediada por bactéria (YONG, 2019).

Sua hidrofobicidade é devido à presença de grupos metilênicos não polares e um grupo éster (relativamente polar) (GONÇALVES, 2015) .

Por ser considerado um biomaterial, o PCL aceita o ligamento e proliferação das células mas não oferece um ambiente propício para outras funções biológicas como diferenciação devido à falta de bioatividade, sendo necessário o uso de blendas e compósitos (BLUM, 2019).

### 2.1.2.3 HA

A hidroxiapatita (HA), cuja a estrutura química é representada pela Figura 3, pode ser de origem natural ou sintética, sendo biocompatível com ossos, dentes, pele e músculos, tanto in vivo (testes realizados em contato direto com o corpo humano ou animal) quanto in vitro (testes simulando o corpo humano ou animal sem fazer uso diretamente destes) (ARMENTANO, 2010). Sua relação molar é de 1,67 Ca/P e, por conta da sua estrutura hexagonal ou monoclinica cristalina, a HA tem capacidade de formar soluções sólidas e aceita substituintes aniônicos e catiônicos, possuindo bioatividade (ALIZADEH, 2019; WATAI, 2018).

A HA é uma das moléculas mais higroscópicas na natureza e faz parte de 30-70% da massa dos ossos e dentes e favorece a proliferação dos fibroblastos (células que formam fibras do tecido conjuntivo), osteoblastos (células responsáveis pela produção da matriz orgânica) e outras células ósseas (CARAMELLA, 2016) (FILHO, 2016).

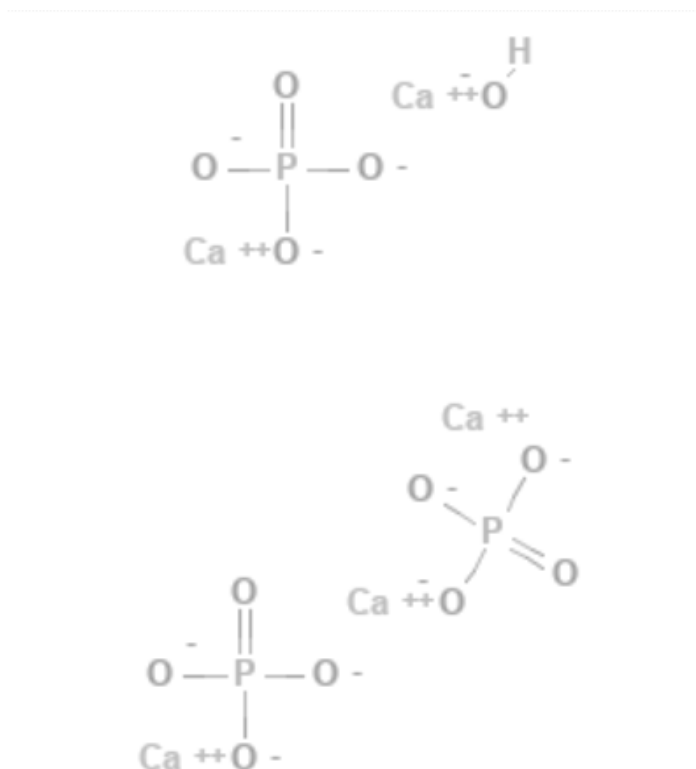


Figura 3 - Estrutura química da HA (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE).

### PubChem. "Hydroxyapatite")

No entanto, a bioatividade da HA pode ser afetada pela temperatura de sinterização. O aumento dessa temperatura pode acarretar na diminuição da taxa de formação da camada de apatita (KOKUBO, 2003). Ademais, a pobre sinterabilidade da hidroxiapatita é prejudicial à sua resistência e tenacidade, principalmente em ambientes úmidos, por isso busca-se a utilização de compósitos para contornar esses problemas (LI, 2013).

Em compósitos a HA possibilita o controle da taxa de degradação, que depende da porcentagem de partículas de HA, e fornece ótima bioatividade ao compósito (ALIZADEH, 2019). A alcalinidade dessa partícula inorgânica neutraliza a degradação autocatalítica e ácida de polímeros, como o PLA, apresentando função bioativa e, por esse e outros motivos, os compósitos de polímero e HA são altamente estudados (ARMENTANO, 2010).

Estudos mostram que scaffolds de compósitos PCL/HA apresentam ótimos níveis de adesão celular, proliferação celular, atividade de fosfatase alcalina (enzima encontrada em diversos tecidos do corpo, principalmente no fígado e nos ossos. No caso dos ossos, são os osteoblastos que a produzem) e deposição de cálcio de células tronco mesenquimais (LI, 2013). Devido a essas características, a HA é muito empregada em reconstruções nas cirurgias ortopédicas e odontológicas ajudando a promover o crescimento ósseo.

Além da bioatividade, as propriedades mecânicas da HA também são muito requisitadas. Segundo testes de fluência a longo prazo e testes de impacto, o compósito PLA/HA, por exemplo, suporta 119 N com carga 10 MPa sem alterar sua forma e sem perder propriedades mecânicas. Isso quer dizer que sua resistência é muito similar à do osso esponjoso humano (1-12 MPa) (CHEN, 2019). Normalmente, trabalha-se com compósitos a baixo teor de fase cerâmica (<40% em volume), chegando a 107-115 MPa de resistência à compressão, no caso do PLA/HA com 9-28% de HA produzida à 103°C. É possível obter 140 MPa de resistência à compressão do compósito com 59% em volume de HA, prensada a quente (194°C e 98 MPa) por 1 hora (RAKOVSKY, 2010).

O que pode prejudicar as propriedades mecânicas é a fragilidade da HA e

sua baixa interação com o polímero ao ser adicionada em grande quantidade no compósito. Além disso, em um compósito a agregação da hidroxiapatita pode afetar o desempenho do material. Esse problema pode ser evitado com a precipitação dos cristais de apatita na solução polimérica (ARMENTANO, 2010).

Em relação a propriedades e processamentos, a HA, combinada com um polímero, pode trazer muitas vantagens. A sua incorporação ao polímero aumenta a sua viscosidade de acordo com a concentração da carga, mostrando um comportamento pseudoplástico, e facilita a modelagem em geometrias complexas para a implantação em uma substituição de osso (CORCIONE, 2017; LI, 2013).

A influência do HA em PCL também é altamente estudada. A HA é capaz de ajudar na adesão insuficiente das células e baixa bioatividade do PCL. O estudo de Liu D. et al, visou utilizar estrôncio contendo hidroxiapatita para desenvolver scaffolds de compósitos de PCL/SrHA por impressão 3D. Em relação aos scaffolds de PCL, o novo material apresenta melhores resultados de proliferação celular, melhor atividade biogênica e maiores níveis de diferenciação de células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea de ratos. O material consegue liberar íons de cálcio de estrôncio com o objetivo de promover osteogênese (processo de deposição de novo material ósseo por osteoblastos). Foi provado que este material é capaz de auxiliar na regeneração óssea (LIU, 2019).

#### *2.1.2.4 Blenda poliácido láctico/policaprolactona*

Como dito anteriormente, o PLA é frágil e rígido, limitando algumas aplicações e manipulações. A adição de PCL pode alterar propriedades como flexibilidade, alongação e viscosidade (TSURUMI, 2014). As propriedades mecânicas e taxa de degradação são alteráveis de acordo com a proporção de cada polímero e conformação do scaffold (YUAN, 2019).

PLA e PCL não são miscíveis um no outro, então, a blenda destes materiais possui uma separação de fase. Podemos definir blendas como misturas mecânicas de diferentes polímeros, em que, na maioria dos casos, não há reação química entre eles. Ferri et al. utilizou a blenda PLA/PCL, também constatando que não há



miscibilidade e foi observado que a adição de 20 a 30% de PCL oferece ductilidade e flexibilidade ao PLA (PEPONI, 2018).

A fim de oferecer uma boa adesão interfacial entre esses biopolímeros, o uso de compatibilizantes é uma opção interessante. Além da adesão, os compatibilizantes conseguem promover uma morfologia mais uniforme e, portanto, propriedade mecânica uniforme. Há compatibilizantes ativos, os quais são miscíveis em uma das fases da mistura e seus grupos reativos conseguem reagir com a outra. Há também os compatibilizantes não reativos que se caracterizam por uma estrutura em blocos, um dos blocos é miscível em uma fase e o outro bloco é miscível na outra fase (COR KONING, 2001).

Pitjamit S. et al., desenvolveu PLA/PCL em proporção de 70:30 com 15% de HA, impressos com FFF. Houve a melhora de proliferação de osteoblastos com a adição de HA, impulsionando a formação de tecido ósseo. A degradação chegou a 0,25% após 30 dias. Os valores aproximados calculados de degradação após 16 semanas de implantação, em que o osso estaria completamente restaurado, foi de 1,48% (PITJAMIT, 2020).

A morfologia da blenda PLA/PCL envolve o PLA como fase predominantemente lisa e uniforme, enquanto o PCL possui rugosidade. A adição de partículas cerâmicas, como a HA, faz com que a morfologia apresenta micelas, as quais são insolúveis na matriz de PLA e diminui a rugosidade superficial do PCL (GIMENES, 2017) .

Além de Pitjamit et al, Yong et al também fabricou scaffolds a partir de impressão 3D, neste caso, utilizando filamentos de PDLLA/PCL/HA nas proporções 90/10/0 e 90/0/10. Estes apresentaram estruturas porosas interconectadas, boa biocompatibilidade, adequado potencial osteogênico, adesão celular, proliferação e produção de matriz extracelular (YONG, 2019).

A incorporação de HA em tamanhos nanométricos também é uma opção interessante em blendas de PLA/PCL. O estudo de Peponi L. et al. visou observar as consequências da adição de diferentes teores de nanohidroxiapatita (nHA), 0,5%, 1% e 3% em massa, na blenda 70/30 PLA/PCL. O reforço de nHA reforça a fase rica em PCL e aumenta a hidroflicidade e a redução do tempo de desintegração.

Notou-se boa resposta de memória de forma termicamente ativada, à 55°C, de todos os nanocompósitos. Efeitos de plastificação foram observados com teores de 0,5 e 1% e de reforço com 3%. O vazão da interface entre as duas fases poliméricas ficou mais evidente com o reforço de nHA devido à baixa adesão das partículas de HA nos polímeros. Também é possível dizer que esse fato é dependente da quantidade de hidroxiapatita adicionada à blenda. As propriedades mecânicas, em termos de módulo elástico, foram aumentadas devido ao elevado valor de módulo de Young da hidroxiapatita (PEPONI, 2018).

Além disso, a adição de nHA não interferiu significativamente no comportamento térmico da matriz. Segundo Kaur et al., a incorporação de nHA não afeta significativamente as propriedades térmicas, mas diminui a cristalinidade. Concluiu-se que os materiais estudados são apropriados para as aplicações biomédicas e para aplicações que exigem acondicionamento e efeitos de memória de forma posteriormente, além da biodegradabilidade (PEPONI, 2018).

### 2.1.3 Degradação

Basicamente, os materiais biodegradáveis utilizados em scaffolds visam oferecer suporte para as células que ajudam a vascularização e inervação a fim de diminuir o tempo de regeneração celular. Dependendo da taxa de biodegradação, o scaffold é absorvido pelo organismo aos poucos enquanto o tecido é recuperado, tempo testado em estudos de hidrólises.

Há diversos fatores que podem causar o início de uma degradação, como: calor, luz, tensão mecânica, ataque químico e/ou biológico. Devido a esses fenômenos, há o fornecimento de energia para o rompimento das ligações químicas (GIMENES, 2017).

Por ser biorreabsorvível, seus produtos da degradação do PLA, por exemplo, são completamente eliminados sem efeitos colaterais residuais. Em contato com o fluido corpóreo, o PLA passa por hidratação e sofre hidrólise, gerando oligômeros não tóxicos. O material se oxida a ácido lático e, após isso, há a liberação de CO<sub>2</sub> com a presença de Acetil coenzima A e decomposição em citrato, o qual participa

do Ciclo de Krebs. O produto desse ciclo é  $\text{CO}_2$  e água, que são facilmente eliminados por vias metabólicas (WATAI, 2018).

Assim como o PLA, o PCL também tem seus produtos de degradação completamente eliminados pelo corpo sem efeitos colaterais residuais. Pela hidrólise das ligações ésteres, há a produção de ácidos terminais, os que podem ou não ser difundidos para o meio. O produto da degradação é o ácido 6-hidróxicapróico, o qual é transformado em acetil coenzima A. Esta enzima é eliminada do corpo pelo ciclo do ácido cítrico (GONÇALVES, 2015).

A taxa de degradação do PLA, por exemplo, é controlável, levando de semanas a anos dependendo da composição, cristalinidade, peso molecular e distribuição. Tanto in vivo quanto in vitro a biodegradação dos scaffolds de PLA ocorre bem lentamente, mantendo suas propriedades mecânicas por meses. Já o PCL tem sua taxa de degradação ainda menor do que o PLA, assim é mais desejado em implantes de longa duração e aplicações de liberação controlada (ARMENTANO, 2010).

Suas propriedades mecânicas, em aplicações que substituem os ossos, são mantidas durante 6 meses no mínimo e tempo médios de degradação do PCL está dentre 2 anos, mas isso depende da cristalinidade (ARMENTANO, 2010; YUAN, 2019; KIM, 2019). No estudo de Jensen et al., é previsto um tempo de degradação do scaffold de PCL de 6 a 12 meses (JENSEN, 2014). Outros estudos dizem que o material degrada em até 3 a 4 anos, que é o período suficiente para que o implante de PCL se integre com o tecido natural substituindo-o (PARK, 2019).

O estudo comparativo de Shalumon K. T. tratou da produção de scaffolds fibrosos de PCL e PLA com e sem nHA. A degradação do PCL foi demorada, ocorrendo de 2 a 3 anos. O PLA degrada mais rápido do que o PCL com diferença de 30 a 50 semanas. PCL não mostrou degradação significativa nos primeiros 12 meses, mas nesse período o PLA degradou completamente (SHALUMON, 2018).

## 2.2 SCAFFOLDS

Scaffolds são estruturas criadas para suportar a formação de tecido tridimensional, possuindo integridade mecânica, transporte de massa e função biológica, como: permitir que as células se anexem e migrem, transportar e barrar agentes bioquímicos e permitir a difusão de nutrientes celulares vitais. (ARMENTANO, 2010; GONZÁLEZ, 2019). Além de agirem como modelos temporários para a interação celular e para a construção da matriz extracelular, são capazes de interagir com o tecido a níveis moleculares e celulares de modos específicos, combinando bioatividade e bioabsorbilidade (MADRID, 2019). Consegue-se controlar essas características através da variação de porosidade e arquitetura do scaffold (GONZÁLEZ, 2019).

Geralmente os scaffolds têm uma estrutura interconectada com dimensões e porosidade pré-definidas e apropriadas para a regeneração de um tecido específico (GONZÁLEZ, 2019). Esses fatores são importantes para a resistência da interface, para impedir a mobilidade do implante por ter elevada área de contato entre o material a ser implantado e o tecido hospedeiro e para a circulação dos fluidos corpóreos e para a biodegradação do implante (FILHO, 2016).

Entre outros requisitos, é possível citar que deve ser tridimensional; deve ser biorreabsorvível com uma taxa de degradação controlada e uma taxa de reabsorção adequada para o crescimento do tecido *in vitro* ou *in vivo*; deve ter uma superfície apropriada para a adesão, proliferação e diferenciação das células. Além disso, o scaffold não deve desencadear uma reação imunológica (HUTMACHER, 2020).

Em termos mecânicos, é preciso que o scaffold tenha resistência adequada para suportar cargas fisiológicas distribuindo as tensões por todo resto do tecido (SCHIPANI, 2019). Scaffolds demasiadamente mais rígidos ou flexíveis que o osso natural à sua volta pode acarretar em fratura do tecido (AMINI, 2020).

O scaffold pode também servir como uma estrutura reforçada que simula o formato do defeito que está substituindo impedindo distorções de tecidos do hospedeiro e pode impedir infiltrações de tecidos não envolvidos no processo de regeneração e que pode limitar esse fenômeno (CARAMELLA, 2016). Outra função é permitir a adesão e migração celular, a difusão de nutrientes celulares vitais e produtos secretados, a vascularização e o suporte de funções mecânicas e

biológicas (MADRID, 2019). Para isso, os scaffolds devem ter propriedades mecânicas, físicas e biológicas específicas e similares à tecido (ARMENTANO, 2010).

Além das propriedades biológicas, outro importante fator que influencia na performance do scaffold é a porosidade, a qual é determinante nos módulos mecânicos de compressão e resistência ao escoamento.

De acordo com Bose et al. e Hutmatcher et al., a porosidade e a interconexão dos poros ajuda na vascularização evitando necroses, na difusão de nutrientes e gases, na remoção de restos metabólicos resultantes da atividade celular e, conseqüentemente, no crescimento celular (MADRID, 2019; HUTMACHER). A interconectividade é importante para aumentar a área de superfície específica para que haja o anexo das células e crescimento tecidual. Assim, é melhorada a distribuição uniforme das células e o transporte de nutrientes e produtos celulares (ARMENTANO, 2010).

No entanto, ainda há o risco de necrose tecidual caso os poros dos scaffolds forem muito pequenos ou não apresentarem interconexão (CHEN, 2019). Os tamanhos de poros podem variar de 200 a 900  $\mu\text{m}$ . Pesquisas apontam que, apesar de estruturas macroporosas interconectadas de 300-500 micrômetros conseguirem boa taxa de difusão, o transporte de nutrientes ainda fica comprometido (HUTMACHER, 2000). Para outros estudos, os tamanhos adequados de poros de scaffolds estão entre 200-400 micrômetros (DONG, 2018). Já para Filho H. N. et al. um bom tamanho de poro está entre 300-400 micrômetros de diâmetro (FILHO, 2016).

No caso da porosidade, para Alizadeh-Osgouei M. et al. a porcentagem recomendada é de 90% aproximadamente (ALIZADEH, 2019). No caso do trabalho de Caramella C., afirma-se que os valores de porosidade devem ser de, no mínimo 80% e os poros interconectados dos scaffolds devem estar entre 200 a 900 micrômetros (CAMELLA, 2016). Pode-se perceber que o tamanho de poro e a porosidade podem compreender diferentes faixas de acordo com o tecido a ser implantado.

No entanto, ao aumentar a porosidade a fim de melhorar a interconectividade

dos poros e obter maior crescimento tecidual, há a possibilidade de se comprometer as propriedades mecânicas do scaffold (ARMENTANO, 2010). Nos estudos de Hutmacher et al, citado por González-Henríquez C.M. et al., por exemplo, os scaffolds criados por FFF apresentam 56% de porosidade e um tamanho de poros de 380 a 590 micrômetros. Foi observado o crescimento de fibroblastos e osteoblastos da periferia para o centro cobrindo os poros (GONZÁLEZ, 2019).

O design e arquitetura dos scaffolds influencia nas propriedades mecânicas e biológicas como na qualidade da difusão celular, e na diferenciação, crescimento, proliferação, anexação e migração celular (CHEN, 2019; AMINI, 2020).

Existem diferentes arquiteturas para scaffolds, entre elas é possível citar a geometria pilar (0-90°, 0-60°, 0-45°), honeycomb e espiralar.

Germain et al. fez um estudo comparativo entre duas geometrias diferentes de scaffolds: a chamada Gyroid 3D, que possui um formato espiralado, e a estrutura de pilar 0-90° normalmente utilizada. Ambas as estruturas podem ser visualizadas na figura 5. Imprimido com a técnica de FFF, o primeiro modelo apresentou 71% de porosidade e propriedades mecânicas de compressão mais isotrópicas, além de manter suas propriedades físicas e químicas após 64 semanas em condições fisiológicas. Em contraste, a estrutura de pilar suportou apenas 33 semanas. Os resultados indicam que, devido a similaridade com a geometria do tecido natural e maior volume e tamanho de poro, a geometria Gyroid 3D se adequa à aplicações para scaffolds de tecidos ósseos com boa resistência mecânica (CHEN, 2019).

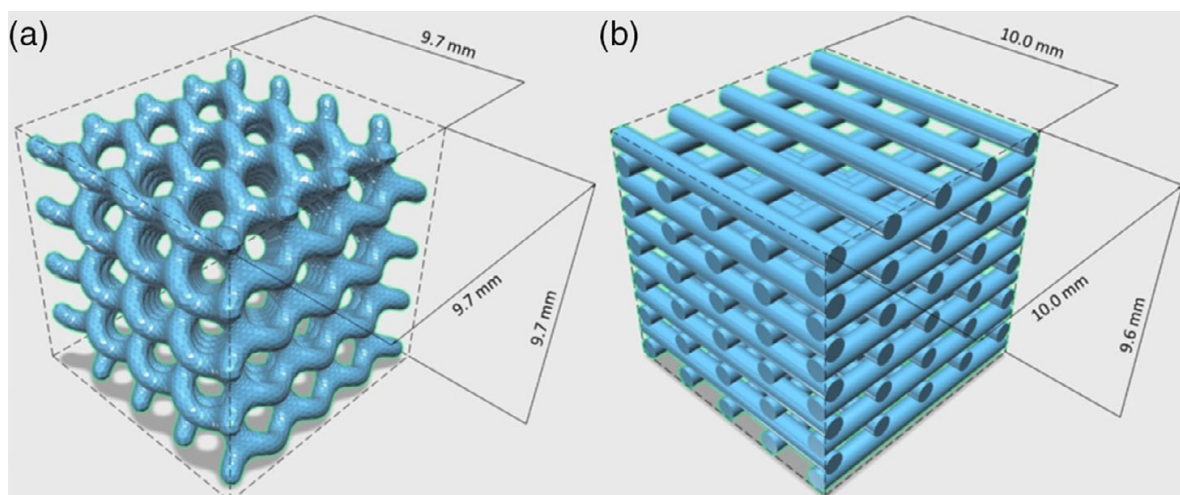


Figura 5 - Scaffolds com estrutura Gyroid 3D e pilar 0-90° (CHEN, 2019).

### 2.3 FFF (Fabricação por Filamento Fundido)

Há diversas formas de se obter scaffolds de compósitos como: *casting* por solvente (*solvent-casting*), lixiviação de partículas (*particle leaching*), liofilização (*freeze drying*), separação de fase induzida termicamente (*thermally-induced phase separation*) e espuma de gás (*gas foaming*). O fator mais desvantajoso desses métodos é a utilização de solventes citotóxico e a dificuldade de se controlar a microarquitetura, não sendo possível ter domínio dos tamanhos de poros e gerando uma porosidade mal distribuída (BABILOTTE, 2019).

A fim de se obter scaffolds com boa reprodutibilidade, a área de biomateriais investe pesquisas na manufatura aditiva. Geralmente, esta técnica se baseia em uma construção camada-a-camada e é usada para dar origem a muitos componentes médicos, aparelhos de liberação de medicamentos internos e implantes. Também é possível utilizar como fonte de alimentação materiais poliméricos, cerâmicos, metálicos e compósitos (CORCIONE, 2017).

Há diversos tipos de manufatura aditiva, incluindo a impressão 3D. A fabricação substrativa é o nome dado às metodologias tradicionais de manufatura, entre elas *casting*, *forming*, moldagem e usinagem. A impressão 3D tem evoluído durante os últimos 30 anos, tanto nos campos dos negócios quanto no dia a dia dos consumidores, sendo possível adquirir uma impressora 3D na própria residência com preços razoáveis. Com isso, há o desenvolvimento de novas técnicas de manufatura aditiva, entre elas prototipagem rápida, manufatura rápida, fabricação aditiva, formas livres para serem fabricadas, manufatura de camadas ou formas sólidas livres (GONZÁLEZ, 2019).

O baixo custo de produção é devido a não necessidade de moldes, ferramentas adicionais e processos de lixamento. Além disso, há a possibilidade de fabricar diferentes versões do protótipo para testes de laboratórios facilmente (GONZÁLEZ, 2019).

A liberdade de design de estrutura é um dos diferenciais da impressão 3D. Os *designs* dos scaffolds podem usar vários modelos matemáticos para formar diversas microestruturas e permite o auxílio em tratamentos regenerativos de engenharia de tecidos. No entanto, a quantidade possível de arquiteturas de

scaffolds é limitada. A arquitetura mais comum é representada na Figura 6.

O *design* do scaffold deve garantir propriedades mecânicas adequadas e boas propriedades biológicas, além de porosidade apropriada e poros interconectados para o transporte de massa e interações do material com as células do corpo humano garantindo osteocondução. A análise da angulação das deposições do design dos scaffolds também é importante para essas propriedades (KOKUBO, 2003).

O modelo com *design* tridimensional assistido por computador, ou 3D computer-aided design (CAD), é feito por scanners 3D ou computadores. Primeiramente o modelo se encontra como um formato de linguagem de mosaico de superfície, ou *surface tessellation language* (STL), que é dividida em gráficos 2D por um software antes de ser utilizado na impressora 3D, a qual imprimirá de acordo com gráficos 2D (CHEN, 2019). Depois de fazer o design do modelo 3D no software de modelamento CAD especializado, o *design* é convertido em formato .stl, para a impressão sendo transferido para o equipamento de manufatura aditiva. Nele o *design* é digitalizado e cortado em várias camadas consecutivas (GONZÁLEZ, 2019). Esse modelamento computadorizado, associado ao comportamento reológico do material, permite que controlemos a porosidade, tamanho de poros, design e geometrias da parte que será substituída no corpo (MADRID, 2019).

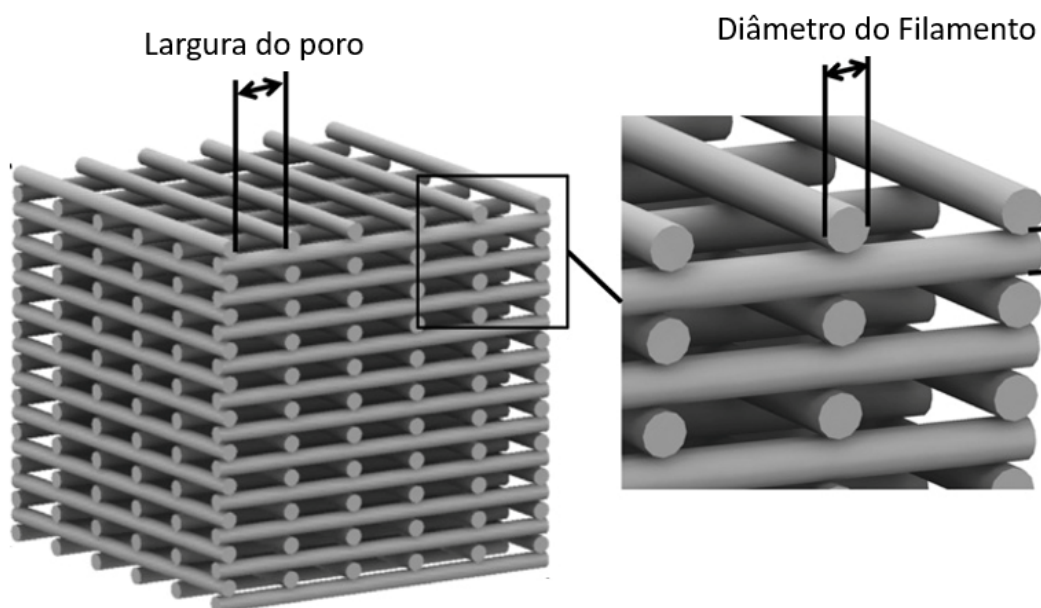




Figura 6 - Estrutura típica de um scaffold fabricado por impressão 3D (SOBRAL, 2011)

O equipamento é ajustado nas condições de impressão, o que depende da metodologia empregada e da espessura da camada. Alguns parâmetros como temperatura e velocidade de impressão são ajustados dependendo da metodologia, da finalidade do produto e material a ser empregado, sendo necessário padronizar essas condições para a futura reprodutibilidade. A impressão é feita com a deposição de uma camada sobre a anterior (GONZÁLEZ, 2019).

A Fabricação por Filamento Fundido (FFF) é um dos métodos mais comumente utilizados de impressão 3D, no qual utiliza-se um filamento polimérico termoplástico que é aquecido até sua temperatura de amolecimento para ser extrudado pelo bico da impressora. As coordenadas do bico da impressora são controladas por um computador (CORCIONE, 2018). A limitação de materiais para utilização na FFF se baseia na termoplasticidade, viscoelasticidade, amolecimento/solidificação, capacidade de ser pré-processado em filamentos poliméricos (MADRID, 2019).

A FFF é uma técnica simples, de baixo custo, não poluente, que não necessita de condições externas específicas como laser, fácil de utilizar, flexível no uso de materiais e processamentos, que reduz o tempo de residência do material na etapa de aquecimento e que é capaz de realizar uma produção contínua (GONZÁLEZ, 2019). Além disso, é comumente utilizado para produzir dispositivos e instrumentos médicos e implantes, com alta taxa de produção e alta resistência mecânica (CHEN, 2019) (MADRID, 2019).

É recomendável para a impressão com termoplásticos amorfos devido ao baixo coeficiente de expansão térmico, baixa temperatura de transição vítrea e temperatura de amolecimento. Estas características são mais adequadas ao processo pois o material sofre menor tensão durante o resfriamento. Os termoplásticos amorfos são melhor extrudados devido a sua variação gradual de viscosidade em função da temperatura (GONZÁLEZ, 2019).

A impressão 3D operada com a FFF consiste em três fases: Pré-processamento, produção e pós-processamento. Na primeira, um arquivo de

projeto 3D computadorizado (CAD) é usado para ser a base do design do que se deseja obter, como explicado anteriormente (CORCIONE, 2017).

Na fase de produção, a impressora utiliza uma temperatura pouco acima da temperatura de amolecimento do termoplástico para depositá-lo, com um bico de extrusão, sobre uma superfície adequada (CORCIONE, 2017). O bico da extrusora ou a mesa possui 3 direções de movimento: nas direções X e Y e na altura Z e os padrões de movimentação são pré determinados para construir um objeto tridimensional (MADRID, 2019). O filamento do material a ser extrudado deve possuir um diâmetro de aproximadamente 1,75 mm. Este é aquecido no bico a uma temperatura pouco acima da temperatura de amolecimento e, então, depositado a camadas extremamente finas sobre a superfície, chamada de 'cama'. As camadas se solidificam e a camada seguinte é depositada sobre as anteriores (HUTMACHER, 2000).

A solidificação da camada de PLA, por exemplo, é rápida possibilitando a deposição de camadas salientes sem a necessidade do uso de suportes, a não ser em casos de peças com maiores áreas. O ventilador da impressora é utilizado para auxiliar no resfriamento logo que o material sai do bico da extrusora (CHEN, 2019).

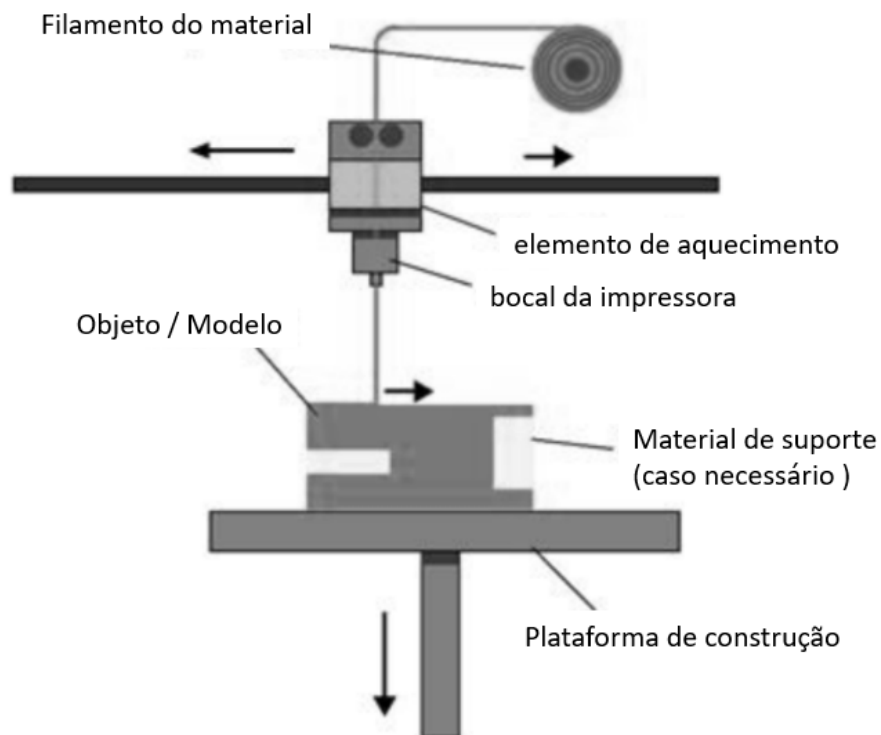


Figura 7 - Esquema ilustrativo de uma Impressora 3D (LOUGHBOROUGH UNIVERSITY. About Additive Material)

Na última fase, o suporte é removido ou dissolvido em água ou outro solvente (CORCIONE, 2017). Nesse processo, os materiais não ficam presos no scaffold, não é necessário nenhuma plataforma ou suporte, com exceção de saliência de estrutura (MADRID, 2019). Na figura 7 é possível visualizar um esquema ilustrativo de uma impressora 3D.

A FFF permite construir scaffolds com precisão de composição e arquitetura, geometrias de poros interconectados com uma ampla variedade de tamanhos de poros. Isso é obtido variando-se os parâmetros do equipamento, entre eles destaca-se a velocidade de impressão, pressão de extrusão e diâmetro do bico da extrusora (SCHIPANI, 2019).

Entre as variantes do processo destaca-se a temperatura de impressão e a temperatura da mesa da impressora. Por exemplo, a temperatura de impressão do PLA comumente utilizada é entre 190 e 235°C para o filamento e entre 30-55°C para a plataforma na qual o filamento será depositado. A temperatura da plataforma pode muitas vezes não ser necessária, mas ajuda na adesão do extrudado ao substrato. Altas temperaturas, como 90°C, não são recomendadas pela dificuldade de extração da peça após impressão. No caso da impressão FFF do PLA, Chen et al. avaliaram que as elevadas temperaturas utilizadas não influenciam significativamente na alteração da estrutura semicristalina e atividades biológicas (CHEN, 2019).

A velocidade de impressão também é uma variável que deve ser levada em consideração. Uma velocidade de impressão menor acarreta no maior tempo de extrusão em cada parte que será impressa e influenciando na taxa de cisalhamento. Seguindo o mesmo raciocínio, para um breve caminho de impressão, a velocidade da impressora deve ser imediatamente reduzida a zero para que haja a mudança de direção e então deve ser retornar à velocidade o mais rápido possível. Esse processo faz com que o filamento extrudado tenha um maior diâmetro pois tem-se um maior tempo para extrudá-lo. A direção e printabilidade do caminho de material

depositado não sofrem efeitos tão significativos a ponto de prejudicar o trabalho de impressão (SOUFIVAND, 2020).

Variáveis como o tamanho do bico da extrusora da impressora e a taxa de extrusão podem controlar estruturas com diâmetros de centenas de micrômetros. A espessura da camada depositada pode ir de 250 a 370  $\mu\text{m}$  e vale-se dizer que o tamanho de poros depende da arquitetura do scaffold e condições de processo que interfiram no comportamento reológico do material (MADRID, 2019).

As deformações e tensões que o material sofre durante a passagem pelo bico da extrusora determinam a morfologia e as propriedades mecânicas finais do material que está sendo impresso. Devido às altas taxas de cisalhamento, a grande parte dos polímeros não apresentam comportamento de um fluido Newtoniano. Quando o material está fundido e sob fluxo, pode-se prever e simular o comportamento do polímero com base nas suas propriedades reológicas, sendo possível regular os parâmetros citados acima para se adequarem ao desejado (SANCHEZ, 2018).

A pseudoplasticidade é muito observada nos polímeros fundidos devido ao enovelamento e desenovelamento das cadeias e orientação das macromoléculas quando há aplicação de cisalhamento. Em taxas de cisalhamento muito baixas, há a possibilidade de que a taxa de enovelamento seja alta em comparação com as de cisalhamento. Neste caso, o gradiente de velocidade não atinge um valor suficiente para o desenovelamento e, por conseguinte, resulta em uma viscosidade alta, podendo dificultar o processo de impressão do material (SANCHEZ, 2018).

A orientação molecular é um dos fatores possíveis de serem controlados pelo processo, identificando padrões de fluxo e valores de pressão para a orientação desejada. Esse controle com base na reologia do material, permite que seja possível eliminar falhas no material impresso final e determinar a produtividade de certo produto impresso. É válido mencionar que, uma velocidade de processamento adequada nem sempre reflete em boa produtividade, uma vez que a qualidade do produto deve estar em um nível aceitável e padronizado (SANCHEZ, 2018).

O FFF tem como desvantagem a limitada quantidade de biomateriais que podem ser utilizados, devendo ainda ser termoplásticos (CARAMELLA, 2016). Outro

ponto desvantajoso é a possível degradação do polímero e o bico de extrusão pode ser entupido pelo filamento (MADRID, 2019; CHEN, 2019).

Além disso, a superfície do produto impresso tem aspecto rugoso que, em alguns casos pode ser vantajoso, e o produto pode ser impreciso devido à delaminação. Fabricação de produtos específicos, como materiais macios é uma limitação da técnica, assim como a baixa velocidade de formação e a possibilidade de imprimir uma única peça por vez (CHEN, 2019).

O PCL é comumente utilizado na técnica de FFF, por ter baixo custo e boa resistência mecânica (ALIZADEH, 2019). O seu módulo elástico depende do tempo devido à mudança de cristalinidade em função do tempo exposto ao fluxo térmico ao longo do processo de impressão. Um módulo elástico mais elevado é atribuído às partes do filamento em que há maior cristalinidade promovida pelo maior tempo de exposição ao fluxo térmico (SOUFIVAND, 2020).

Os scaffolds de PCL envolvendo cargas cerâmicas bioativas são também estudados. As impressões 3D de PCL/HA, por exemplo, foram estudadas por Huang B., que observou que compósitos mostram um comportamento elástico elevado, indicando uma alta resistência contra recuperação durante a impressão. (HUANG, 2018).

A adição de partículas cerâmicas na matriz de PCL aumenta a viscosidade e, portanto, reduz a fluidez. Segundo os estudos de Corcione et al., com 20% em massa de partículas cerâmicas, torna-se difícil a impressão de materiais. Vale citar que a taxa de cisalhamento e a temperatura têm uma influência maior sobre a viscosidade do compósito do que a quantidade de partículas cerâmicas incorporadas. Esses fatores podem ser controlados pelos parâmetros da impressora. (CORCIONE, 2018).

## 2.4 BIOATIVIDADE

A bioatividade pode ser estimulada em superfícies de materiais não bioativos pela formação de grupos funcionais (Si-OH, Ti-OH, Zr-OH, Nb-OH, Ta-OH, -COOH e

$\text{PO}_4\text{H}_2$ ) capazes de induzir a formação da camada de apatita ou pela formação de uma fina fase cerâmica que possui o potencial de formar grupos na exposição ao corpo. Esses grupos funcionais assumem uma carga negativa e induzem a formação de uma camada de apatita pela formação de um composto amorfo de cálcio e, então, de um fosfato de cálcio amorfo, o qual se forma como um semelhante ao mineral ósseo de apatita (KOKUBO, 2003).

Testes com scaffolds de nanoestruturas porosas de poli ( $\epsilon$ -caprolactona) (NSP-PCL) com células, por exemplo, conseguem resultados de bioatividade qualitativamente significativos em um ambiente *in vitro*, mas pouco crescimento ósseo após 8 ou 12 semanas em um ambiente *in vivo*, em um defeito ósseo (JENSEN, 2014). Por isso a importância de incorporar materiais bioativos ajudando em propriedades importantes para a recuperação do osso, como osteoindução e osteocondução.

A utilização de cerâmicas bioativas para criar compósitos é viável para melhorar a bioatividade de biopolímeros e serem utilizados em impressão 3D. Há vários estudos que comprovam os efeitos do HA em biopolímeros para ocorrer a mineralização (DOOLEY, 2019).

Quando implantado, forma-se uma camada na superfície do material bioativo. Essa camada é feita de nano cristais de apatita contendo íons carbonatos que possui uma estrutura defeituosa e com baixa cristalinidade. O tecido ósseo entra em contato direto com essa camada de apatita e uma ligação é formada diminuindo a energia interfacial entre eles (KOKUBO, 2003).

Depois da implantação, o tecido hospedeiro responde durante 3 semanas com o recobrimento do material, migração de macrófagos e encapsulação. Durante esse tempo há reações inflamatórias e cura de feridas. O tipo e nível da reação entre o implante e o tecido natural depende de propriedades do material como: composição, tamanho, formato, superfície, rugosidade e porosidade (CHRISTEN, 2020).

A superfície do biomaterial em contato com o sangue é propícia tanto para adesão e colonização de bactérias quanto para o anexo de células hospedeiras que integram o tecido. Essa disputa de local é crucial nas primeiras 6 horas após a

implantação e é decisivo para a recuperação do tecido pois, uma espécie de biofilme bacteriano impede a formação de integração celular. Há estudos para o desenvolvimento de biomateriais com a superfície apropriada para integração do tecido e, simultaneamente, para eliminação desse filme (KABIRIAN, 2019)

Fujibayashi et al. mostra que a formação in vivo da camada de apatita pode ser simulada no fluido corporal simulado (SBF), sem proteínas e sem células (apud TSURUMI, 2014). Este fluido possui concentrações iônicas próximas ao plasma sanguíneo humano ( $\text{Na}^+$  142.0,  $\text{K}^+$  5.0,  $\text{Ca}_2^+$  2.5,  $\text{Mg}_2^+$  1.5,  $\text{Cl}^-$  147.8,  $\text{HCO}_3^-$  4.2,  $\text{HPO}_4^{2-}$  1.0, e  $\text{SO}_4^{2-}$  0.5mm, e um pH 7.25 ou 7.40) (KOKUBO, 2003). Assim, a bioatividade pode ser verificada pela formação da camada de apatita na superfície do material em SBF.

Kokubo et al. estudaram sobre o SBF e a sua influência sobre biomateriais, desenvolvendo seu próprio SBF. Neste, a concentração e composição de íons é praticamente a mesma daquela encontrada no plasma sanguíneo natural do ser humano. Com isso, a formação de apatita nos biomateriais imersos no novo SBF criado foi eficaz, sendo padronizado para inúmeros estudos posteriores (TSURUMI, 2014).

Tipicamente, as culturas de células eram cultivadas em modelos planos bidimensionais, o que não era apropriado para representar o ambiente fisiológico natural. Segundo a literatura, cultivo em modelos 3D são mais adequados. Culturas de células em scaffolds são comumente utilizadas para aumentar a quantidade de células tronco cancerígenas, relacionadas com quimiorresistência de tumor e/ou sua reincidência após a quimioterapia (RABIONET, 2018).

As células tronco humanas provindas da medula óssea (hMSCs) são muito utilizadas nas pesquisas de engenharia de tecidos pois têm um elevado potencial de diferenciação conseguindo se diferenciar em vários tipos de células formadoras de tecidos dependentes de ancoragem, como osteoblastos, condrócitos, adipócitos, tenócitos e miócitos, neurônios e mioblastos.

A interação entre as células tronco e o ambiente ainda é estudada devido a complexidade do seu entendimento, principalmente os diferentes parâmetros físicos na biocompatibilidade dos materiais utilizados (MAXSON, 2010; ARMENTANO,

2010).

Outro método utilizado para verificar bioatividade é o cultivo de células hMSCs em meio Leibovitz independente de CO<sub>2</sub> (LEI). Este teste possibilita verificar a ação osteocondutora do material sobre as células-tronco do tecido adiposo humano. Além disso, é também possível utilizar o biorreator de perfusão para verificar a proliferação celular (SILVA, 2012)

### **3 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

De origem natural ou sintética, a HA consegue suportar ambientes químicos mais críticos do que os metais e polímeros, além de possuir boa biocompatibilidade, osteocondutividade, biodegradabilidade, restaurabilidade, hidrofiliabilidade e resistência mecânica. Com essas vantagens, consegue ser um ótimo material para utilização em tecidos do corpo, especialmente por ser biocompatível com ossos, dentes, pele e músculos, tanto in vivo quanto in vitro, além de favorecer a proliferação de células ósseas. A desvantagem de pobre sinterabilidade da hidroxiapatita, problemática à sua resistência e tenacidade, pode ser contornada com a sua introdução em polímeros.

Entre os polímeros sugeridos a blenda PLA/PCL se destaca por ambos os componentes terem características e comportamentos desejáveis para a aplicação em questão. No caso do PCL, por ser biocompatível, biodegradável, inerte e apresentar uma baixa taxa de degradação, recebe um destaque na utilização para implantes de longa duração. Apesar de ser constatável a ligação e a proliferação celular no PCL, não se encontra um ambiente propício para diferenciação, por exemplo, sendo necessário a incorporação de uma carga cerâmica. O PLA, também biocompatível e biodegradável, possui adequadas propriedades mecânicas e térmicas, além do seu fácil processamento. Devido a sua alta rigidez, se faz necessário a modificação com outro polímero, como o PCL, possibilitando o controle da flexibilidade, alongação e viscosidade. Experimentos já realizados constatam que 20 e 30% de PCL no PLA são valores que oferecem adequada ductilidade e flexibilidade.



As principais vantagens de se utilizar os polímeros ao invés de metais em implantes ósseos é o melhor controle das propriedades mecânicas e a bioreabsorção. Os metais tendem a apresentar valores muito altos de módulos de Young, o que prejudica a atividade do local em relação à acumulo de tensões e fricções. Além disso, a bioreabsorção presente no biomateriais poliméricos é importante para que não haja necessidade de futuras cirurgias para manutenção ou remoção do implante, sendo um procedimento de muitos riscos, principalmente em pessoas da terceira idade.

A incorporação da HA ao polímero traz muitas vantagens como: o aumento da viscosidade do material, podendo ou não gerar um comportamento pseudoplástico, facilitando modelagem em geometrias específicas do lugar de substituição do osso. Ao se tratar da blenda PLA/PCL, a HA é capaz de auxiliar na adesão insuficiente das células e baixa bioatividade do PCL e neutralizar a degradação autocatalítica e ácida do PLA. Além disso, a resistência desse material é controlável e pode se aproximar muito a do osso esponjoso humano, sendo possível obter 140 MPa de resistência à compressão.

Entre os possíveis valores de proporção para a blenda PLA/PCL, podemos destacar 70:30, com carga de HA variando de 0,5% a 15% em massa, condição que proporciona ótima proliferação de osteoblastos impulsionando a formação de tecido ósseo.

Visto que o PLA leva de semanas a aproximadamente 1 ano para se degradar e o PCL de meio a 4 anos, com o controle dessa taxa, é esperado que haja tempo suficiente para que o tecido ósseo seja totalmente regenerado. Ainda é válido ressaltar que o tempo de degradação pode variar de acordo com o tamanho do tecido a ser substituído. O material promete boa biocompatibilidade, adesão celular, proliferação celular e potencial osteogênico.

Fabricando scaffolds tridimensionais com esse material deve-se atentar para que este tenha uma superfície apropriada para a adesão, proliferação e diferenciação das células. Além disso, a interconectividade de poros é importante para aumentar a área de superfície específica para que haja a adesão das células e crescimento tecidual. Em termos de tamanhos de poros recomenda-se de 200 a 500

µm para viabilizar o transporte de fluidos e crescimento celular.

Para seguir parâmetros geométricos tão rígidos, o FFF é o mais recomendado. Essa técnica mostrou apresentar diversos benefícios, como: ser uma técnica simples, ser de baixo custo, não ser poluente, que não necessita de condições externas específicas, ser fácil de utilizar, flexível no uso de materiais e processamentos e apresentar liberdade de design de estrutura, permitindo construir *scaffolds* com precisão de composição e arquitetura, geometrias de poros interconectados com uma ampla variedade de tamanhos de poros. Apesar da limitada utilização de materiais possíveis, a blenda PLA/PCL com carga de HA tem condições reológicas, térmicas e mecânicas adequadas para ser impressa com sucesso.

Ademais, entre os muitos testes de bioatividade, pode-se destacar o teste de imersão em SBF. Scaffolds de PCL/PLA com HA impressos por FFF são imergidos em SBF observando a formação da camada de apatita, ou seja, a mineralização na superfície da blenda.

Assim, é possível concluir que, observando as macro e microestruturas do material a ser substituído e relacionando-as com as dos potenciais materiais e suas combinações, é possível desenvolver blendas e compósitos que suprem as necessidades térmicas, biológicas, físicas e reológicas do comportamento necessário de um implante ósseo. Utilizando essas propriedades, é possível prever e adequar seu futuro desempenho de acordo com a técnica de processamento empregada para que, dessa forma, seja obtido um produto viável para a aplicação em questão.

## REFERÊNCIAS

CHEN, X., Chen G., Wang G., Zhu P., Gao C. “Recent Progress on 3D-Printed Polylactic Acid and Its Applications in Bone Repair”. **Advanced Engineering Materials**, v. 22, n.4, 1901065, nov. 2019.

NHS. Osteoporosis. Disponível em: <<https://www.nhs.uk/conditions/osteoporosis/>>. Acesso em 11 de nov. 2021.

SIC Notícias. Campanha alerta para impacto de fraturas de fragilidade óssea. Disponível em: <<https://sicnoticias.pt/saude-e-bem-estar/2021-10-20-Campanha-alerta-para-impacto-de-fraturas-de-fragilidade-ossea-e6a5ce20>>. Acesso em 11 de nov. 2021.

MAXSON S., BURG K. J. L. “Conditioned Media Enhance Osteogenic Differentiation on Poly(L-lactide-co-ε-caprolactone)/Hydroxyapatite Scaffolds and Chondrogenic Differentiation in Alginate”. **Journal of Biomaterials Science**, v. 21, n.11 p. 1441–1458, jun. 2010.

CHRISTEN M. O., VERCESI F. “Polycaprolactone: How a Well-Known and Futuristic Polymer Has Become an Innovative Collagen-Stimulator in Esthetics”. **Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology**, v. 13, p. 31-48, jan. 2020.

KOKUBO T., KIM H., KAWASHITA M. “Novel bioactive materials with different mechanical properties”. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161-2175, jun. 2003.

MIAO, S., NOWICKI, M., CUI, H., LEE, S. J., ZHOU, X., MILLS, D. K., ZHANG, L. G. “4D anisotropic skeletal muscle tissue constructs fabricated by staircase effect strategy”. **Biofabrication**, 11, 3, 035030, jun. 2019.

MADRID, A. P. M., VRECH, S. M., SANCHEZ, M. A., RODRIGUEZ, A. P. “Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds”. **Materials Science & Engineering C**, v. 100, p. 631–644, mar. 2019.

LI, X., WANG, L., FAN, W., FENG, Q., CUI, F., WATARI, F. “Nanostructured Scaffolds for bone tissue engineering”. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 101A, p. 2424–2435, fev. 2013.

ARMENTANO, I., DOTTORI, M., FORTUNATI, E., MATTIOLI, S., KENNY, J. M. “Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review”. **Polymer Degradation and Stability**, v. 95, n. 11, p. 2126-2146, nov. 2010.

HUANG, B., BÁRTOLO, P. J. “Rheological characterization of polymer/ceramic blends for 3D printing of bone scaffolds”. **Polymer Testing**, v. 68, p. 365-378, jul. 2018.

KHAJAVI, R., ABBASIPOUR, M., BAHADOR, A. “Electrospun biodegradable nanofibers scaffolds for bone tissue engineering”. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 13, set. 2015.

TAO, O., WU, D. T., PHAM, H. M., PANDEY, N., TRAN, S. D., “Nanomaterials in Craniofacial Tissue Regeneration: A Review”. **Applied Sciences**, v. 9, n. 2: 317, jan. 2019.

GONZÁLEZ-HENRÍQUEZ, C.M., VALLEJOS, M. A. S., HERNANDEZ, J. R. “Polymers for additive manufacturing and 4D-printing: Materials, methodologies, and biomedical applications”. **Progress in Polymer Science**, v. 94, p. 57–116, mar. 2019.

DONG, J., YANG, Y., WANG, L., JIANG, C. “Fabrication of three-dimensional mPEG-PCL-mPEG scaffolds combined with cell-laden gelatin methacrylate (GelMA) hydrogels using thermal extrusion coupled with photo curable technique”. **Microsystem Technologies**, v. 25, p. 3339–3355, out. 2018.

YEO, M., KIM, G. “Nano/microscale topography designed alginate/PCL scaffolds for inducing myoblast alignment and myogenic differentiation”. **Carbohydrate Polymers**, 223, 115041, nov 2019

FILHO, H. N., JÚNIOR, L. C., NAGEM, H. D., FRANCISCONI, P. A. S. “Engenharia tecidual dos biomateriais”. **Innovations Implant Journal**. Biomaterials and Esthetics. p. 55-62, nov. 2006.

CENGIZ, I. F., PEREIRA, H., MENDES, J. E., KWON, I. K., REIS, R. L., OLIVEIRA, J. M. “Suturable regenerated silk fibroin scaffold reinforced with 3D-printed polycaprolactone mesh: biomechanical performance and subcutaneous implantation”. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 30, n. 6, p. 30-63, mai. 2019.

BLUM, C., SCHLEGELMILCH, K., SCHILLING, T., SHRIDHAR, A., RUDERT JACOB, F., DALTONN, P. D., BLUNK, T., FLYNN, L. E., GROLL, J. “Extracellular Matrix-Modified Fiber Scaffolds as a Proadipogenic Mesenchymal Stromal Cell Delivery Platform”. **ACS Biomaterials Science Engineering**, v. 5, n. 12, p. 6655–6666, out. 2019.

ALIZADEH-OSGOUEI M., LI, Y., WEN, C. “A comprehensive review of biodegradable synthetic polymer-ceramic composites and their manufacture for biomedical applications”. **Bioactive Materials**, v. 4, p. 22–36, 2019.

BLAKER, J. J., GOUGH, J. E., MAQUET, V., NOTINGHER, L., BOCCACINI, A. R. “In vitro evaluation of novel bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide

foams for bone tissue engineering scaffolds”. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 67A, n. 4, p. 1401-1411, 2003.

RAKOVSKY, A., GUTMANAS, E. Y., GOTMAN, I. “Ca-deficient hydroxyapatite/polylactide nanocomposites with chemically modified interfaces by high pressure consolidation at room temperature”. **Journal of Materials Science**, v. 45, p. 6339–6344, 2010.

LIU, D., NIE W., LI, D., WANG, W., ZHENG, L., ZHANG, J., ZHANG, J., PENG, C., MO, X., HE, C. “3D printed PCL/SrHA scaffold for enhanced bone regeneration”. **Chemical Engineering Journal**, v. 362, p. 269–279, 2019.

PIERANTOZZI, D., SCALZONE, A., JINDAL, S., STIPNIECE, L., SALMA-ANCĂNE, K., DALGARNO, K., GENTILE, P., MANCUSO, E. “3D printed Sr-containing composite scaffolds: Effect of structural design and material formulation towards new strategies for bone tissue engineering”. **Composites Science and Technology**, v. 191, 108069, 2020.

BACKES, H. E. “ Desenvolvimento de scaffolds bioinspirados de PLA/biovidros via impressão 3D”. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2017.

KABIRIAN, F., MILAN, P. B., ZAMANIAN, A., HEYING, R., MOZAFARI, M. “Nitric oxide-releasing vascular grafts: A therapeutic strategy to promote angiogenic activity and endothelium regeneration”. **Acta Biomaterialia**, v. 92, p. 82–91, 2019.

PARK, Y. J., CHA, J. H., BANG, S. I., KIM, S. Y. “Clinical Application of Three-Dimensionally Printed Biomaterial Polycaprolactone (PCL) in Augmentation Rhinoplasty”. **Aesth Plast Surg**, v.43, p. 437–446, 2019

CARAMELLA, C., CONTI, B., MODENA, T., FERRARI, F., BONFERONI, M. C., GENTA, I., ROSSI, S., TORRE, M. L., SANDRI, G., SORRENTI, M., CATENACCI, L., DORATI, R., TRIPODO, G. “Controlled delivery systems for tissue repair and regeneration”. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 32, p. 206-228, 2016

YUAN, S., SHEN, F., CHUA, C. K., ZHOU, K. “Polymeric composites for powder-based additive manufacturing: Materials and applications”. **Progress in Polymer Science**, v. 91, p. 141–168, 2019.

COR KONING, M. “Strategies for compatibilization of Polymer Blends. **Progress in polymer science**, v. 23, n. 4, p 707-757, 1998.

KIM, J., PARK, S. A., KIM, J., LEE, J. “Fabrication and Characterization of Bioresorbable Drug-coated Porous Scaffolds for Vascular Tissue Engineering”. **Materials**, v. 12, n. 1438, 2019.

HUANG, H. DEAN, D. “3-D printed porous cellulose acetate tissue scaffolds for additive manufacturing”. **Additive Manufacturing**, v. 31, n. 100927, 2020.

VISSCHER, D. O., GLEADALL, A., BUSKERMOLEN, J. K., BURLA, F., SEGAL, J., KOENDERINK, G. H., HELDER, M. N., ZUIJLEN, P. P. M. “Design and fabrication of a hybrid alginate hydrogel/poly( $\epsilon$ -caprolactone) mold for auricular cartilage reconstruction”. **Journal Of Biomedical Materials Research**, v. 107B, n. 5, p. 1711–1721, 2019.

LEI, D., LUO, B., GUO, Y., WANG, D., YANG, H., WANG, S., XUAN, H., SHEN, A., ZHANG, Y., LIU, Z., HE, C., QING, F., XU, Y., ZHOU, G., YOU, Z. “4-Axis printing microfibrillar tubular scaffold and tracheal cartilage application”. **Science China Materials**, v. 62, n. 12, p. 1910–1920, 2019.

YONG, L. C., MALEK, N. F. A., YONG, E. N. S., YAP, W. H., NOBUYUKI, M., YOSHITAKA, N. “Fabrication of hydroxyapatite blended cyclic type polylactic acid and poly ( $\epsilon$ -caprolactone) tissue engineering scaffold”. **International Journal of Applied Ceramic Technology**, v. 16, n. 455–461, 2019.

CORCIONE, C. E., GERVASO, F., SCALERA, F., MONTAGNA, F., SANNINO, A., MAFFEZZOLI, A. “The feasibility of printing polylactic acid-nanohydroxyapatite composites using a low-cost fused deposition modeling 3D printer”. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 134, n. 13, 2017.

BABILOTTE, J., GUDURIC, V., LE NIHOUE, D., NAVEAU, A., FRICAIN J-C, CATROS, S. “3D printed polymer–mineral composite biomaterials for bone tissue engineering: Fabrication and characterization”. **Journal of Biomedical Material Research Part B**, v. 107, p. 2579–2595, 2019.

TSURUMI, T., FUSE, M. “Enhancement of Apatite Precipitation on an Alkaline Hydrolyzed Poly(Lactic acid- $\epsilon$ -Caprolactone) Film in Simulated Body”. **Journal of Hard Tissue Biology**, v. 23, n. 1, p. 15-20, 2014.

PEPONI, L., SESSINI, V., ARRIETA, M. P., BAENA, I. N., SONSECA, A., DOMINICI, F., GIMENEZ, E., TORRE, L., TERCJAK, A., LÓPEZ, D., KENNY, J. M. “Thermally-activated shape memory effect on biodegradable nanocomposites based on PLA/PCL blend reinforced with hydroxyapatite”. **Polymer Degradation and Stability**, v. 151, p. 36–51, 2018.

PITJAMIT, S., NAKKIEW, W., THONGKORN, K., THANAKULWATTANA, W., THUNSIRI, K. "Finite Element Analysis of Traditional and New Fixation Techniques of the 3D-Printed Composite Interlocking Nail in Canine Femoral Shaft Fractures". **Applied Sciences**, v. 10, n. 3424, 2020.

HUTMACHER, D. W. "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage". **Biomaterials**, v. 21, p. 2529-2543, 2000.

SCHIPANI, R., NOLAN, D. R., LALLY, C. & KELLY, D. J. "Integrating finite element modelling and 3D printing to engineer biomimetic polymeric scaffolds for tissue engineering". **Connective Tissue Research**, v. 61, n. 2, p. 174-189, 2019.

AMINI, M, REISINGER, A, PAHR, D. H. "Influence of processing parameters on mechanical properties of a 3D-printed trabecular bone microstructure". **Journal of Biomedical Materials Research Part B**, v.108, n. 1, p. 38-47, 2020.

RABIONET, M., POLONIO, E., GUERRA, A. J., MARTIN, J., PUIG, T., CIURANA, J. "Design of a Scaffold Parameter Selection System with Additive Manufacturing for a Biomedical Cell Culture". **Materials**, v. 11, n. 1427, 2018.

CORCIONE, C. E., SCALERA, F., GERVASO, F., MONTAGNA, F., SANNINO, A., MAFFEZZOLI, A. "One-step solvent-free process for the fabrication of high loaded PLA/HA composite filament for 3D printing". **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 134, p.575-582, 2018.

SOUFIVAND, A. A., ABOLFATHI, N., HASHEMI, A., LEE, S. J. "The effect of 3D printing on the morphological and mechanical properties of polycaprolactone filament and scaffold". **Polymers Advanced Technologies**, p. 31:1038–1046, 2020.

JENSEN, J., ROLFING, J. H. D., LE, D. Q. S., KRISTIANSEN, A. A., NYGAARD, J. V., HOKLAND, L. B., BENDTSEN, M., KASSEM, M., LYS DAHL, H., BUNGER, C. E. "Surface-modified functionalized polycaprolactone scaffolds for bone repair: In vitro and in vivo experiments". **Journal of Biomedical Materials Research**, v.102A, p. 2993-3003, 2014.

GIMENES, D. **Avaliação do comportamento térmico, morfológico e mecânico de blendas biodegradáveis PLA/PCL compatibilizadas por copolímero em bloco de baixa massa molar**. Tese (mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais). Faculdade de Ciências e Engenharia de Materiais e Área de Concentração em Desenvolvimento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2017.

DOOLEY, M., PRASOPHUM, A., LIAO, Z., SINJAB, F., MCLAREN, J., ROSE, F. R. A. J., YANG, J., NOTINGHER, I. "Spatially-offset Raman spectroscopy for monitoring

mineralization of bone tissue engineering scaffolds: feasibility study based on phantom samples”. **Biomedical Optics Express**, v. 10, n. 4, 2019.

SHALUMON, K. T., ANJANA, J., MONY, U., JAYAKUMAR, R., CHEN J. P. “Process study, development and degradation behavior of different size scale electrospun poly(caprolactone) and poly(lactic acid) fibers”. **Journal of Polymer Research**, v. 25, n. 82, 2018.

MORONI, L., WIJN, J. R., BLITTERSWIJK. C. A., “3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering: Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties”. **Biomaterials**, v. 27, n. 7, p. 974-985, 2006.

LOUGHBOROUGH UNIVERSITY. About Additive Material. Disponível em: <<https://www.lboro.ac.uk/research/amrg/about/the7categoriesofadditivemanufacturing/materialextrusion/>>. Acesso em 13 de out. 2021.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. PubChem. “Hydroxyapatite”. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxyapatite>>. Acesso em 13 de out. 2021

MAGALHÃES, L. “Tecido Ósseo”. Toda Matéria. Disponível em: <<https://www.todamateria.com.br/tecido-osseo/>>. Acesso em 21 de nov. 2021.

SILVA, A. “Avaliação da diferenciação osteogênica de células-tronco do tecido adiposo humano cultivadas em espuma de vidro bioativo e biorreator de perfusão para engenharia de tecido ósseo”. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica), Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

WATAI, J. “Degradação Hidrolítica Do Poli (Ácido Láctico) (PLA) E De Compostos De PLA/Nano-Hidroxiapatita”. Tese (Mestrado em Engenharia Mecânica com Ênfase em Materiais e Processos), Centro Universitário FEI, 2015.

GONÇALVES, N. “Nanofibras De Poli(ε-Caprolactona) E Poli(Óxido De Etileno): Fabricação Pela Técnica De Eletrofição E Efeitos Radiolíticos”. Tese (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares), Universidade Federal de Pernambuco, 2015

SANCHEZ, L. “Avaliações E Correlações Das Propriedades Reológicas, Mecânicas E De Cinética De Cristalização De Polímeros Utilizados Em Processo De Impressão 3d Por FFF”. Tese (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de São Carlos, 2018.

SOBRAL J. “Three-dimensional plotted scaffolds with controlled pore size gradients: Effect of scaffold geometry on mechanical performance and cell seeding efficiency”. **Acta biomaterialia**, v. 7, n. 3, p. 1009-18, 2011.



SANTOS, H. "Medula Óssea". Biologia Net. Disponível em:  
<<https://www.biologianet.com/anatomia-fisiologia-animal/medula-ossea.htm>>.  
Acesso em 20 de nov. 2021.

POLYSCIENCES. Polycaprolactone, MW 50000, powder. Disponível em:  
<<https://www.polysciences.com/german/polycaprolactone-powdered-40895>>.  
Acesso em 20 de nov. 2021.

WIKIPEDIA. Polylactic Acid. Disponível em:  
<[https://en.wikipedia.org/wiki/Polylactic\\_acid](https://en.wikipedia.org/wiki/Polylactic_acid)>. Acesso em 20 de nov. 2021.

## **GLOSSÁRIO**

Fosfatase Alcalina - Enzima encontrada em diversos tecidos do corpo, principalmente no fígado e nos ossos. No caso dos ossos, são os osteoblastos que a produzem.

Células Osteoprogenitoras - célula de repouso ou de reserva, que pode ser estimulada para se transformar em osteoblasto e produzir matriz óssea.

Condroblastos - células que fazem parte do tecido conjuntivo cartilaginoso.

Ósseoindução - processo de diferenciação de células osteoprogenitoras em condroblastos e osteoblastos, resultando na regeneração do tecido danificado.

Osteoblastos - células envolvidas na formação de tecido ósseo novo, que refazem continuamente a estrutura dos ossos.

Osteocondutividade - capacidade do osso de formar células em locais danificados através de scaffolds a fim de, lentamente, substituí-los com um novo osso ao longo do tempo.

Osteogênese - processo de deposição de novo material ósseo por osteoblastos.

Osteólise - reabsorção ativa da matriz óssea, com consequente redução da massa óssea.

Scaffolds - estrutura tridimensional com função de suporte.