

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

Samuell Aquino Holanda

**TÉCNICA DE REVESTIMENTO DE STENTS METÁLICOS COM BIOPOLÍMERO:
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA**

Campina Grande – PB
2017

Samuell Aquino Holanda

**TÉCNICA DE REVESTIMENTO DE STENTS METÁLICOS COM BIOPOLÍMERO:
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

Orientador: Marcus Vinicius Lia Fook

Agência Financiadora: CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Campina Grande – PB
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

H722t Holanda, Samuell Aquino.
Técnica de revestimento de stents metálicos com biopolímero : desenvolvimento de metodologia / Samuell Aquino Holanda. – Campina Grande, 2017.
112 f. : il. color.

Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2017.
"Orientação: Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook".
Referências.

1. Stents. 2. Quitosana. 3. Revestimento. I. Fook, Marcus Vinícius Lia. II. Título.

CDU 677.473(043)

VITAE DO CANDIDATO

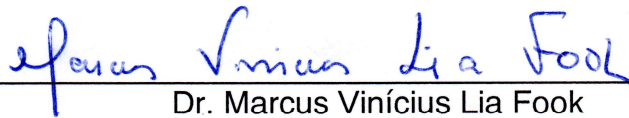
- Engenheiro de Produção Mecânica pela Universidade Regional do Cariri (URCA - CE) – 2009.
- Mestre em Engenharia Mecânica pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – 2013.

Samuell Aquino Holanda

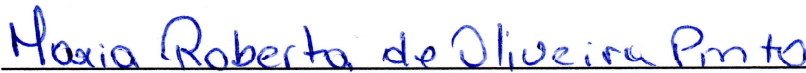
**TÉCNICA DE REVESTIMENTO DE STENTS METÁLICOS COM BIOPOLÍMERO:
DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de **Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais**.

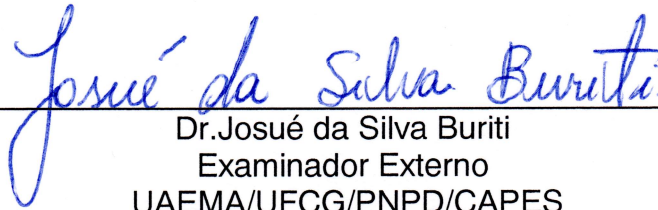
Aprovado em: 31/08/2017



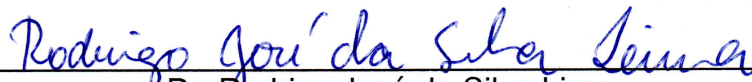
Dr. Marcus Vinícius Lia Fook
Orientador
PPG-CEMat/UFCG



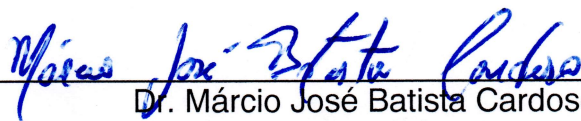
Dr.ª Maria Roberta de Oliveira Pinto
Examinadora Externa
CCT/UEPB



Dr. Josué da Silva Buriti
Examinador Externo
UAEMA/UFCG/PNPD/CAPES



Dr. Rodrigo José da Silva Lima
Examinador Externo
UFCG



Dr. Márcio José Batista Cardoso
Examinador Externo
UFCG

Dedico este trabalho à minha família e a todos os mestrandos e doutorandos.

AGRADECIMENTOS

Gratidão. É o ato de reconhecimento de uma pessoa por alguém que lhe prestou uma ajuda, um favor, um apoio, um benefício, um conselho, uma solução, uma dúvida maior ainda, uma benção...

Agradecer foi um exercício diário na construção desse trabalho, dentro e fora da universidade. Todos com quem convivi durante esse período absorveram um pouco dessa experiência e de uma maneira ou de outra me incentivaram e me ajudaram a concluir esse desafio e merecem minha eterna gratidão.

À Deus.

À minha família (Painho, Mainha, Bruno, Samara, Luiz, Bia e Agnes), pelo apoio, confiança, incentivo e amor incondicional. Se concluo essa etapa, foi porque vocês me mostraram o caminho e nunca me abandonaram em nenhum dos meus passos. Fica fácil sonhar e ousar com vocês do meu lado.

Ao Professor Marcus Vinicius Lia Fook. Esse momento não seria uma realidade sem a sua boa vontade, paciência e fé. Obrigado por me acolher e sempre me desafiar. Nos momentos mais complicados o senhor sempre apareceu com uma alternativa e mostrando que a solução mais eficaz era o trabalho.

Ao Professor Antônio Almeida, pelas primeiras orientações e pelo discernimento.

Ao Professor Romualdo, pelo cuidado e responsabilidade. Acho que o senhor não sabe o quando me ajudou e me acalmou durante essa trajetória.

Aos meus colegas de laboratório. Valéria, Flávia, Mayelli, Hugo, Kleylton, Matheus, Evelle, Ana Paula, Glória, Thiago, Rita, William, Vítor, Glauber, Bianca, Rayane, Raid, Klaidson, Otto, Seu Sérgio, Antônio, Socorro, Paulinha, Dona Val, Suyana, Toninho, Isabel, Imarally, Willams, Gislaine, Filipe, Michelle, Katylaine, Wladymyr, Rossemberg, Alecsandra, Pedro Tardelly, Rodolfo, Pedro, Dailma, Tânia, Franci, Daniel, Italo... Vocês estiveram comigo mais tempo do que minha própria família. Estamos acostumados a dividir momentos importantes juntos e quero dividir mais esse com vocês.

À Livia. Espero que nossa convivência tenha te marcado um pouquinho, da mesma forma que me marcou. Obrigado pelo cuidado.

À Day. Obrigado pelas caronas, pelos almoços, bolos, pães, chocolates, docinhos, enfim por todas as guloseimas. Mas acima de tudo obrigado pelo carinho. Agradeço sempre por Deus ter te colocado na minha vida.

À Milena. Por constantemente me incentivar, direta e indiretamente, a sempre buscar o meu melhor. Obrigado pelo exemplo de pessoa e de profissional; pelos desabaços, pelos aperseios e pela amizade que não termina aqui.

Aos meus amigos. Valdeiza, Balbina, George, Robson, Adi, Fábio, Tarsis, Wiarley, Diego, Rafael, Alan, Janaína, Pedro Ivo, Tonioni, Miterran, Nádia, Pedro, Ibertson, Mariana, Ramon. Não estive tão presente com alguns de vocês durante esse tempo, mas vocês são parte do que sou e nunca deixarão de ser.

Aos membros da banca examinadora. Professora Doutora Maria Roberta de Oliveira Pintos, Doutor Rodrigo José da Lima Silva, Doutor Josué da Silva Buriti, Doutor Márcio José Batista Cardoso. A contribuição de cada um de vocês foi decisiva para a construção desse trabalho. Cada palavra, cada orientação, cada sugestão foi ouvida e meu muito obrigado.

À CAPES, pelo apoio financeiro e fomento da bolsa de pesquisa.

RESUMO

Stents são endopróteses tubulares e expansíveis que podem ser revestidos com matrizes poliméricas biodegradáveis, com a finalidade de criar um revestimento que pode atuar de maneira passiva, servindo como uma barreira entre a superfície metálica e o tecido biológico; ou ativa, interferindo diretamente nos processos biológicos de recuperação após o implante. Assim, a quitosana, como um biopolímero biocompatível e biodegradável, se apresenta como um biomaterial promissor para esse tipo aplicação. Neste trabalho, realizou-se uma pesquisa com a finalidade de desenvolver uma técnica de revestimento de stents a partir da quitosana. Para isso, amostras comerciais de stents foram submetidas a quatro técnicas de revestimentos *dip coating*, *dip coating* com rotação, *spray coating* e *layer-by-layer*, avaliando o comportamento de diferentes concentrações de quitosana (0,1; 0,5 e 1% m/v), além da associação de alginato de sódio na aplicação do *layer-by-layer*. Foi realizado um ensaio de reologia nas soluções poliméricas para avaliar e quantificar as diferenças de viscosidade entre as soluções utilizadas, com isso as soluções que apresentaram viscosidades muito acima da média encontrada foram descartadas. A partir das micrografias feitas por de Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura foi possível verificar que as técnicas de *dip coating* e *layer-by-layer* permitiram a deposição de revestimento polimérico sobre a superfície dos stents. Ensaio de grau de intumescimento e resistência a compressão também foram realizados e corroboraram a viabilidade das técnicas de revestimento adotadas. Dessa forma, foi possível concluir que a melhor condição de revestimento foi obtida a partir da solução de quitosana 0,5% de quitosana e da técnica de *dip coating*. As micrografias de Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica Varredura para essa condição de teste evidenciaram a presença de revestimento homogêneo e uniforme sobre a superfície dos stents.

Palavras-Chave: Stents Metálicos. Quitosana. Alginato de Sódio. Técnicas de Revestimento.

ABSTRACT

Stents are tubular and expandable endoprotheses that can be coated with biodegradable polymeric matrices in order to create a coating that can act passively, serving as a barrier between the metal surface and the biological tissue; or actively, directly interfering in the biological processes of recovery after implantation. Thus, chitosan, as a biocompatible and biodegradable biopolymer, presents itself as a promising biomaterial for this type of application. In this work, a research was carried out to develop a technique for coating stents from chitosan. For this, commercial stent samples were submitted to four coating techniques: dip coating, spin coating, spray coating and layer-by-layer, evaluating the behavior of different chitosan concentrations (0.1, 0.5 and 1% m/v), besides the association of sodium alginate in the layer-by-layer application. A rheology test was carried out in the polymeric solutions to evaluate and quantify the differences in viscosity between the used solutions, so that solutions with viscosities much high above the found average, were discarded. From the micrographies of Optical Microscopy and Scanning Electron Microscopy, it was possible to verify that dip coating and layer-by-layer techniques enabled the deposition of polymeric coating on the stents surface. The degree of swelling and compressive strength tests were also performed and corroborated the feasibility of the adopted coating techniques. Thus, it was possible to conclude that the best coating condition was obtained from chitosan solution with 0.5% chitosan and the dip coating technique. The micrographs of Optical Microscopy and Scanning Electron Microscopy for this test condition evidenced the presence of homogeneous and uniform coating on the stents surface.

Keywords: Metallic Stents. Chitosan. Sodium Alginate. Coating Techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Número de óbitos relacionados às doenças vasculares no Brasil	19
Figura 2 - Desenvolvimento da aterosclerose.	20
Figura 3 - Esquema ilustrativo que apresenta uma linha do tempo mostrando a origem, evolução e usos da palavra stent.	24
Figura 4 - Tipos de stents: 1 - Duodenal; 2 - Biliar; 3 - Esofágico; 4 - Neurovascular; 5 - Vias aéreas; 6 - Traqueobronqueal; 7 - Coronário e 8 - Ureteral	25
Figura 5 - Processo de entrega de um stent coronariano expansível por balão	26
Figura 6 - Processo de entrega de uma stent autoexpansível.	26
Figura 7 - Características de superfície que influenciam na resposta biológica do material implantado	31
Figura 8 - Estrutura da (a) quitina, (b) quitosana e (c) quitosana protonada.	41
Figura 9 - Reação de desacetilação da quitina.	42
Figura 10 - Estrutura química do alginato de sódio.	44
Figura 11 - Representação esquemática do processo de <i>dip coating</i> . (1) imersão do substrato na solução de revestimento; (2) início da remoção do substrato da solução; (3) deposição e escoamento do revestimento sobre o substrato (4) evaporação do solvente.	49
Figura 12 - Esquematização do processo estacionário do <i>dip coating</i>	50
Figura 13 - Método LbL. (a) Imersão do substrato em solução de polycation, (b) enxágue, (c) mergulho em solução de poliânion e (d) enxágue. Formação das camadas após as imersões nas soluções polieletrólíticas.	52
Figura 14 - Micrografias em MEV de defeitos encontrados no revestimento de stents comerciais.	55
Figura 15 - Fluxograma ilustrativo das etapas de desenvolvimento da pesquisa.	58
Figura 16 - a) Dispositivo de entrega; b) Processo de liberação do Stent e c) Stent livre.....	59
Figura 17 - Dimensões do stent.	60
Figura 18 - Etapas do revestimento pela técnica <i>dip coating</i>	63
Figura 19 - Representação da montagem para imersão sob rotação.	63
Figura 20 - Técnica de revestimento por <i>spray coating</i>	64
Figura 21 - Tempo de deposição do substrato nas soluções de polímeros e de lavagem em água.	65

Figura 22 - Ilustração do ensaio de compressão em placas paralelas.....	67
Figura 23 - Tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as soluções de quitosana.....	69
Figura 24 - Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as soluções de quitosana.....	70
Figura 25 - Tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as soluções de alginato de sódio.	71
Figura 26 - Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as soluções de alginato de sódio.	72
Figura 27 - Stent comercial limpo em etanol.....	73
Figura 28 - Microscopia ótica antes e depois do ataque ácido. a) antes (350x) b) depois (350x) c) antes (1050x) d) depois (1050x)	74
Figura 29 - Micrografias de microscopia ótica do stent revestido: a) 1% m/v (350x), b) 0,5% m/v (350x), c) 0,1% m/v (350x), d) 1% m/v (50x), e) 0,5% m/v (1050x) e f) 0,1% m/v (700x).	75
Figura 30 - Micrografias de microscopia ótica do stent revestido por imersão com rotação na solução de: a) 0,5% m/v e aumento de 350x, b) 0,5% m/v aumento de 700x e c) 0,5% m/v aumento de 1400x.: d) 0,1% m/v aumento de 350x, e) 0,1% m/v aumento de 700x e e) 0,1% m/v aumento de 1050x.	76
Figura 31 - Stents revestidos por <i>dip coating</i> com solução de quitosana (0,5% m/v) mais solução de curcumina.	79
Figura 32 - Stents revestidos pela técnica de <i>spray coating</i> com solução de quitosana e curcumina.....	80
Figura 33 - Stents revestidos por <i>layer-by-layer</i> a partir de soluções de quitosana (0,5%) e Alginato de Sódio (0,5%); (a) Aumento de 20x e (b) Aumento de 160x	81
Figura 34 - Stents revestidos por <i>layer-by-layer</i> a partir de soluções de quitosana (0,5%) e Alginato de Sódio (0,1%); (a) Aumento de 160x e (b) Aumento de 1400x..	82
Figura 35 - Imagens de MEV do stent revestido por <i>dip coating</i> (a) 140x (a) 550x (c) 360x (d) 500x.	83
Figura 36 - Micrografias de MEV das amostras de stents revestidas por <i>layer-by-layer</i> . (a) e (b) Aumento de 500x (c) e (d) Aumento de 360x.	84
Figura 37 - Grau de intumescimento em função do tempo para os stents revestidos pelas técnicas <i>dip coating</i> e <i>layer-by-layer</i>	85

Figura 38 - Curva de resistência à compressão - carga em função do deslocamento
.....87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais metais e ligas e respectivas aplicações na área biomédica.....	36
Tabela 2 - Composição química do Ti _{CP} (ASTM F67-13)	37
Tabela 3 - Categorias de defeitos de revestimento em stents.....	54
Tabela 4 - Vantagens e desvantagens da Microscopia Ótica (MO) na inspeção de revestimentos.....	56
Tabela 5 - Vantagens e desvantagens da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) na inspeção de revestimentos.....	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Doenças vasculares.....	19
2.2 Stents.....	22
2.3 Stents com revestimentos poliméricos.....	27
2.4 Modificação de superfície de próteses vasculares.....	29
2.5 Biomateriais	33
2.5.1 Biomateriais metálicos	35
2.5.2 Biomateriais poliméricos	38
2.5.3 Biomateriais compósitos	39
2.6 Polímeros naturais aplicados em biomateriais.....	40
2.6.1 Quitosana	40
2.6.2 Alginato de sódio	44
2.7 Melhorias da hemocompatibilidade da quitosana	45
2.8 Técnicas de revestimento	47
2.8.1 <i>Dip coating</i>	48
2.8.2 <i>Layer-by-layer</i>	51
2.9 Qualidade do revestimento de stents.....	54
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
3.1 Local da pesquisa	57
3.2 Materiais e reagentes.....	57
3.3 Métodos	57
3.3.1 Seleção de materiais e de parâmetros iniciais.....	59
3.3.1.1 Seleção do tipo de stent	59
3.3.1.2 Tratamento de superfície dos stents	60
3.3.1.3 Preparação das soluções poliméricas	60
3.3.1.4 Revestimento e caracterização	61
3.3.2 Técnicas de revestimento	62
3.3.2.1 <i>Dip coating</i>	62
3.3.2.2 <i>Dip coating</i> com rotação	63
3.3.2.3 <i>Spray coating</i>	64

3.3.2.4 <i>Layer-by-Layer</i>	64
3.3.3 Técnicas de caracterizações	65
3.3.3.1 Microscopia Ótica	66
3.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	66
3.3.3.3 Ensaio de Compressão	66
3.3.3.4 Grau de Intumescimento	67
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	69
4.1 Comportamento reológico das soluções poliméricas.....	69
4.1.1 Quitosana	69
4.1.2 Alginato de sódio	71
4.2 Microscopia Ótica.....	72
4.2.1 Tratamento de superfície – Etapa 1.....	72
4.2.2 <i>Dip coating</i> – Etapa 1.....	74
4.2.3 <i>Dip coating</i> com rotação – Etapa 1.....	76
4.2.4 <i>Dip coating</i> – Etapa 2.....	78
4.2.5 <i>Spray coating</i> – Etapa 2.....	80
4.2.6 <i>Layer-by-Layer</i> – Etapa 2	81
4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	82
4.4 Grau de Intumescimento	85
4.5 Resistência à Compressão	86
5 CONCLUSÕES	88
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	90
REFERÊNCIAS.....	91

1 INTRODUÇÃO

Stent é o termo pelo qual é comumente conhecido um tipo de endoprótese expansível, de geometria cilíndrica, formada por hastes retráteis que formam uma malha com estrutura multicelular e que funciona como um dispositivo de suporte e desobstrução de estruturas tubulares do corpo humano, como vasos sanguíneos e artérias, esôfago, traqueia, dutos biliares, dentre outros.

O desenvolvimento dos stents como endopróteses com função de corrigir obstruções se deu em 1954, em cirurgias experimentais de reconstrução de dutos biliares, porém foi em 1986 que esse tipo de dispositivo foi utilizado com o propósito de melhorar os resultados clínicos de cirurgias de angioplastia, comumente relacionadas a aterosclerose (Gao *et al.*, 2014)

Por sua vez, a aterosclerose é uma doença imuno-inflamatória crônica na qual ocorre a formação de ateromas dentro dos vasos sanguíneos. Os ateromas são placas compostas especialmente por lipídios e tecido fibroso que vão se acumulando nas paredes dos vasos levando a uma diminuição progressiva do seu diâmetro, que pode chegar a total obstrução (Auer *et al.*, 2015).

Nesse cenário, as doenças vasculares (considerando todo o sistema circulatório) têm sido a principal causa de mortes no Brasil e no mundo durante os últimos anos. O avanço das pesquisas na área de biomateriais tem possibilitado o desenvolvimento de novos modelos de stents que visam otimizar o processo de implante, dar maior segurança aos médicos e aos pacientes, a fim de melhorar a biofuncionalidade das endopróteses e evitar possíveis danos colaterais em função do implante, como um novo estreitamento do vaso. Essa nova obstrução é denominada reestenose (reestenose, onde o termo estenose, se refere ao estreitamento patológico de um conduto, canal ou orifício do corpo).

A reestenose pode acontecer, fundamentalmente, nos primeiros meses após a intervenção, em virtude de uma série de fatores intrínsecos ao paciente, mas também é possível que características próprias do implante influenciem diretamente na sua ocorrência, como por exemplo, o grau da lesão que o implante causa na parede do vaso. Para reduzir estes efeitos, existe a possibilidade de combinar o implante do stent com terapia farmacológica apropriada (Cardona *et al.*, 2012; Gao *et al.*, 2014).

Os stents farmacológicos são uma alternativa para a prevenção de reestenose em virtude de prover simultaneamente a intervenção mecânica, ao comprimir a placa de ateroma, liberando o fluxo; e a intervenção farmacológica, com a ação de fármacos com propriedades antiproliferativas, anti-inflamatórias e antitrombóticas presentes na superfície desses stents, que passam a funcionar como uma plataforma de liberação de fármaco local.

Todavia, o recobrimento do stent com polímero sintético pode causar complicações, como uma severa resposta inflamatória à presença de partículas não degradadas do polímero.

A alternativa encontrada passou a ser a utilização de polímeros bioabsorvíveis para a construção desses revestimentos, porquanto após a liberação do fármaco e a degradação do polímero, permaneceria na parede arterial apenas a plataforma metálica, reduzindo as taxas de trombose e reestenose, ao evitar a reação inflamatória pela presença do polímero durável (Chen *et al.*, 2011; Garg *et al.*, 2013; Puranik *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2014).

Takimura *et al.* (2014) relataram os resultados experimentais da utilização de stents recobertos com polímero bioabsorvível em artérias coronárias porcinas indicando a presença de menor hiperplasia neointimal quando comparados a stents não farmacológicos.

Waha *et al.* (2015) analisaram três estudos randomizados comparando os stents farmacológicos com polímeros biodegradáveis aos stents com polímeros duráveis em pacientes submetidos a Intervenção Coronária Percutânea (ICP). Os stents com polímeros biodegradáveis demonstraram boa evolução clínica com redução da necessidade de nova revascularização, bem como tendências da menor incidência de morte cardíaca e trombose de stent ao longo do acompanhamento.

Desta maneira, existe um grande interesse atual no desenvolvimento e estudo de materiais que possam ser utilizados no revestimento de stents e que proporcionem a liberação do fármaco com o mínimo efeito adverso ao corpo, bem como no desenvolvimento de novas matrizes poliméricas que possam ser usadas para a incorporação desses fármacos.

A quitosana é um polissacarídeo catiônico e um dos polímeros naturais mais utilizados quando se busca desenvolver e/ou aprimorar aplicações nas áreas de engenharia de tecidos, de revestimentos biomiméticos e na liberação de fármaco. Atendendo diferentes necessidades seja para aplicações na pele, osso, enxertos

vasculares, em virtudes de propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, biofuncionalidade e não-toxicidade (Silva *et al.*, 2016; Barbosa *et al.*, 2017; Keller *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2017;).

Diante disto, este trabalho visa estudar o desenvolvimento de uma metodologia de revestimento de stents, a partir da análise exploratória de diferentes técnicas de recobrimento. Bem como, avaliar a qualidade dos revestimentos construídos e determinar a viabilidade das técnicas utilizadas e explorar as potencialidades da quitosana em diferentes concentrações, enquanto biopolímero biodegradável que irá revestir a endoprótese.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Doenças vasculares

As doenças vasculares são uma família de desordens clínicas que incluem as doenças coronárias e vascular periféricas, doenças cerebrovasculares, doença cardíaca congênita e reumática e a trombose venosa profunda. Nos últimos anos, as Doenças Vasculares têm apresentado proporções epidemiológicas.

Nesse sentido, as doenças vasculares têm sido a principal causa de mortes no Brasil e no mundo nos últimos anos. Dados preliminares do Ministério da Saúde mostram que no Brasil, em 2015, 346.865 mil mortes foram atribuídas a doenças vasculares por meio do Código Internacional de Doenças CID-10, categorias I00 – I99, de acordo com o Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) (Brasil, 2017).

Acompanhando a evolução do total de óbitos por doenças vasculares notificados (Figura 1) é nítida e preocupante a tendência de crescimento desses números durante os últimos anos.

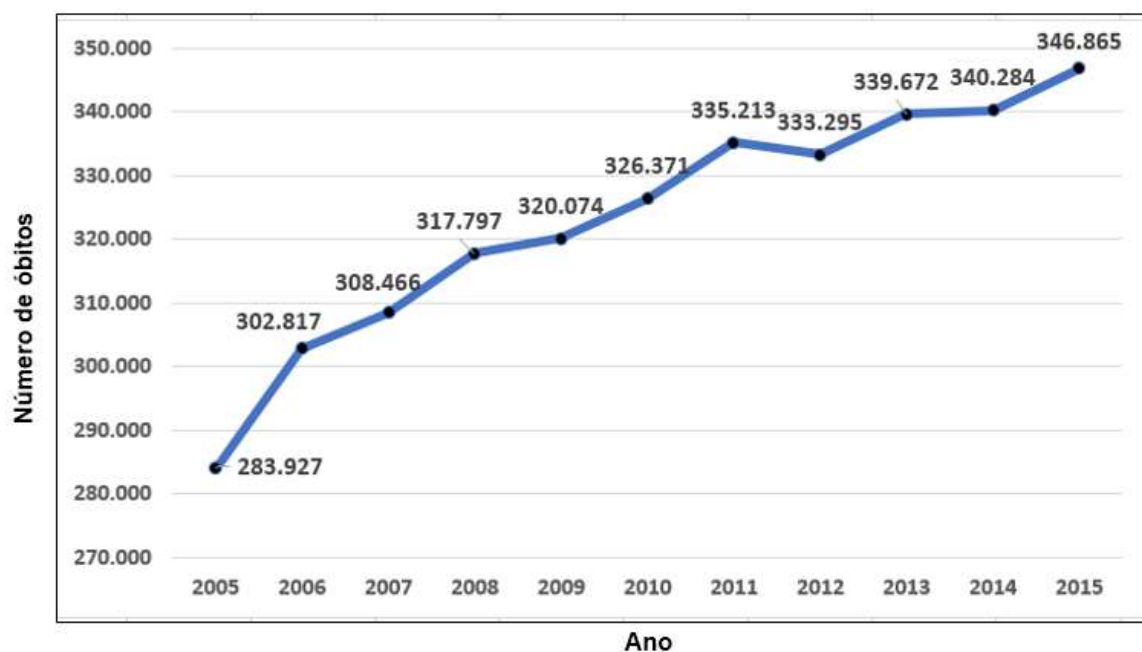


Figura 1 - Número de óbitos relacionados às doenças vasculares no Brasil. Fonte: Ministério da Saúde / Secretaria de Vigilância em Saúde/ Coordenação Geral de Informações e Análises Epidemiológicas / Sistema de Informações sobre Mortalidade – SIM (BRASIL, 2017).

Em 2015, o número de internações chegou a 1.052.317 milhões, o que representou um custo direto (serviços hospitalares e serviços profissionais) de

2.404.118.022,06 bilhões de reais, segundo dados do Sistema de Informações Hospitalares do SUS (Brasil, 2017).

Esses são os dados vinculados apenas aos atendimentos realizados pelo Sistema Único de Saúde – SUS, esses números aumentam se levarmos em consideração que eles não contemplam os atendimentos particulares, como também, se forem considerados os custos indiretos relacionados com as internações, como tempo de afastamento e benefícios pagos pela Previdência.

Dentro do grupo das Doenças Vasculares, 32% dos óbitos são decorrências de Doenças Coronarianas (CID-10 I20-25), logo em seguida aparecem as doenças cerebrovasculares (CID-10 I60-I69) com 29% (Brasil, 2017).

A aterosclerose é a principal causa de óbitos associada às doenças vasculares associada. A Figura 2 ilustra o desenvolvimento da aterosclerose, e o consequente estreitamento do vaso, restringindo o fluxo sanguíneo. A obstrução se dá pelo crescimento da placa aterosclerótica na parede do vaso e em casos mais graves, a ruptura da placa fibrosa irá expor material lipídico trombogênico, levando a formação de trombos.

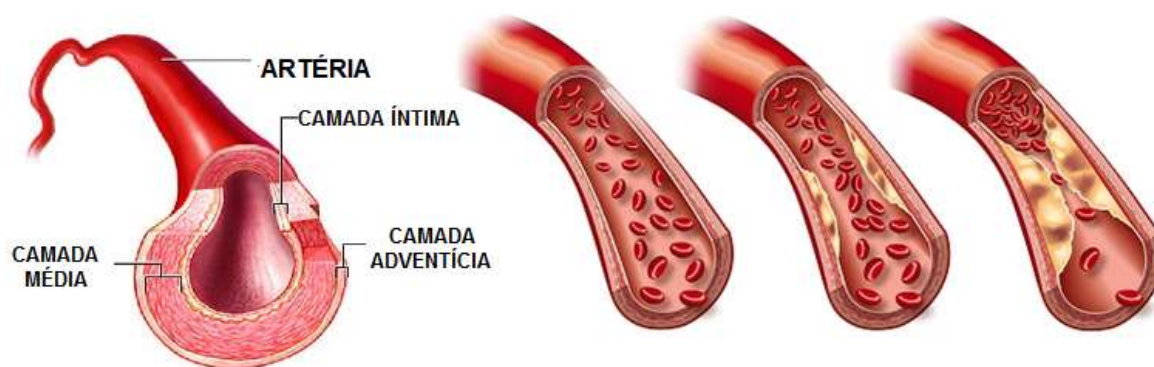


Figura 2 - Desenvolvimento da aterosclerose (Adaptado de Tang *et al.*, 2015).

As paredes arteriais são compostas por três camadas: a íntima (camada mais interna), a média (camada intermediária) e a adventícia (camada mais externa). A espessura relativa de cada uma das camadas e o tipo específico de tecido do qual elas são constituídas, dependem se o vaso é uma artéria elástica, uma artéria muscular, ou uma arteríola (Tegos *et al.*, 2001).

As artérias elásticas recebem sangue diretamente do coração e são formadas principalmente de elastina. As artérias musculares distribuem o sangue para os

diferentes tecidos do corpo e são compostas principalmente por células musculares lisas. Já as arteríolas, são as menores artérias próximas aos leitos capilares, também são constituídas principalmente por células musculares lisas (Humphrey e Baroutaji, 2016).

Aterosclerose é uma doença das artérias, inflamatória-proliferativa, multifatorial, lenta e progressiva, resultado de uma série de respostas celulares e moleculares específicas, caracterizada por processos degenerativos e regenerativos que inicialmente afetam a camada íntima e posteriormente a camada média em grandes artérias (Taleb, 2016; Huxley *et al.*, 2017;).

O termo aterosclerose faz referência aos dois principais componentes da lesão; que são, *athero*, termo grego que significa caldo ou pasta, correspondente a área central necrótica na base da placa aterosclerótica; e *sclerosis* que significa endurecimento, que diz respeito à capa fibrosa na borda luminal da placa. As lesões ateroscleróticas contêm três componentes principais: (1) colesterol; (2) células musculares lisas, macrófagos e outros tipos de células e (3) tecido composto por colágeno, elastina e glicosaminoglicanos (Huxley *et al.*, 2017; Ladeira-Lopes *et al.*, 2015; Tegos *et al.*, 2001).

As lesões ateroscleróticas podem estar presentes durante toda a vida de uma pessoa. O tipo mais precoce de lesão, conhecida como estria gordurosa, é comum em bebês e crianças, é uma lesão puramente inflamatória. O acúmulo de lipídios, de células inflamatórias e de elementos fibrosos que se depositam na parede das artérias, são responsáveis pela formação de placas gordurosas, que eventualmente ocasionam a obstrução das mesmas (Ladeira-Lopes *et al.*, 2015; Cohen, 2013; Tang *et al.*, 2015).

Pressupõe-se que a aterosclerose é uma doença progressiva caracterizada pelo acúmulo de lipídios, elementos fibrosos e inflamatórios, como resposta à injúria endotelial vascular, tal situação pode ser consequência da interação de vários fatores, incluindo anormalidades metabólicas e nutricionais, tais como dietas hiperlipidêmicas, forças mecânicas associadas como a hipertensão arterial, toxinas exógenas como aquelas encontradas no tabaco, proteínas anormalmente glicosiladas associadas com os diabetes, lipídios ou lipoproteínas oxidadas e, possivelmente, infecções virais e bacterianas (Gottlieb *et al.*, 2005; Nussinovitch e Shoenfeld 2013; Dratva *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2015; Crea *et al.*, 2015).

Estudos epidemiológicos vêm constatando diversos fatores de risco genéticos e ambientais importantes associados à aterosclerose. Entretanto, a complexidade de patologias com etiologia ainda pouco entendida ou que envolvam interações de mecanismos celulares e moleculares tem dificultado a compreensão a respeito das causas do desenvolvimento da placa (Taleb, 2016).

Atualmente, é entendido que a aterosclerose não é consequência direta e irremediável do envelhecimento, mas uma condição inflamatória que pode ser convertida em um evento clínico agudo ocasionado pela ruptura da placa e formação de trombos (Ladeira-Lopes *et al.*, 2015; O'flaherty *et al.*, 2015).

No Brasil e no mundo, as doenças vasculares com origem aterosclerótica em suas diversas manifestações crônicas ou agudas têm se tornado a causa mais comum de mortes. É neste cenário, que a angioplastia combinada à terapêutica farmacológica é a modalidade terapêutica mais utilizada para o tratamento dessas doenças, bem como está associada à melhora da qualidade de vida, especialmente em pacientes de maior risco.

2.2 Stents

Para Pant *et al.* (2012), Stents são redes tubulares metálicas, em forma de malha, que quando implantados exercem uma pressão mecânica na parede do vaso sanguíneo que mantêm o lúmen arterial aberto auxiliando a liberação do fluxo em vasos sanguíneos obstruídos.

A origem do termo não é bem definida, mas a linha do tempo mais aceita diz que a etimologia do termo stent remete ao dentista inglês Charles Thomas Stent (1807-1885) que criou um material maleável com a finalidade de posicionar corretamente enxertos de pele dentro da cavidade bucal, que recebeu o nome de Stent, em sua homenagem.

A introdução desse composto odontológico na área médica é atribuída ao cirurgião plástico Johannes Fredericus Esser (1877-1946) que usou o composto Stent no tratamento cirúrgico de ferimentos e cavidades na pele do rosto, durante a primeira guerra mundial. Porém, a primeira vez que a palavra stent foi utilizada para descrever um dispositivo de sustentação, sem relação com a cirurgia plástica, foi em 1954, em um artigo do professor de cirurgia William H. Remmie, sobre a reconstrução do duto biliar em cirurgias experimentais (Trindade, 2003; Roguin, 2011).

A Figura 3 apresenta um esquema ilustrativo com uma linha do tempo que acompanha as aparições do termo Stent em diversas áreas da medicina, paralelamente ao desenvolvimento das cirurgias cardíacas intervencionistas.

A eficácia comprovada do uso de endopróteses vasculares metálicas como instrumento redutor de complicações agudas e tardias, tem motivado o uso predominante destes dispositivos na grande maioria dos procedimentos coronários percutâneos.

O termo endoprótese é usado para se referir às próteses que são implantadas dentro do corpo, enquanto que o termo prótese abrange todos os tipos de próteses, tanto aquelas que implantadas no interior do corpo, quanto aquelas que são implantadas externamente. Toda endoprótese é uma prótese, mas nem toda prótese é uma endoprótese. A escolha de qual termo usar vai variar e na maioria dos casos já existe um termo consolidado, como no caso de próteses mamárias, próteses de quadril e endopróteses vasculares (Fukumothi *et al.*, 2016).

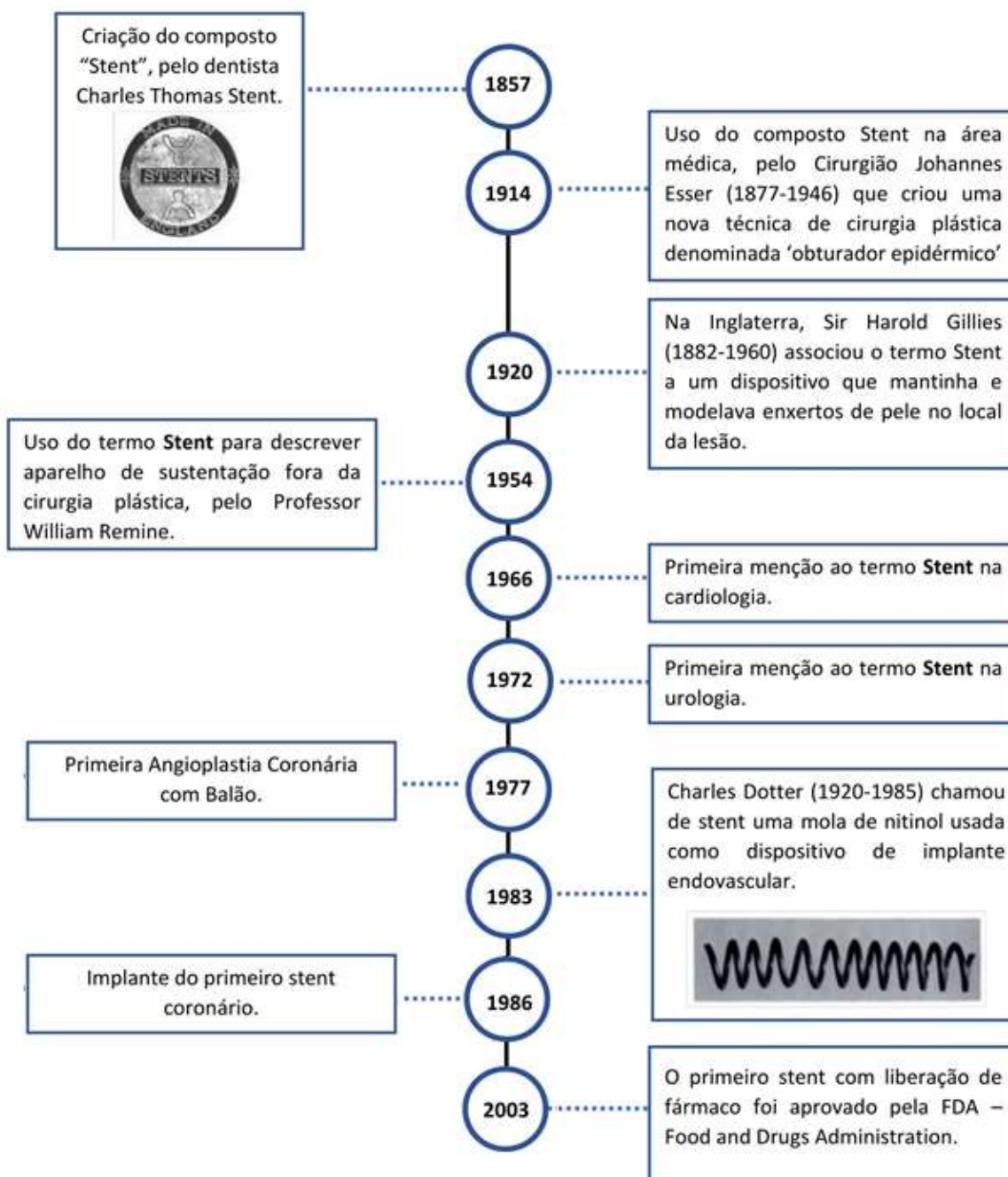


Figura 3 - Esquema ilustrativo que apresenta uma linha do tempo mostrando a origem, evolução e usos da palavra Stent.

Os stents vasculares são endopróteses implantadas dentro de vasos sanguíneos e por sua vez podem ser segmentados em stents coronários e stents periféricos; os stents periféricos são aqueles utilizados em vasos de maior calibre, como as artérias ilíacas e femoral. Já os stents não-vasculares são implantados em outras estruturas tubulares do corpo humano que abrangem o sistema respiratório e urinário e o conjunto gastrointestinal (Kolandaivelu e Rikhtegar, 2016).

A Figura 4 apresenta alguns tipos de stents e seus locais de implante no corpo.

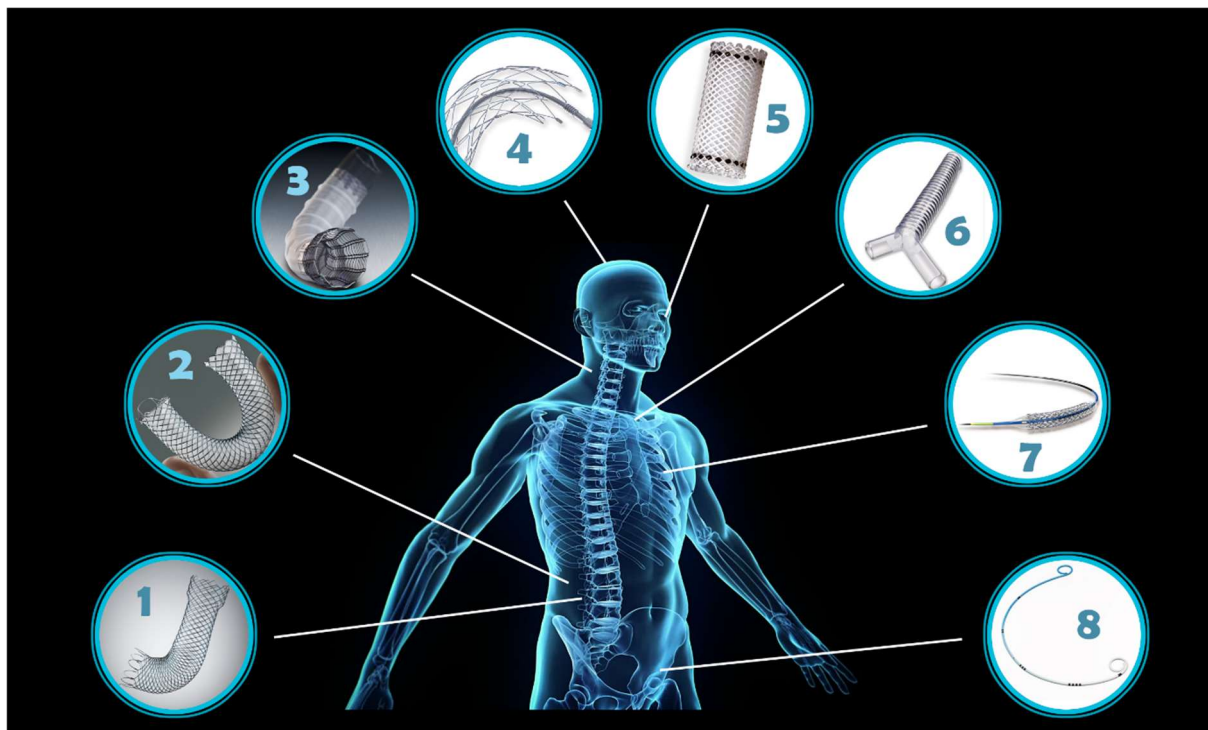


Figura 4 - Tipos de Stents: 1 - Duodenal; 2 - Biliar; 3 - Esofágico; 4 - Neurovascular; 5 - Vias aéreas; 6 - Traqueobronqueal; 7 - Coronário e 8 - Ureteral.

Duas categorias de stents podem ser distinguidas dependendo da necessidade de expansão do vaso danificado. A primeira delas é o stent expansível por balão, geralmente fabricado a partir de ligas de aço austenítico ou ligas de cromo-cobalto. O outro grupo é chamado de stents autoexpansíveis, comumente usados em para implantes em vasos periféricos.

Os expansíveis por balão (Figura 5) já são fabricados comprimidos sobre o cateter balão e se expandem até o diâmetro do vaso por insuflação do balão de angioplastia, através da deformação plástica do stent. Os stents autoexpansíveis (Figura 6) são produzidos no diâmetro do vaso sanguíneo e em seguida são comprimidos e permanecem nesse estado até que sejam liberados no momento da cirurgia, quando as forças que o mantinham comprimido são retiradas. Portanto, stents expansíveis por balão resistem ao processo de expansão, enquanto que os stents autoexpansíveis tendem a si expandir (Duerig e Wholey, 2002).

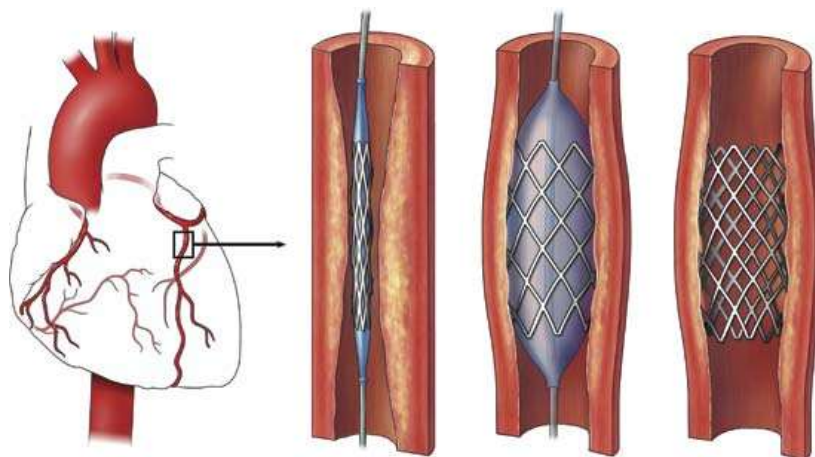


Figura 5 - Processo de entrega de um stent coronariano expansível por balão (Britanica Online, 2016).

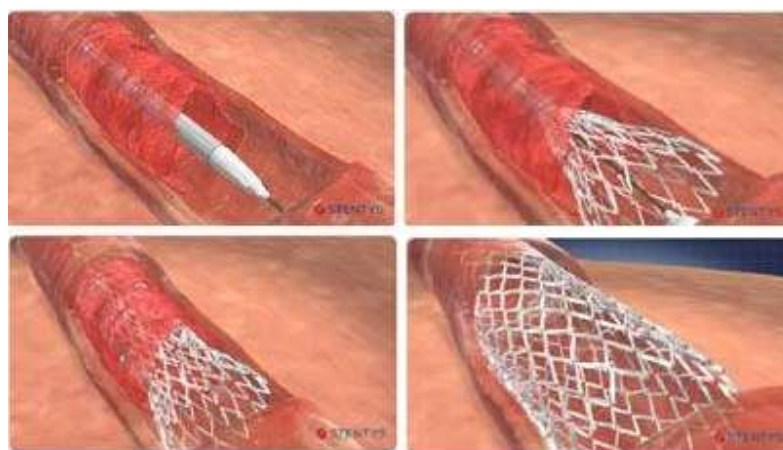


Figura 6 - Processo de entrega de uma stent autoexpansível (Duerig e Wholey, 2002).

Para stents expandidos por cateter balão o material ideal deve ter baixa tensão de escoamento (de forma a permitir a deformação ao nível de pressão exercido pelo balão), módulo de elasticidade alto e exibir aumento na dureza durante o processo de deformação plástica. Esse tipo de stent é produzido em pequenos diâmetros, já que são mais utilizados em vasos de baixo calibre, como a artéria coronariana (McGrath *et al.*, 2014; Roopmani *et al.*, 2015).

Em contrapartida, o princípio de funcionamento dos stents autoexpansíveis se baseia nas propriedades elástica do material utilizado. Preferencialmente, esse material deve ter módulo de elasticidade baixo e suportar altas tensões dentro da zona de deformação elástica. As ligas com memória de forma aparecem como principal material a ser utilizado, uma vez suportam grandes deformações sem deformação plástica, em virtude da propriedade de superelasticidade (Roopmani *et al.*, 2015).

O material mais utilizado na fabricação de stents expandidos por cateter balão é o aço inoxidável 316L, uma vez que essa liga metálica apresenta resistência a corrosão. Quando recozido esse tipo de aço é facilmente deformável, atendendo às necessidades desse tipo específico de stent. Por outro lado, quando o aço se encontra bastante encruado (*full hard*) ele apresenta um baixo módulo de elasticidade, mas que ainda pode ser aproveitado em certos tipos de stents autoexpansíveis. Como materiais alternativos no projeto de stents expandidos por balão, destacam-se as ligas de Cromo-Cobalto tântalo, ligas de nióbio e ligas de platina (McGrath *et al.*, 2014).

Para a construção de stents autoexpansíveis é recorrente a utilização das ligas com efeito memória de forma, por apresentarem altas taxas de deformação elástica. Ligas de Níquel-Titânio se destacam nesse cenário por serem capazes de recuperar deformações de até 10%, resultado de uma transformação martensítica termoelástica característica desses materiais.

É notável a predominância dos materiais metálicos na fabricação de stents, contudo, eles vinham apresentando altas taxas de reestenose, que é um quadro clínico caracterizado pela obstrução de 50% ou mais do diâmetro do vaso causado pela excessiva proliferação celular no segmento onde foi colocado o stent. Proliferação associada ao processo de cicatrização do endotélio do vaso, que foi lesionado pela ação mecânica do stent (Khan *et al.*, 2012).

Esse fato motivou os pesquisadores em acharem novas formas de fabricá-los, assim surgiram os DES (*Drug Eluting Stents*), ou stents com liberação de fármaco para minimizar problemas colaterais. Eles consistem normalmente em três componentes: a plataforma do stent, o revestimento do stent e o agente terapêutico.

A introdução dos stents farmacológicos aconteceu em 2002 e revolucionou a prática da intervenção coronária percutânea reduzindo de forma considerável as taxas de reestenose se comparados com os BMS (Garg *et al.*, 2013).

2.3 Stents com revestimentos poliméricos

A primeira geração de stents farmacológicos se baseou no uso de polímeros bioestáveis como veículos de liberação, tais como o poli(etileno-co-acetato de vinila), metacrilato de n-butil, poli(estireno-b-isobutileno-b-estireno) e as principais drogas utilizadas nesse momento foram rapamicina e paclitaxel, ambos imunossupressores (Bege *et al.*, 2012; Kolandaivelu *et al.*, 2011)

Assim, começaram a surgir outras questões clínicas pós-implante e percebeu-se que a natureza dos polímeros utilizados como meio de entrega do fármaco acabou retardando a cicatrização levando a formação de coágulos a longo prazo, além de respostas inflamatórias prolongadas e toxicidade no local. Além disso, constatou-se problemas com a homogeneidade do revestimento com o fármaco resultando em uma distribuição irregular do fármaco e rompimento da camada de polímero na hora da expansão com o balão (Khan *et al.*, 2012; Puranik *et al.*, 2013; Farah *et al.*, 2013).

Nesse contexto, percebeu-se que, além da malha do stent e do fármaco, a matriz polimérica usada como veículo de liberação também deveria ser estudada visando melhorar a biocompatibilidade destes dispositivos. Assim chegamos na segunda geração de stents farmacológicos, onde foram desenvolvidos stents com polímeros biodegradáveis, projetados para aliar o combate à reestenose, característica padrão dos stents farmacológicos tradicionais; a segurança de um stent metálico não revestido e a degradação do polímero de revestimento tão logo o fármaco já tenha sido totalmente liberado. Essa última propriedade pode reduzir eficientemente os eventos de trombose tardia e hipersensibilidade (Garg *et al.*, 2013).

Lam *et al.* (2014), Lee *et al.* (2015), Gu *et al.* (2016) El-Hayek *et al.* (2017), Vlachojannis *et al.* (2017), Im *et al.* (2017) e Katayama *et al.* (2017) compararam a resposta clínica de pacientes implantados com stents com polímero biodegradável e polímero durável. Os resultados mostraram que a segunda geração de stents farmacológicos reduziu significativamente a necessidade de uma cirurgia de revascularização e também ajudaram na prevenção de trombozes locais e de infartos do miocárdio se comparados com os stents da primeira geração.

Vlachojannis *et al.* (2017), concluíram que o uso de stents farmacológicos com polímero bioabsorvível apresenta uma baixa ocorrência de eventos cardíacos adversos, se comparado com os stents metálicos. Gu *et al.* (2016) constatou que o uso de polímero biodegradável melhora a segurança e a eficiência dos stents e reduz os riscos de trombose tardia.

Paralelamente, tem-se estudado os principais tipos de irregularidades encontradas no revestimento de stents. Esses defeitos podem aparecer durante o processo de revestimento, durante a expansão, seja por cateter-balão, ou autoexpansível, como ainda podem surgir depois de implantados, *in vivo* (Bedair *et al.*, 2014).

Após observação das principais ocorrências foi possível classificar os defeitos de revestimento em quatro categorias, com base em parâmetros, como, espessura e deslocamento do revestimento: espessura reduzida; aumento da espessura; espessura não uniforme e revestimento deslocado. Cada categoria pode ser dividida em irregularidades, como vazios, fissuras, heterogeneidade do revestimento, *webbing*, delaminação e descontinuidade (Yazdani *et al.*, 2016; Hopkins *et al.*, 2016).

Portanto, avaliar essas irregularidades objetivando criar estratégias que possam solucioná-las é uma etapa importante do desenvolvimento de técnicas de revestimento.

2.4 Modificação de superfície de próteses vasculares

Um das principais características que um biomaterial deve apresentar é a capacidade de coexistir junto com o ambiente fisiológico no qual está implantado sem causar efeitos adversos, seja no biomaterial ou no meio fisiológico.

Uma vez que a superfície é a interface entre o biomaterial e o ambiente biológico, as propriedades da superfície são extremamente importantes para determinar a aceitação ou rejeição do biomaterial no organismo, pois os eventos biológicos como adsorção de proteínas e adesão celular ocorrem nessa interface e são dependentes das propriedades físico-químicas do biomaterial. Além disso, a interface entre um biomaterial implantado e o meio fisiológico é o local de uma variedade de processos físico-químicos, biológicos e mecânicos, de forma que as propriedades da superfície precisam se adequar a esses tipos de solicitações (García, 2011; Holmes e Trabizian, 2015; Oshida e Guven, 2015).

As técnicas de modificação de superfície em biomateriais permitem melhorar as respostas biológicas através de alterações químicas, topográficas, energéticas e de carga das superfícies, sem alterar suas propriedades físicas volumétricas.

Adotando uma classificação ampla, as técnicas de modificação de superfícies podem ser classificadas em três categorias: Adição de materiais com propriedades particulares; alteração da superfície existente em composições ou topografias mais adequadas; e remoção de material da superfície.

A escolha do método mais adequado vai depender de vários fatores, como o tipo de material do substrato, a geometria do componente, o custo do processo e o tipo de aplicação do produto final. Por exemplo, a rugosidade é uma característica de

superfície que influencia diretamente na osseointegração de biomateriais utilizados em implantes ósseos, enquanto que os materiais utilizados no desenvolvimento de stents vasculares devem apresentar hemocompatibilidade e propriedades que evitem a proliferação celular que resulta na reestenose (García, 2011; Nouri e Wen, 2015).

Como discutido anteriormente, a grande maioria dos stents vasculares são fabricados a partir do metal. Os metais são materiais inorgânicos caracterizados por ligações metálicas não-direcionais com alta mobilidade de elétrons, boa condutividade elétrica e térmica e a maioria deles pode ser facilmente conformado mecanicamente. Além disso, características importantes, quando se fala de biomateriais, como propriedades mecânicas, resistências ao desgaste e à corrosão, podem ser adequadas a partir de tratamento térmicos e modificações na composição dos metais (Qi *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2015).

Em contrapartida, superfícies metálicas não tratadas não propiciam uma endotelização adequada, além de induzir a adesão de plaquetas e proteínas plasmáticas, caracterizando um risco elevado de trombogenicidade (Zhang *et al.*, 2014).

É no intuito de contornar essas limitações e de usufruir das significativas vantagens que os metais apresentam, como elevada resistência mecânica, resistência à fadiga e resistência à corrosão, que pesquisas vêm sendo constantemente desenvolvidas buscando novos projetos de ligas metálicas e, principalmente, novas técnicas de modificações de superfícies que venham a potencializar o uso dos metais como material biomédico.

O maior desafio encontrado no uso de stents vasculares é a prevenção da formação de trombose e ocorrência de reestenose e estudos recentes (Zhang *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2015; Lutter *et al.*, 2015) evidenciaram que a superfície do biomaterial implantado possui papel relevante na ocorrência desses eventos. As reações que acontecem entre o meio fisiológico e a superfície do implante são uma característica importante quando se pensa em biomateriais.

Dessa forma, pesquisas como as de Wang *et al.* (2014), Liu *et al.* (2015), Liu *et al.* (2016), Liang *et al.* (2016), Salehi-Nik *et al.* (2017) têm sido feitas no intuito de otimizar o comportamento físico-químico de superfícies em biomateriais, visando a rápida endotelização da superfície de próteses o que teoricamente reduz a possibilidade de trombose e reestenose.

As propriedades da superfície de materiais metálicos são bastante influenciadas por processos de produção, que em si já são tratamentos de superfícies, como decapagem, lixamento, ataques ácidos e básicos, tratamentos eletroquímicos e bioquímicos, entre outros. A Figura 7 resume as principais características de superfícies que afetam a relação tecido-biomaterial.

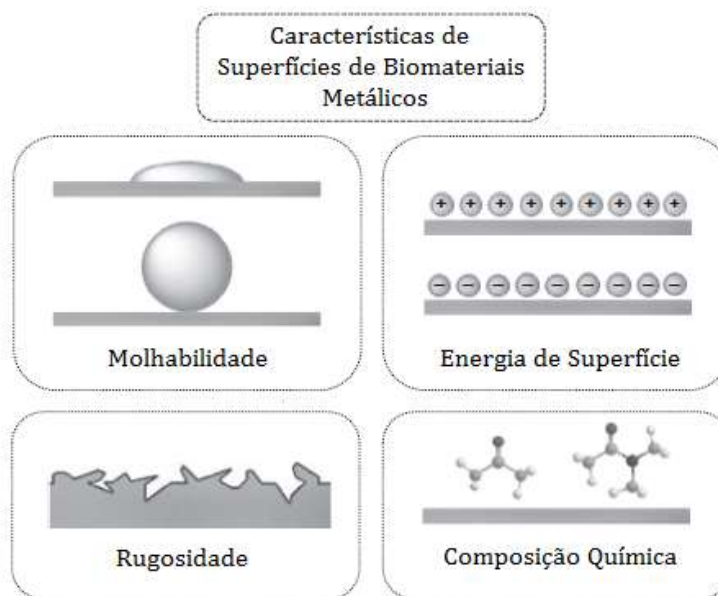


Figura 7 - Características de superfície que influenciam na resposta biológica do material implantado (Adaptado de Nouri e Wen, 2015).

Em qualquer tentativa de minimizar reações adversas causadas por próteses, é importante lembrar sempre que o primeiro contato entre um biomaterial e o corpo humano é feito obrigatoriamente pela superfície do implante. A sua rugosidade, energia de superfície e estabilidade química são fatores essenciais a se considerar na análise da trombogenicidade e interações com o tecido. Estudos já demonstraram que a taxa de trombose é mais elevada em superfícies rugosas, o que torna essencial uma modificação de superfícies nesse tipo de biomaterial. (Li, L. *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2015; Lutter *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2015).

Paralelamente, as superfícies de biomateriais metálicos normalmente apresentam uma carga superficial eletropositiva, enquanto os constituintes do sangue tendem a ser eletronegativos, o que gera uma atração e adesão de proteínas, como o fibrinogênio, que é importante no processo de endotelização, mas também está presente dentro do processo fisiopatológico da reestenose (Holmes e Trabizian, 2015; Oshida e Guven, 2015).

A energia superficial, como também a composição química, ainda afetam a molhabilidade da superfície, tendo sido demonstrado que a trombogenicidade da superfície de um material aumenta com a energia da superfície e com a tensão superficial crítica de molhagem (Bedair *et al.*, 2015).

Neste cenário, a modificação de superfícies de endopróteses vasculares tende a reduzir a ocorrência de reestenose, uma vez que essas técnicas conseguem modificar parâmetros superficiais que comprovadamente atuam como gatilhos de reestenose.

Gill *et al.* (2015) modificaram a superfície de ligas de Níquel-Titânio com a finalidade de aplicá-las na confecção de stents através de eletropolimento e avaliaram a superfície modificada a partir da molhabilidade, da resistência à corrosão, citotoxicidade e crescimento celular. O eletropolimento reduziu as asperezas da superfície das ligas e produziu uma camada estável de óxido, o que melhorou significativamente a resistência à corrosão. A análise elementar da camada de óxido não mostrou a presença de Níquel puro na superfície da liga tratada, resultando em uma caráter não-tóxico. O ângulo de contato das ligas de Níquel-Titânio deixou de apresentar um comportamento hidrofílico ($83,8^\circ$), passando a exibir um comportamento tipicamente hidrofóbico ($94,7^\circ$ até $105,9^\circ$) após o tratamento de superfície. Superfícies hidrofóbicas promovem melhor adesão celular, logo propiciam uma melhor endotelização.

Algumas modificações podem ser feitas nos stents com o intuito de melhorar sua biofuncionalidade, como também alterar a interação com diferentes células e moléculas, garantindo a segurança e efetividade dos mesmos. Revestimento é a principal modificação imposta aos stents, seja para melhorar propriedades como adesão e resistência à corrosão, ou estimular e inibir reações entre as substâncias do corpo com a do novo material do revestimento, ou ainda utilizar o revestimento como um veículo de liberação de fármaco (Ponsonnet *et al.*, 2003).

Wen *et al.* (2016) estudaram a viabilidade de desenvolvimento de revestimento de nanopartículas de prata para stents biliares de poliuretano para o tratamento de colangite esclerosante primária, uma inflamação dos canais da bile que leva à formação de cicatrizes que acabam obstruindo os canais. Para isso eles implantaram os stents revestido em porcos e puderam constatar que as nanopartículas de prata aliviaram a inflamação e que os stents se mostraram resistentes à adesão bacteriana, adesão esta que geralmente leva à oclusão da prótese.

Gao *et al.* (2014) observaram características antitrombóticas e antiproliferativas animadoras em um stent metálico que foi revestido com quitosana, heparina e rapamicina, provando ser uma alternativa de sucesso no tratamento da endotelização tardia que geralmente ocorre nos stents revestidos apenas com rapamicina.

Os stents farmacológicos são uma categoria importante, fruto do desenvolvimento tecnológico e de um melhor conhecimento da fisiopatologia das doenças vasculares e dos processos químico-biológicos pós-implantes.

2.5 Biomateriais

Os biomateriais representam uma área de pesquisa interdisciplinar resultado da convergência de conhecimentos e da relação entre as características estruturais, as propriedades, o processamento e o desempenho desses materiais, aplicados à fisiologia e biologia celular, biologia molecular, anatomia e fisiologia humana e animal.

Pode-se entender que um biomaterial é qualquer substância ou combinação delas, que não seja droga ou fármaco, sintética ou natural, que possa ser usada por um determinado período de tempo, de forma completa ou parcial, como parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo, além disso, deve ainda ser seguro e fisiologicamente aceitável (Ratner *et al.*, 2013; Zavaglia e Prado-Silva, 2016).

Pires *et al.* (2015) ampliam o conceito de biomateriais definindo-os como dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos, com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de compostos de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos quanto de géis, pastas ou mesmo líquidos. É possível classificar os biomateriais dentro das quatro principais classes de materiais como cerâmica, polímeros, metais e compósitos.

A utilização de biomateriais no tratamento de problemas relacionados à saúde não é uma exclusividade dos tempos modernos. Existem registros que indicam o uso de suturas no Egito Antigo (usando linho e ouro) e na Europa (usando intestino de gatos), durante a Idade Média; assim como de dentes artificiais feitos de conchas pelos maias (600 a.C.), de ferro pelos franceses (200 a.C.) e de ouro e madeira pelos

romanos, chineses e astecas; além de ser comum encontrar registros históricos que mostram o uso de esferas de vidro para substituir o globo ocular (Ratner *et al.*, 2013).

Porém, o rápido crescimento da população mundial e o aumento da expectativa de vida das pessoas geraram um aumento na demanda por novas soluções relacionadas aos problemas de saúde. De fato, nos últimos 80 anos observou-se um salto tecnológico importante na área de biomateriais, desde o início da utilização de polimetilmetacrilato (PMMA) na odontologia, em 1937, até chegarmos ao desenvolvimento de biomateriais que simulam a resposta a nível molecular de tecidos (Ratner *et al.*, 2013).

Nos primeiros estudos, o desenvolvimento e aplicação dos biomateriais seguiam o método de experimentação, observando as propriedades dos materiais já utilizados na indústria e comparando-os com os materiais que compunham as diversas partes do corpo humano. Contudo, mais recentemente, abordagens sistemáticas têm regido os estudos nesta área.

Por volta da década de 50, tinha-se por objetivo a obtenção de materiais biocompatíveis que pudessem substituir um tecido danificado e prover suporte mecânico, com mínima resposta biológica do paciente, esses eram os materiais bioinertes (foco no material em si) (Zavaglia e Prado-Silva, 2016).

A partir da observação das respostas clínicas do uso e desenvolvimento dos materiais bioinertes, buscou-se aumentar a vida útil dos implantes em virtude da interação com o tecido hospedeiro, e, paralelamente, focou-se no desenvolvimento de materiais biodegradáveis, com capacidade de serem incorporados ou absorvidos (após dissolução) pelo tecido hospedeiro, foi quando começaram os primeiros estudos a cerca de bioatividade e de materiais biodegradáveis e em seguida bioabsorvíveis; mais recentemente, o objetivo tem sido a regeneração de um tecido funcional, com foco, então, no aspecto biológico e trabalhando com o conceito de biomimética, buscando-se materiais que participem de forma ativa no processo de recuperação com estimulação em nível celular (Pires *et al.*, 2015; Zavaglia e Prado-Silva, 2016).

A decisão de se utilizar um determinado material como um biomaterial depende da análise de uma série de requisitos que devem ser atendidos. Dessa forma, a biocompatibilidade (efeito do ambiente orgânico no material e efeito do material no organismo), a biodegradabilidade (fenômeno em que o material é degradado ou solubilizado em fluidos tissulares, bem como a velocidade de

degradação do material são características desafiadoras para o desenvolvimento e fundamentais para a escolha de um biomaterial.

Essas propriedades conferem ao biomaterial uma interação benéfica com o organismo onde é implantado, desde que: o material não desencadeie resposta inflamatória ou tóxica quando implantado; o material apresente propriedades mecânicas adequadas à aplicação para que foi indicado e que qualquer variação das propriedades mecânicas decorrente da sua degradação não comprometa a eficiência e eficácia do implante; sua degradação não gere produtos tóxicos e que sejam facilmente metabolizados e liberados do corpo (Cao e Wang, 2009; Oliveira *et al.*, 2010).

A partir da biocompatibilidade, outras propriedades precisam ser adequadas para otimizar o desempenho clínico de biomateriais. Propriedades físicas, como morfologia da superfície, energia superficial, encaixe anatômico, rugosidade, porosidade, cor, transparência e permeabilidade; propriedades mecânicas, como tensão de ruptura, alongamento, flexibilidade e vida em fadiga e propriedades químicas, como densidade, estabilidade, resistência à esterilização e forma de degradação são frequentemente avaliadas para que o desenvolvimento dos materiais possa ser realizado de forma satisfatória e viável economicamente. (Pires *et al.*, 2015)

A seleção de um biomaterial deve se iniciar com a identificação de quais serão as propriedades requeridas para a aplicação em estudo. Como essas propriedades variam significativamente dependendo da estrutura do material em escala micrométrica ou nanométrica, é imprescindível que se tenha um entendimento de como se correlacionam a microestrutura com as propriedades desejadas. A partir desse conhecimento, que é a base da Ciência dos Materiais, pode-se pensar em produzir um material que tenha o comportamento esperado.

Pode-se encontrar biomateriais dentro das quatro principais classes de materiais: metais, cerâmicas, polímeros e compósitos com diferentes níveis de bioatividades que serão discutidas a seguir separadamente.

2.5.1 Biomateriais metálicos

Quando se analisa o corpo humano a partir dos tipos de materiais que o constituem, é possível perceber a presença de biocerâmicas (hidroxiapatita, presente nos ossos e dentes), polímeros e compósitos (constituem músculos, tendões e

cartilagens). Já os metais, apesar de serem essenciais para o corpo humano, aparecem em pequenas quantidades, na forma de íons ou associados a biomoléculas. Entretanto, atualmente, 80% dos materiais utilizados na indústria ortopédica de implantes são materiais metálicos. Essa aparente contradição é resultado das propriedades mecânicas dos metais (Chen e Thouas, 2015).

Os metais destacam-se por apresentar alta resistência à fadiga e à fratura, por isso têm sido vastamente utilizados como componentes estruturais visando à substituição, reforço ou estabilização de tecidos rígidos, os quais são constantemente submetidos a altas cargas de tração e compressão.

Os biomateriais metálicos são extensamente utilizados nas cirurgias ortopédicas, sendo o principal material empregado na construção de próteses, sejam elas temporárias (por exemplo, pinos e parafusos), ou permanentes (platô tibial e próteses de quadril). Paralelamente, os metais também aparecem em aplicações odontológicas e ortodônticas, na concepção de fios ortodônticos e parafusos de implantes dentários (Triplett e Bundiskaya, 2017).

Os metais mais utilizados como biomaterial são os aços inoxidáveis, titânio e ligas à base de titânio, e as ligas à base de cobalto-cromo. Na Tabela 1 estão detalhados os principais tipos de metais ou ligas e exemplos de suas aplicações mais frequentes.

Tabela 1 – Principais metais e ligas e respectivas aplicações na área biomédica.

Metal ou liga	Aplicações
<i>Aço inox 316L</i>	Fixação de fraturas, <i>stents</i> e instrumentos cirúrgicos
<i>Ti CP, Ti-Al-V, Ti-Al-Nb, Ti-13Nb-13Zr, Ti-Mo-Zr-Fe,</i>	Substituição de ossos e articulações, implantes dentários e encapsulação de marca-passo
<i>Co-Cr-Mo, Cr-Ni, Cr-Mo</i>	Substituição de ossos e articulações, restaurações e implantes dentários e válvulas cardíacas
<i>Ni-Ti</i>	Placas ósseas, <i>stents</i> e fios ortodônticos
<i>Ligas de ouro, Amálgama de Hg-Ag-Sn</i>	Restaurações dentárias
<i>Platina e Pt-Ir</i>	Agente antimicrobiano
<i>Prata</i>	Eletrodos

Fonte: Pires *et al.* (2015).

As pesquisas têm avançado visando aplicações em cirurgias reconstrutivas de tecido duros e órgãos, bem como a aplicação de ligas de Níquel-Titânio no desenvolvimento de stents vasculares e o desenvolvimento de uma nova liga de magnésio a ser utilizada na Engenharia de Tecido e Reconstrução Óssea (Yang *et al.*, 2013; Farraro *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015).

Existem quatro classes de Titânio Comercialmente Puro que podem ser utilizadas como biomaterial, de acordo com a ASTM F67-13. Essas classes possuem de 98,94% a 99,5 % de titânio na sua composição e podem conter outros elementos intersticiais como mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Composição química do Ti_{CP} (ASTM F67-13)

Elemento	Classe 1	Classe 2	Classe 3	Classe 4
N máx	0,03	0,03	0,05	0,05
C máx	0,10	0,10	0,10	0,10
H máx	0,015	0,015	0,015	0,015
Fe máx	0,20	0,30	0,30	0,50
O máx	0,18	0,25	0,35	0,40
Ti	Balanço	Balanço	Balanço	Balanço

Fonte: Adaptado de ASTM F67-13.

Existem uma série de requisitos de segurança que os metais e suas ligas precisam atender para que possam ser aplicados adequadamente no corpo humano. Essencialmente, devem ser biocompatíveis, de forma a não produzir reações inflamatórias, tóxicas ou alérgicas. Ainda, devem ser quimicamente estáveis e apresentar apropriada resistência à corrosão, a fim de prevenir a degradação no ambiente biológico. Se forem utilizadas na confecção de implantes ósseos, devem apresentar alta força de adesão entre os osteoblastos e o implante. Módulo de elasticidade próximo ao do osso humano e resistência à fadiga e à corrosão, também devem ser considerados (Ratner, 2013).

Uma vez implantados, os biomateriais metálicos permanecem em contato com o fluido corpóreo, rico em oxigênio, proteínas e íons, como cloreto e hidróxidos. Implantes dentários ou materiais ortodônticos, as ligas metálicas estão, ainda, suscetíveis a variações de temperatura e pH, presença de biofilme microbiano e às propriedades físicas e químicas dos alimentos (Zandparsa, 2014). Estes meios podem ser agressivos aos metais, provocando a sua corrosão. Concomitantemente, grande

parte dos implantes está sujeita a ação de cargas mecânicas que resultam em atrito, deslizamento e, conseqüentemente, podem causar a liberação de partículas metálicas. (Pires *et al.*, 2015; Mahapatro, 2015).

Como consequência destes processos de desgaste e corrosão, a integridade mecânica e estrutural do implante pode ser comprometida, ocasionando a falha. Os produtos dessa degradação têm sido associados a complicações como inflamações e reações alérgicas severas que podem evoluir para casos clínicos graves, além disso pode ocorrer o acúmulo de íons metálicos em órgãos e câncer (Diomidis *et al.*, 2012; Ren e Yang, 2013).

2.5.2 Biomateriais poliméricos

Um polímero é uma macromolécula caracterizada por uma repetição de uma ou mais unidades, *meros*, unidas umas às outras por ligações covalentes, em quantidades suficientes para fornecer um conjunto de propriedades que não variam acentuadamente com a adição ou remoção de uma ou algumas unidades (Callister e Rethwish, 2016).

Os biomateriais poliméricos, juntamente com os metais, estão dentre os mais utilizados em projetos de produtos para saúde, em virtude da versatilidade dos biomateriais que podem ser obtidos a partir desses materiais e da adequação das propriedades mecânicas e físicas às demandas clínicas específicas. Os polímeros podem ser obtidos a partir de reações de polimerização ou por meio de organismos vivos, classificando-se, assim, respectivamente, como sintéticos e naturais, os quais podem ser também quimicamente modificados (Patel e Gohil, 2012; Pires *et al.*, 2015; Banorya *et al.*, 2017).

Os polímeros de origem biológica são abundantes e seus produtos de degradação são biocompatíveis e não-tóxicos, o que permite sua utilização na constituição de biomateriais. Vários tipos de polímeros naturais são utilizados na produção de materiais com aplicações biomédicas, tendo destaque as proteínas (como colágeno, e elastina) e os polissacarídeos (como quitosana, alginato e pectina) (Sionkowska, 2011; Banorya *et al.*, 2017).

Quando se estuda este tipo de material é importante conhecer seus mecanismos de degradação. As análises precisam considerar a alteração progressiva de sua funcionalidade, uma vez que ocorrem modificações na estrutura e composição

do biomaterial tão logo ele entra em contato com meio fisiológico, bem como a alteração das características dos produtos gerados que podem, eventualmente, ser citotóxicos (Phua *et al.*, 2017).

Os polímeros sintéticos e naturais possuem mecanismo diferentes de degradação, por meio da clivagem hidrolítica e enzimática de suas ligações, respectivamente. Logo, a degradação de um biomaterial polimérico deve ser bem entendida para garantir que o contato entre os produtos da degradação com os fluidos fisiológicos do paciente aconteça de forma segura (Sionkowska, 2011).

2.5.3 Biomateriais compósitos

Os compósitos são uma classe de materiais constituídos por uma fase contínua (matriz) e uma fase dispersa (reforço) separadas por interfaces e que apresentam uma combinação das características desejadas de cada material que o compõem, visando a adequação das propriedades do material compósito, a partir das propriedades dos materiais constituintes e de acordo com as exigências técnicas da aplicação (Rodrigues, 2013).

Os principais fatores que afetam as propriedades dos compósitos são as propriedades dos materiais que o constituem, a quantidade, distribuição e orientação das fibras na matriz e as interações interfaciais. A formação dos biomateriais compósitos pode se dar de diversas formas, sendo que as principais associações são do tipo polímero-cerâmica e metal-cerâmica (Pires *et al.*, 2015).

Em biomateriais poliméricos para implante ósseo, a adição de partículas de fosfatos de cálcio, como hidroxiapatita, e de biovidro tem o intuito de aumentar a bioatividade e adequar o módulo elástico da matriz. Com isto, as propriedades mecânicas do compósito tornam-se mais próximas às do osso, contribuindo para a redução de potenciais efeitos colaterais danosos (Laura *et al.*, 2011; Rahaman *et al.*, 2011; Vallittu *et al.*, 2015).

Em implantes metálicos ortopédicos e odontológicos, fosfatos de cálcio, principalmente a hidroxiapatita, têm sido utilizados como recobrimentos visando à obtenção de um microambiente condutivo para a formação e crescimento ósseo na superfície do implante e, também, a fim de promover sua estabilização. Diversas técnicas de tratamento superficial têm sido propostas e empregadas comercialmente,

como a aspersão térmica, sol-gel e deposição eletrolítica (Bosco *et al.*, 2012; Braem, 2012; Barbosa, 2015).

De forma geral, os compósitos apresentam grande potencial para aplicação como biomateriais e estão em crescente estudo e desenvolvimento, uma vez que possibilitam ajustar o desempenho mecânico e biológico para diversas situações clínicas.

2.6 Polímeros naturais aplicados em biomateriais

O grande número de polissacarídeos com diferentes estruturas e propriedades se apresenta como uma fonte de materiais para as mais diversas aplicações, especialmente no domínio dos biomateriais. Quitosana e alginato de sódio são exemplos de polissacarídeos que, além de apresentarem individualmente propriedades importantes no cenário dos biomateriais, como biocompatibilidade, biodegradabilidade e bioabsorção, também são capazes de formar juntos complexos polieletrólíticos para construção de filmes nanoestruturados, favorecendo a reação entre estes materiais (Santos, 2017).

2.6.1 Quitosana

Do processo de desacetilação da quitina, presente na carcaça de crustáceos e exoesqueletos de artrópodes, se obtêm a quitosana, designação para o polímero poli[β -(1-4)-2-amino-2-desoxi-D-glicose].

Nas carapaças de caranguejos e camarões, a quitina está associada a proteínas, materiais inorgânicos, pigmentos e lipídeos. O exoesqueleto dos crustáceos pode apresentar entre 15 e 20% de quitina, 25 e 40% de proteínas e 40 e 55% de carbonato de cálcio (Mathur e Narang, 1990).

A quitina apresenta estrutura similar à da celulose que é amplamente conhecida e apresenta várias aplicações, tais como: na fabricação de tecidos, de papel, na indústria cosmética e para a geração de etanol. A partir da ampla aplicabilidade da celulose, muito também pode ser investigado sobre a quitina visto que ambas possuem semelhanças em suas respectivas estruturas químicas. O que as diferencia é a presença de um grupo acetamida na quitina no lugar do grupo hidroxila

do carbono que existe na celulose (Peniche *et al.*, 2008; Lizardi-Mendoza *et al.*, 2016; Nwe *et al.*, 2014;).

A Figura 8 apresenta a estrutura química da quitina e da quitosana.

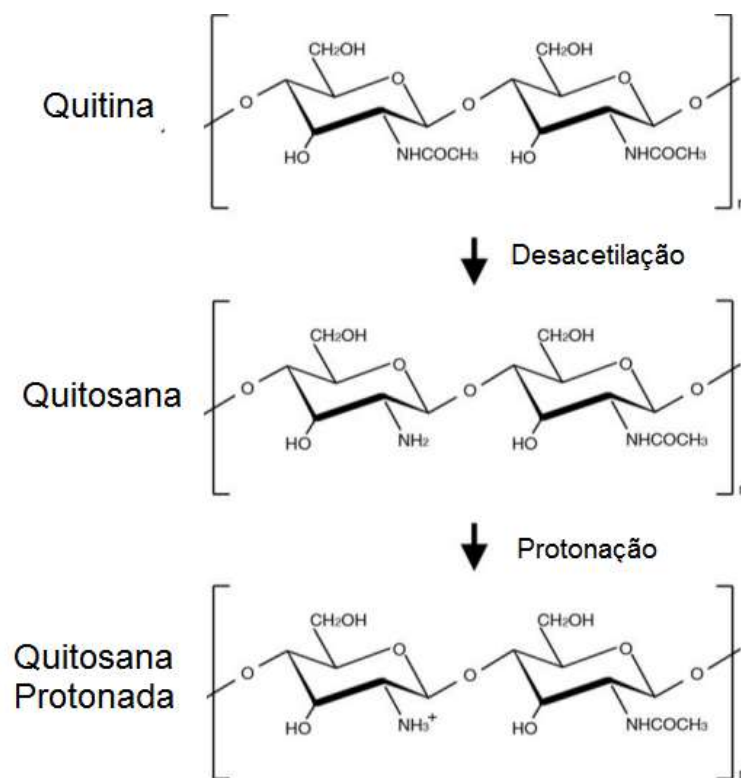


Figura 8 - Estrutura da (a) quitina, (b) quitosana e (c) quitosana protonada (Peniche *et al.*, 2008).

Quimicamente, a quitosana é entendida como um copolímero formado por estruturas de 2-amino-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcN) e 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose (GlcNAc) unidas por ligações glicosídicas do tipo β (1 \rightarrow 4), com maior presença de unidades de glicosamina (GlcN). Na molécula da quitosana, as amins reativas e os grupos hidroxila podem ser usados para aumentar as interações permitindo a formação de complexos com outras moléculas através de atrações eletrostáticas ou ligações de hidrogênio, melhorando algumas propriedades como: a adesão, diminuindo a degradação, aumentando a atividade hemostática, antimicrobiana, antifúngica na formação de géis e filmes (Gonsalves *et al.*, 2011 Lizardi-Mendoza *et al.*, 2016).

A desacetilação da quitina (Figura 9), muito empregada industrialmente, é aquela realizada em suspensão básica. Alguns dos fatores que afetam as características e o grau de desacetilação da quitosana são: temperatura e tempo de

reação, concentração de hidróxido de sódio, razão quitina e hidróxido de sódio, tamanho das partículas de quitina, presença de agentes que evitam a despolimerização e a atmosfera da reação. Em geral, o produto desacetilado só passa a ser considerado quitosana quando o grau médio de substituição se torna igual ou superior a 60%, porcentagem a partir da qual o biopolímero se torna solúvel em soluções ácidas diluídas (Peniche *et al.*, 2008; Lizardi-Mendoza *et al.*, 2016).

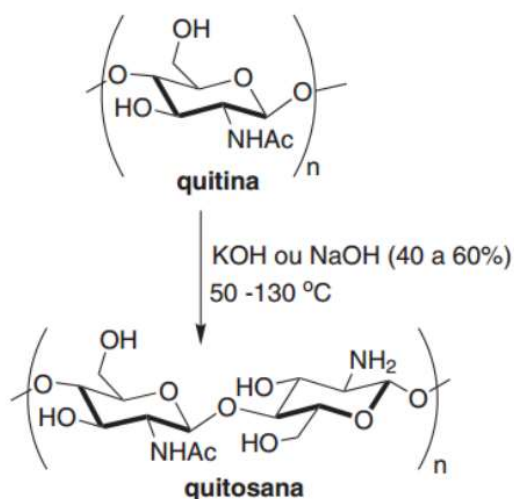


Figura 9 - Reação de desacetilação da quitina (Denari, 2014).

O grau de desacetilação é uma propriedade química muito importante da quitosana, sendo um parâmetro capaz de influenciar as características químicas, físicas e biológicas do biopolímero. Quimicamente, o grau de desacetilação da quitosana exerce influência sobre algumas de suas propriedades, tais como, hidrofobia, capacidade de reticulação, solubilidade e viscosidade de suas soluções (Nwe *et al.*, 2014; Khor e Wan, 2014).

Uma característica interessante é que, dentre todos os biopolímeros naturais, a quitosana apresenta o maior caráter catiônico, ao passo que a maioria dos polissacarídeos animais ou vegetais apresenta caráter neutro (celulose, dextrana, amido) ou aniônico (alginato, carragenina, xantana). Algumas características da quitosana estão diretamente relacionadas a seu caráter eletrolítico, inclusive certos procedimentos de reticulação de suas cadeias (Khor e Wan, 2014).

A quitina e a quitosana ainda diferem entre si em termos de solubilidade. A quitina apresenta uma afinidade limitada por solventes devido às fortes ligações de hidrogênio, sendo solúvel especialmente em N,N-dimetilacetamida contendo 5 a 10 % de cloreto de lítio e em alguns solventes com flúor. Diferentemente da quitina, a

quitosana apresenta comportamento básico em meio aquoso, pode ser solúvel em ácidos orgânicos diluídos como soluções de ácido acético, fórmico, láctico, oxálico e em ácidos inorgânicos diluídos, porém em ácidos fortes (ácido clorídrico e sulfúrico) a quitosana é hidrolisada (Penishe *et al.*, 2008; Pillai *et al.*, 2009).

Os ácidos mais comuns usados para dissolver a quitosana são o ácido acético e o ácido clorídrico. Em soluções ácidas diluídas, a quitosana tem o comportamento típico de polieletrólito catiônico devido à protonação dos grupos amino (NH_2) (Szymanska e Winnicka, 2015).

A solubilidade da quitosana em meio ácido tem relação com a quantidade de grupos amino protonados (NH_3^+) na cadeia polimérica. Quanto maior a quantidade destes grupos protonados, maior a repulsão eletrostática entre as cadeias e, conseqüentemente, maior a solvatação do polímero em água, facilitando sua dissolução. A solubilização da quitosana em solução de ácido acético ou ácido clorídrico ocorre para um grau de protonação de aproximadamente 0,5. Em meio ácido, os grupos amino da quitosana são protonados e o polímero torna-se solúvel em solução aquosa. Entretanto, após a dissolução em condições ácidas, quando o pH da solução é aumentado, os grupos amino têm suas cargas positivas reduzidas e ao atingir um pH em torno de 6,5 a quitosana precipita na solução aquosa (Pillai *et al.*, 2009; Sogias *et al.*, 2010).

A versatilidade química da quitosana resulta principalmente da presença dos grupos amino em sua estrutura, os quais oferecem muitas possibilidades de modificações, tais como, N-acetilação, N-alquilação, N-carboxilação, N-sulfonação e formação de bases de Schiff com aldeídos e cetonas (Gonsalves *et al.*, 2011).

A quitosana, nos últimos anos, tem recebido uma atenção especial por ser biodegradável, biocompatível, não tóxica, apresentar propriedades antimicrobianas, antifúngicas, cicatrizantes, analgésicas e baixa imunogenicidade. Por essas razões, Quitosana e seu derivados vêm sendo utilizados em aplicações biomédicas e farmacêuticas, principalmente no que diz respeito à engenharia de tecidos, cicatrização de feridas e liberação de fármacos. (Mathur e Narang, 1990; Chang *et al.*, 2013; Nwe *et al.*, 2014).

Na área de Engenharia de Tecidos, a quitosana é bastante utilizada no desenvolvimento de microesferas (Kim *et al.*, 2012; Bagheri-Khoulenjani *et al.* 2013), nanofibras (Jing *et al.*, 2015), hidrogel (Liu *et al.*, 2014) e arcabouços porosos (Dorj *et al.*, 2012; Jafarkhani *et al.*, 2012). Além de atuar como um suporte físico para células

e tecidos, a quitosana auxilia no processo de reestruturação do tecido. Sendo capaz de aumentar a atividade de osteoblastos, a mineralização, a produção de colágeno, a regeneração de tecidos e a ação hemostática (Venkatesan e Kim, 2010; Nwe *et al.*, 2014).

2.6.2 Alginato de sódio

O alginato é um polímero natural, polianiónico, solúvel em água, que vem sendo bastante utilizado em aplicações biomédicas, devido à sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e o caráter eletrolítico. Pode ser obtido a partir de algas marinhas marrons, como: *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* e *Macrocystis pyrifera*. Os polímeros de alginato são uma família de polissacarídeos lineares ramificados, que contêm variáveis de resíduos do ácido β -D-manurônico e do ácido α -L-gulurônico. A estrutura do alginato de sódio é apresentada na Figura 10.

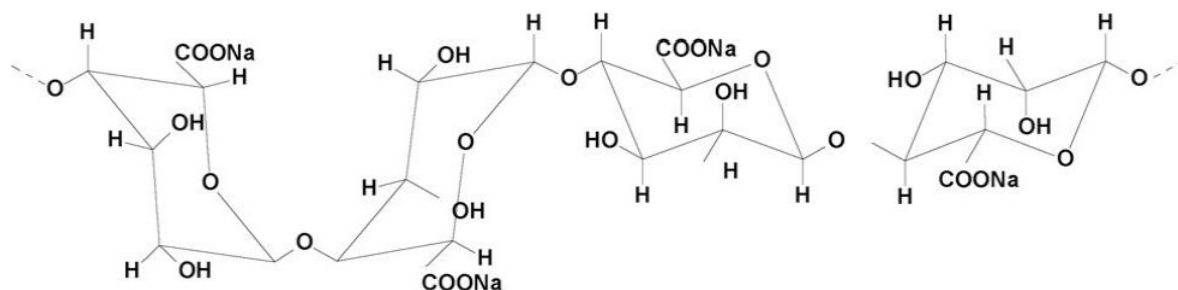


Figura 10 - Estrutura Química do alginato de sódio (Taketa e Beppu, 2014).

Na área biomédica o alginato de sódio tem sido bastante explorado em estudo de Engenharia de Tecidos, na concepção de *scaffolds* a partir de diferentes formas, como malha (Zhou *et al.* 2015), fibras (Szymansk e Feinberg, 2014; Park *et al.*, 2011), esferas (Celli *et al.*, 2016) e membranas (Gurin *et al.*, 2013); e também na liberação controlada de fármaco (Sosnik, 2014; Tiwari *et al.*, 2013). Por ser um polieletrólito negativo, sua associação com a quitosana tem sido bastante explorada na construção de filmes pela técnica *layer-by-layer*.

Taketa e Beppu (2014) escolheram o biopolímero quitosana e os polieletrólitos negativos Ácido Hialurônico e Alginato de Sódio para a construção de filmes finos constituídos Quitosana/Ácido Hialurônico e Quitosana/Alginato de Sódio em

diferentes condições de pH e força iônica das soluções polieletrólíticas. Os autores concluíram que o pH e a força iônica foram determinantes para a rugosidade dos recobrimentos e que a técnica *layer-by-layer* viabilizou de maneira simples a construção de filmes nanoestruturados com potencial para aplicações antimicrobianas.

Kulig *et al.* (2016) estudaram diferentes complexos formados a partir da associação de quitosana-alginato de sódio e outros tipos de polímeros. Os resultados das análises forneceram informações sobre as características e mudanças causadas pelas soluções polieletrólíticas. As propriedades de cada polissacarídeo se complementam e como resultado acabam potencializando a ação das soluções.

2.7 Melhorias da hemocompatibilidade da quitosana

Vários polímeros naturais e sintéticos (celulose, quitosana, polietileno, polisulfona) têm sido utilizados em aplicações biomédicas com contato direto com o fluxo sanguíneo, como por exemplo: órgãos artificiais, dispositivos médicos biodegradáveis, próteses endovasculares, bombas de sangue e válvulas cardíacas. Entretanto, um dos principais obstáculos relacionados ao desenvolvimento de soluções e dispositivos biomédicos que entram em contato com o sangue é a falta de hemocompatibilidade da superfície (Jaganathan *et al.*, 2014; Bing *et al.*, 2015).

Labarre (2001) definiu uma superfície hemocompatível como sendo “uma superfície capaz de manter os processos de coagulação e inflamação sob controle em sua interface quando em contato com sangue, em dadas condições hemodinâmicas. Gorbet e Sefton (2004) levam em consideração apenas a resposta trombótica causada pelo material quando em contato com o sangue.

Jackson e Ahmed (2007) definem hemocompatibilidade como sendo a compatibilidade do material com o sangue, em termos da ativação do sistema de coagulação, da resposta do sistema imunológico e da resposta de outros tecidos como consequência do contato sangue-material. O termo hemocompatibilidade não está bem definido, mas em todos os casos um evento é levado em consideração: o processo de coagulação.

A hemocompatibilidade está diretamente relacionada à processos bioquímicos intrínsecos à coagulação e à natureza da interação entre o sangue e material, como também, às características de projeto do dispositivo (Campelo *et al.*, 2015).

O uso da quitosana dentro da área biomédica vem ganhando destaque e à medida que vão aparecendo resultados promissores, as possibilidades de aplicação vão se expandindo, com base em diferentes de suas potencialidades, o que ocasionalmente, podem criar um conflito entre a ação conjunta de diferentes propriedades e as aplicações.

Neste sentido, características hemostáticas e cicatrizantes corroboram o uso da quitosana como um biomaterial adequado para a fabricação de curativos. Por outro lado, a quitosana também é utilizada na área de cirurgia cardiovascular, em sistemas de liberação de fármaco e em terapias gênicas, situações que a colocam em contato direto com o fluxo sanguíneo, onde as suas propriedades hemostáticas podem ser um inconveniente grave (Balan e Vereustic, 2014).

Alguns estudos na literatura sugerem que a quitosana é altamente trombogênica, em virtude de interações dos seus grupos amino livres com proteínas plasmáticas e células sanguíneas, induzindo uma resposta trombogênica. O entendimento da interação da quitosana com o sangue começa a tomar forma ao analisar inicialmente a adsorção de proteínas plasmáticas, seguido da adesão e ativação de plaquetas que levam à formação de trombos. Essa primeira interação é favorecida pelo caráter catiônico da quitosana, com cargas positivas, que ativa o sistema de coagulação, ao induzir a adsorção de fibrinogênio, um dos principais componentes do coágulo (Yamazaky e Hudson, 2012; Zhang *et al.*, 2010).

Visando ampliar as possibilidades de uso da quitosana em aplicações que a coloquem diretamente em contato com a corrente sanguínea têm sido desenvolvidas estratégias de melhorias de sua hemocompatibilidade. Estratégias essas que se baseiam em modificações químicas e na associação com biopolímeros que apresentem propriedades complementares (Balan e Vereustic, 2014).

Um grande número de derivados de quitosana podem ser preparados a partir de modificações química que visam adequar suas propriedades naturais, provendo novas atividades biológicas e/ou modificando suas propriedades mecânicas. A presença de uma alta porcentagem de grupos amino reativos distribuídos na matriz polimérica permite inúmeras modificações químicas, tais como imobilização de agentes quelantes, quaternização, carboxilação, acilação, sulfonação, amidação e formação de complexo polieletrólítico (Balan e Vereustic, 2014).

A modificação química comumente utilizada para melhorar a hemocompatibilidade da quitosana é a sulfatação, pois os sulfatos de quitosana são

compostos polianiônicos que irão sofrer repulsão eletrostática com as superfícies negativamente carregadas das células sanguíneas, gerando uma superfície hemocompatível e diminuindo a adsorção de proteínas (Campelo *et al.*, 2015).

Por sua vez, a associação da quitosana com polímeros naturais ou sintéticos também aparece como uma estratégia de melhoria do seu comportamento físico-químico e biológico. Heparina é um polissacarídeo sulfatado com propriedades anticoagulantes e sua associação com a quitosana tem mostrado melhorias significativas no que diz respeito à compatibilidade sanguínea (Azevedo e Kumar, 2014).

O alginato de sódio também pertence à classe de polissacarídeos hemocompatíveis, sendo uma macromolécula aniônica, não-tóxica, biocompatível e com efeitos anticoagulantes. Sua associação com a quitosana tem mostrado resultados relevantes no que diz respeito a redução na ativação e adesão de plaquetária (Balaji *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2014; Notara *et al.*, 2009).

2.8 Técnicas de revestimento

O revestimento é uma das diversas técnicas de modificação de superfícies utilizadas com o objetivo de conferir diferentes características a estes materiais. O processo de revestimento pode ser realizado para proteger o material contra agentes ambientais como corrosão e degradação química e/ou biológica ou para adicionar propriedades químicas e físicas à superfície (Li e Chu, 2016; Oshida e Guven, 2015).

O processo de revestimento pode ser separado em três etapas: preparação da superfície, aplicação do revestimento e cura. A etapa da preparação da superfície consiste basicamente na limpeza da superfície a ser revestida visando a remoção de impurezas adsorvidas que poderiam prejudicar a interação com os grupos funcionais do revestimento. Diferentes técnicas de limpeza da superfície podem ser utilizadas para a preparação do substrato dependendo do grau de pureza esperado e do tipo de material escolhido. Entre as técnicas mais conhecidas para a preparação de superfícies para o revestimento estão a limpeza com solventes e o banho ultrassônico (Bahadori, 2015; Jokar e Aliofkhazraei, 2017).

O tratamento de superfície com soluções ácidas é ideal para o posterior revestimento do substrato com quitosana, uma vez torna a superfície acidificada o que

permite um melhor espalhamento da quitosana, além de neutralizar óxidos que possam estar presentes na superfície a ser recoberta (Gama *et al.*, 2017).

A aplicação do recobrimento pode ser realizada por diferentes técnicas como métodos de deposição a vácuo, eletrodeposição “*spin coating*”, “*spray coating*”, “*dip coating*”, “*layer by layer*”. A escolha da técnica adequada depende do tipo de material e da solução de recobrimento e é importante para que ocorra um recobrimento eficiente (Nouri e We, 2015; Oshida e Guven, 2015).

O processo de cura do material é a etapa do processo de revestimento necessária para fixação do recobrimento à superfície desejada. Diferentes processos, físicos e químicos, são utilizados, como a cura térmica, cura por raios ultravioletas, por feixe de elétrons, entre outros. A escolha do processo adequado está diretamente relacionada à natureza do revestimento (Avillez *et al.*, 2017).

No recobrimento por quitosana, em geral se utiliza a cura térmica para a secagem da solução de quitosana superficial e/ou a coagulação do recobrimento por mudança de pH através da imersão em uma solução de pH alto, como uma solução de NaOH (Jennings *et al.*, 2015).

Um ponto importante para a realização de um processo de recobrimento eficiente é o conhecimento da interação entre a solução de recobrimento e o substrato. A boa interação entre a solução de recobrimento e a superfície irá proporcionar uma boa aderência e durabilidade do recobrimento. A molhabilidade da solução de recobrimento na superfície, a energia superficial da partícula e a tensão superficial da solução de recobrimento são parâmetros que ajudam a entender esta interação (Avillez *et al.*, 2017).

Nesse sentido, diversos trabalhos têm verificado a boa interação entre recobrimentos de quitosana com superfícies de ligas de Níquel-Titânio, construindo revestimento com boa adesão, topografia de superfície uniforme e homogêneos, com rugosidade reduzida (Goryczka *et al.*, 2015; Kowalsky *et al.*, 2015; Ahmed *et al.*, 2014; Li, P. *et al.*, 2013).

2.8.1 Dip coating

Uma das técnicas mais simples de recobrimento é a de “*dip coating*” ou recobrimento por imersão, este procedimento apresenta vantagens como baixo custo de investimento, grande homogeneidade de estrutura e baixas temperaturas de

reação. Nesse sentido, o dip-coating vem sendo muito utilizado para a produção de revestimentos, filmes finos, fibras e materiais porosos (Livingston e Tan, 2015).

Na indústria, o dip-coating tornou-se famoso na produção do PVC e em processos de galvanização, onde há a deposição de um metal fundido sobre um substrato, e em alguns processos de tratamentos superficiais de artefatos cerâmicos. Em escala de laboratório, esta técnica pode ser facilmente implementada e possui relação custo-benefício adequada para diversas aplicações (Brinker, 2013. Livingston e Tan, 2015).

Dip coating é o processo no qual o substrato que receberá o revestimento é verticalmente imerso em um sistema de solução líquida e depois retirado a uma velocidade constante e posteriormente submetido a um procedimento de remoção do excesso de solvente por seja evaporação ou por escoamento do material excedente. Este procedimento pode ser realizado de maneira contínua ou dividido em etapas distintas dependendo da geometria das peças e qualquer seja a situação é importante utilizar um equipamento que opere com níveis mínimos de vibrações, de forma que o deslocamento do substrato seja lento para obtenção de um revestimento com espessura específica e uniforme (Brinker, 2013).

A Figura 11 apresenta esquematicamente o processo de dip coating dividido em cinco etapas, conforme Brinker (2013):

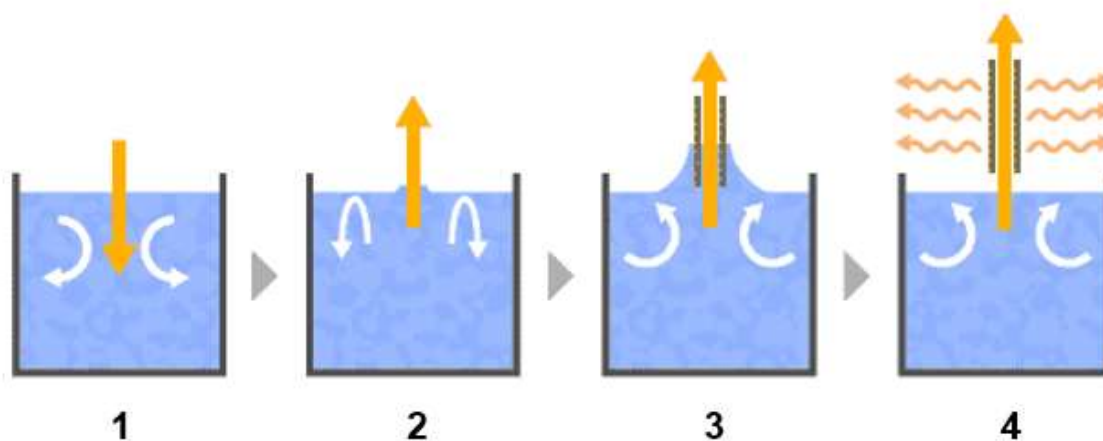


Figura 11 - Representação esquemática do processo de Dip Coating. (1) imersão do substrato na solução de revestimento; (2) início da remoção do substrato da solução; (3) deposição e escoamento do revestimento sobre o substrato (4) evaporação do solvente.

Após a imersão completa do substrato na solução, a deposição do revestimento sobre a sua superfície é feita. Na retirada, o substrato traz consigo uma quantidade do líquido da solução devido ao movimento fluidodinâmico. A espessura da camada

da solução que ficará sobreposta ao substrato após a retirada da solução dependerá da viscosidade desta solução e da velocidade de imersão/retirada do substrato (Livingston e Tan, 2015).

A construção do filme de recobrimento se torna possível em virtude do escoamento da solução devido à gravidade e à evaporação do solvente (Figura 12). Durante o processo de secagem do filme, as soluções vão ficando gradualmente mais a medida que o solvente sofre pela evaporação, o que leva à agregação e, finalmente, à formação dos recobrimentos com a secagem. Além disso, a distribuição da solução polimérica sobre o substrato é função do arrasto viscoso que originado no processo de imersão e é e é proporcional à viscosidade do líquido e à velocidade de retirada (Brinker, 2015).

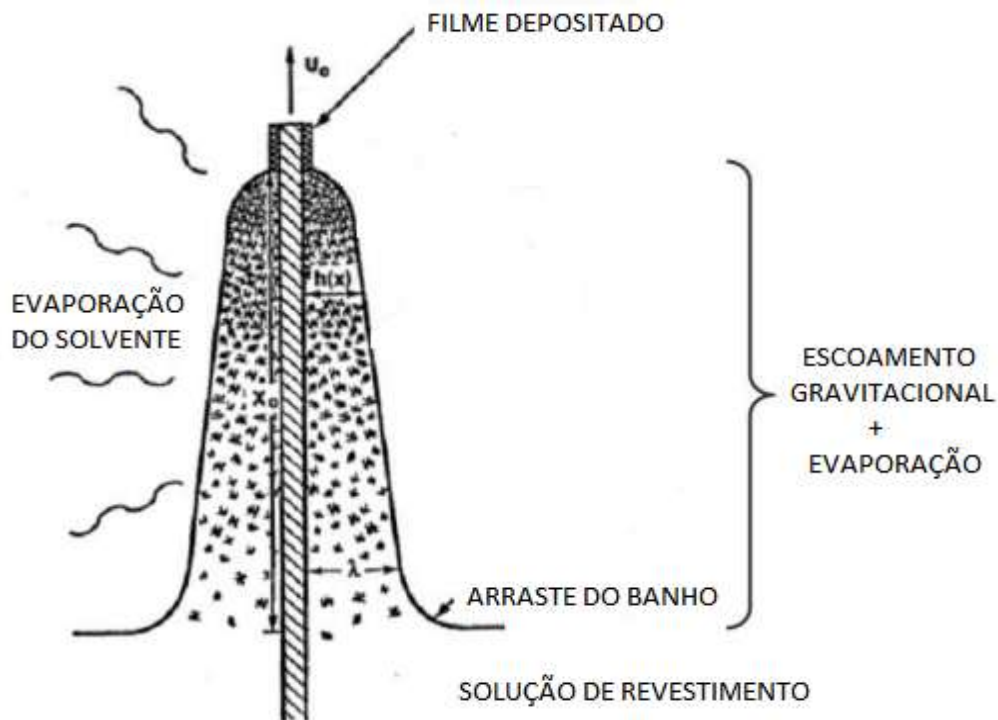


Figura 12 - Esquemática do processo estacionário do *Dip Coating* (Brinker, 2015).

Após o escoamento da solução e da evaporação, sobrar uma linha bem definida e fina da substância de interesse, formando um filme. O *dip-coating*, permite a deposição de mais de uma camada de filme, que podem atingir espessuras da ordem de 10^{-9} m. Além disso, permite a deposição de filme dos dois lados do substrato, possibilita a formação de camadas de filmes de diferentes soluções, e se apresenta

como um método eficiente, de baixo custo e com bastante controle sobre as camadas de filmes que se deseja formar (Brinker, 2015).

2.8.2. *Layer-by-layer*

A técnica *Layer-by-layer* (LbL) para construção de filmes, recobrimentos e modificação de superfície foi discutida inicialmente por Decher *et al.* (1992), quando propuseram que finas camadas de recobrimento fossem obtidas através da adsorção física e desde então têm obtido considerável aceitação na comunidade acadêmica e industrial, em virtude da facilidade de implantação, baixo custo operacional e a possibilidade de se obter filmes nanoestruturados em substratos de diferentes tamanhos ou formas.

De maneira geral, o princípio da técnica se baseia na associação mútua entre os materiais de interesse através de múltiplas interações intermoleculares. Essas interações podem ser advindas de forças eletrostáticas (Ibragimova *et al.*, 2017; Hernández-Montelongo *et al.*, 2016), ligações hidrogênio (O'Neal *et al.*, 2017; Ma *et al.*, 2015), ligação covalente (Su e Shieh, 2014) reconhecimento molecular (Nishiguchi *et al.*, 2015), forças de Van der Waals (Geim e Grigorieva, 2013), permitindo a incorporação de diversos tipos de moléculas, como proteínas (Yang *et al.*, 2016), polissacarídeos (Taketa e Beppu, 2014), compostos sintéticos (Nunes *et al.* 2017), DNA/RNA (Hu e Tsou, 2014; Barba *et al.*, 2017).

A interação predominante na maioria das aplicações da técnica é a atração eletrostática entre compostos de cargas opostas (contendo grupos aniônicos ou catiônicos) com a deposição alternada de camadas finas desses materiais. O processo envolve a utilização de um substrato que interage com as soluções polieletrólíticas em etapas consecutivas. A cada etapa ocorre a reversão da carga superficial, sendo essa a força motriz para a deposição da camada seguinte (Taketa e Beppu, 2014).

As etapas de construção de recobrimentos por essa técnica são ilustradas na Figura 13. Nesse caso, um substrato é imerso em uma solução catiônica durante um determinado período de tempo. Em seguida é retirado e colocado em uma solução de lavagem para retirada de segmentos de cadeias poliméricas que foram fracamente adsorvidas e então é mergulhado na solução aniônica para formação da camada seguinte. Logo após, é novamente imerso na solução de lavagem e retirado, obtendo

assim a segunda camada. Ao final de cada ciclo são formadas as bicamadas pela associação dos polieletrólitos de cargas opostas e a repetição desse processo leva a construção de revestimentos multicamadas (Taketa e Beppu, 2014).

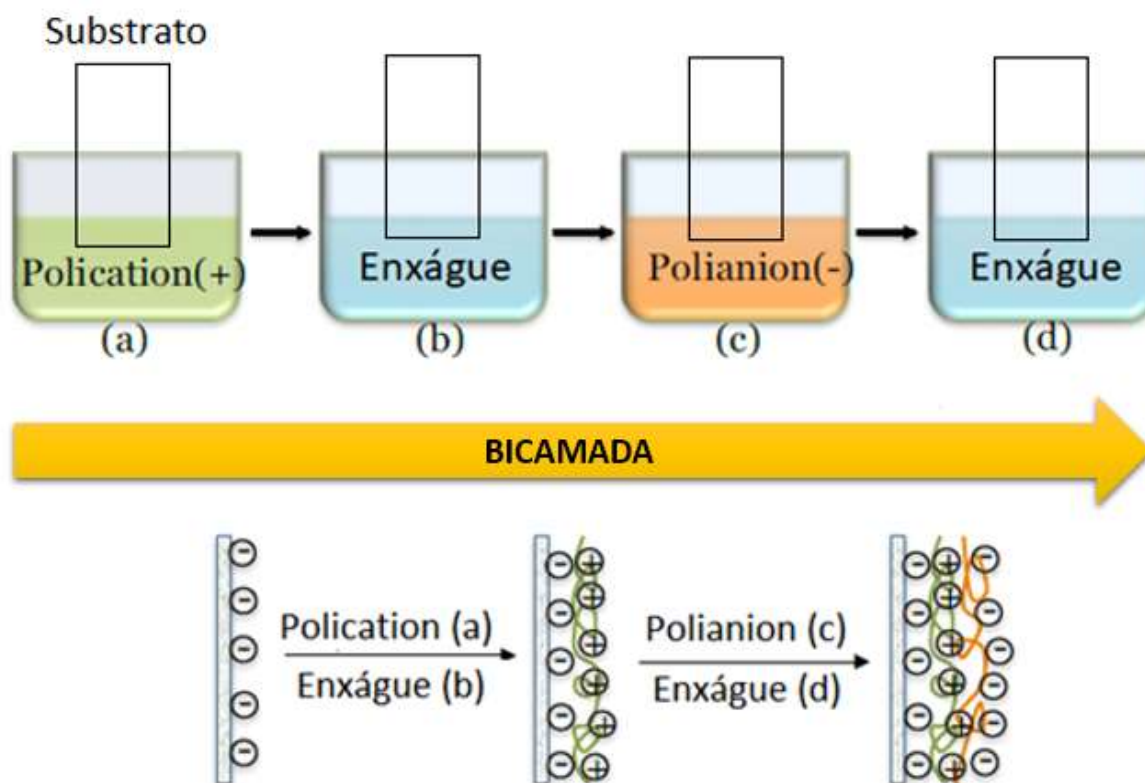


Figura 13 - Método *layer-by-layer*. (a) Imersão do substrato em solução de policação, (b) enxágue, (c) mergulho em solução de polianion e (d) enxágue. Formação das camadas após as imersões nas soluções polieletrólíticas.

A concentração das soluções polieletrólíticas deve disponibilizar uma quantidade suficiente de polieletrólito capaz para promover o excesso de adsorção dessa substância pelo substrato, que por sua vez irá neutralizar e inverter as cargas de superfície, permitindo a associação das camadas subsequentes e o crescimento do revestimento, camada a camada (Richardson *et al.*, 2017).

O processo de crescimento do revestimento, a partir das multi-camadas, é resultado da alternância de carga entre soluções carregadas positiva e negativamente. Nesse sentido, os biomateriais, especificamente polissacarídeos e proteínas, por possuírem regiões carregadas em suas superfícies são comumente empregados como material de deposição no processo de adsorção eletrostática do método LbL (Taketa e Beppu, 2014; Szarpak-Jankowska *et al.*, 2015).

O processo de deposição por atração eletrostática oferece como vantagens principais: a deposição consecutiva camada por camada graças à reversão de carga superficial durante cada etapa; deposição em praticamente todo tipo de superfície em contato como solvente; habilidade de se obter facilmente filmes utilizando diferentes componentes (Gentile *et al.*, 2015).

A natureza dos materiais utilizados na técnica do LbL pode resultar em características distintas quanto ao regime de crescimento e morfologia dos filmes formados. Assim, a compreensão do mecanismo de formação dos filmes multicamadas e a função dos vários parâmetros determinantes na espessura, estrutura e propriedades interfaciais são fundamentais para o projeto apropriado do recobrimento para sua futura aplicação (Ibragimova *et al.*, 2017).

O emprego de técnicas de modificação de superfícies torna possível melhorar as propriedades de materiais já existentes, adequando o material à necessidade pretendida, sem comprometer suas propriedades mecânicas e funcionais permitindo assim a associação de uma infinidade de novas propriedades a um material/dispositivo que originalmente não eram relacionadas ao mesmo. Essas adaptações incluem modificações das propriedades elétricas, óticas, magnéticas, tribológicas, físico-químicas e biológicas do material em questão (Ibragimova *et al.*, 2017; Richardson *et al.*, 2017).

Como consequência, diversas linhas de pesquisa e desenvolvimento dentro das Ciências Biomédicas e das Ciências e Engenharia de Materiais, iniciaram estudos de modificações de superfície, usando o método LbL, modificando e/ou adequando as propriedades fundamentais dos materiais no nível molecular, sendo possível produzir dispositivos para as mais variadas funções, como liberação de fármacos (Araújo *et al.*, 2017), adesão de células (Guo *et al.*, 2017) superfícies antifúngicas (Fabra *et al.*, 2016), antibacterianas (Zhu e Loh, 2015), anticoagulantes (Pan *et al.*, 2014), superfícies com hemocompatibilidade melhoradas (Xi *et al.*, 2014; Bruinsma *et al.*, 2015).

Hossfeld *et al.* (2013) utilizaram a técnica *layer-by-layer* para obter revestimentos bioativos de quitosana com nanopartículas de siRNA (*small interfering RNA*), que são fragmentados de RNA, incorporadas, em stents coronários conseguindo obter um revestimento homogêneo. Além disso, os autores verificaram que o processo de esterilização por óxido de etileno não comprometeu a integridade das multicamadas de polieletrólitos.

Elnaggar *et al.* (2016) também utilizaram o *layer-by-layer* para revestir stent metálicos coronários com lipossomas liberadores de óxido nítrico, visando prevenir a ocorrência de reestenose ou trombose após o implante do stent. Os autores conduziram ensaios de morfologia da superfície recobertas e concluíram que a técnica utilizada se mostrou eficiente na construção de um revestimento homogêneo.

2.9 Qualidade do revestimento de stents

Mesmo com o avanço da tecnologia e o desenvolvimento de novas técnicas de revestimento, a ocorrência de defeitos no recobrimento ainda é recorrentes e se apresenta como o desafio a ser superado na área da intervenção vascular (Bedair *et al.*, 2014; Hopkins *et al.*, 2016).

Irregularidades na superfície de revestimento podem implicar possíveis comprometimentos na liberação do fármaco. Vários autores têm estudado os tipos e severidades dos defeitos no recobrimento de stents identificando e listando os mais representativos, como apresentados na Tabela 1 (Levy *et al.*, 2009; Basalus *et al.*, 2010; Balss *et al.*, 2012; Hopkins *et al.*, 2016).

Tabela 3 – Categorias de defeitos de revestimento em stents.

Categoria	Defeito
I. Irregularidades com espessura reduzida	IA. Áreas de revestimento sem uniformidade (Figura 1 (a) e (b)); IB. Fendas (Figura 1 (c)); IC. Diferença de espessura na junção das hastes (Figura 1 (d)); ID. Excesso pontual de revestimento (Figura 1 (e), (f) e (g)).
II. Irregularidade com revestimento não-homogêneo	IIA. Delaminação com exposição da superfície metálica (Figura 1 (h)); IIB. Delaminação sem exposição da superfície metálica (Figura 1 (i) e (j)); IIC. Pequena falha (Figura 1 (k)); IID. Rugosidade na forma de irregularidades lineares (Figura 1 (l)); IIE. Revestimento sem uniformidade. (Figura 1 (m))
III. Irregularidade com o deslocamento do revestimento	IIIA. <i>Webbing</i> com exposição da superfície metálica (Figura 1 (n)); IIIB. <i>Webbing</i> sem exposição da superfície metálica (Figura 1 (o)) IIIC. Filamentos de revestimento expostos (Figura 1 (p))

Fonte: Adaptado de Bedair *et al.* (2014).

Revestimento sem uniformidade com áreas revestidas e não revestidas, podem originar eventos de reestenose; revestimentos não-homogêneos estão diretamente

relacionados ao aumento da trombogenicidade; deslocamento de revestimento podem ocasionar casos de microembolismo, como resposta a presença de material revestido que se desprendeu da prótese. A Figura 14 apresenta micrografias feitas por microscopia eletrônica de varredura de defeitos encontrados em stents comerciais com revestimento (Bedair *et al.*, 2014).

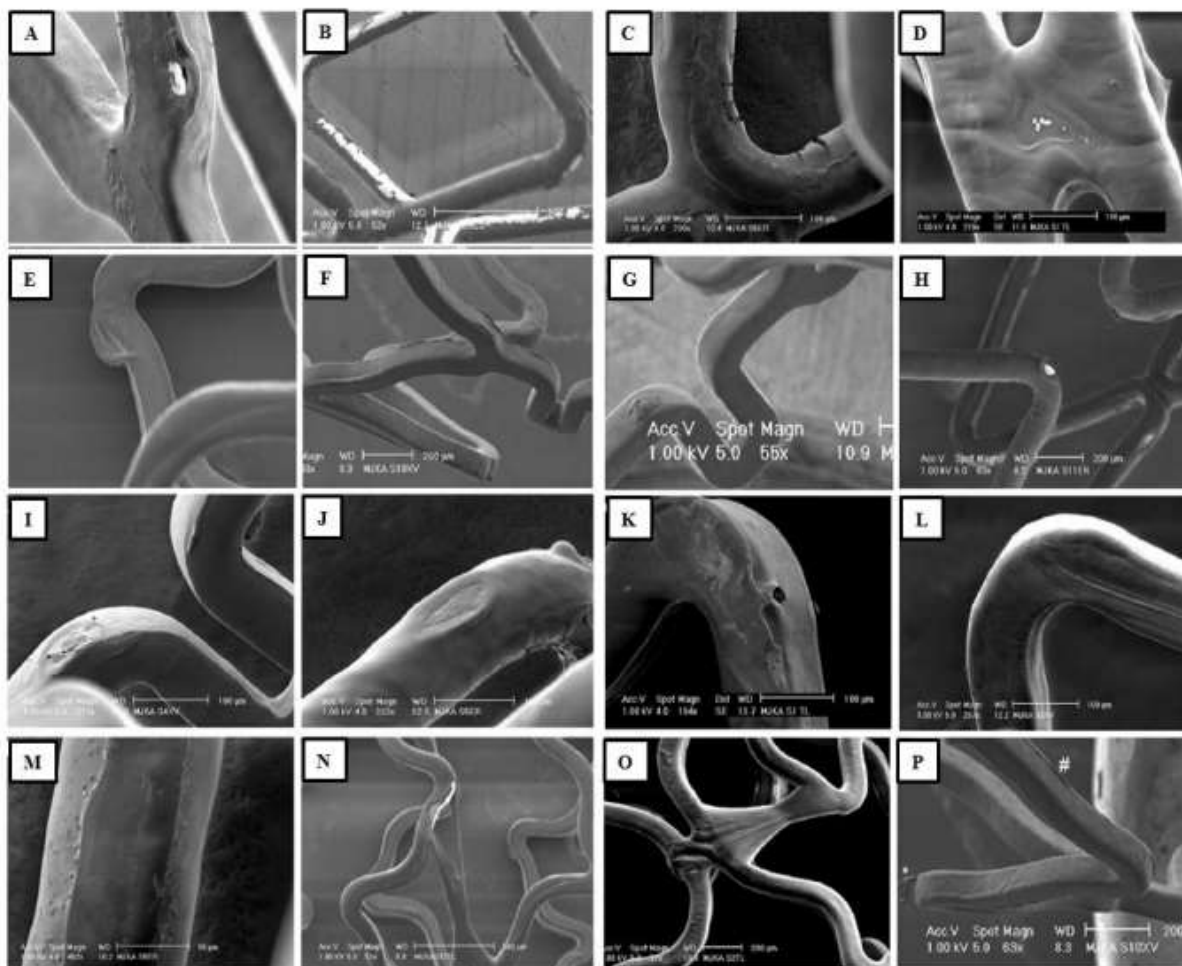


Figura 14 - Micrografias em MEV de defeitos encontrados no revestimento de stents comerciais (Bedair *et al.*, 2014).

A ASTM F2743–11 *Standard Guide for Coating Inspection and Acute Particulate Characterization of Coated Drug-Eluting Vascular Stents Systems*, recomenda práticas de inspeção de revestimentos a partir de técnicas de caracterização, como: Microscopia Ótica e a Microscopia Eletrônica de Varredura, listando as principais vantagens e desvantagens na utilização de cada técnica caracterização, descritas nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 – Vantagens e Desvantagens da Microscopia Ótica (MO) na Inspeção de Revestimentos

Vantagens	Desvantagens
<p>A. Ampliações menores (<100x) que aceleram o tempo de inspeção;</p> <p>B. Permite a inspeção de sistema de entrega como um todo;</p> <p>C. Não possui limitação quanto ao tamanho do stent;</p> <p>D. Técnica não destrutiva;</p> <p>E. Percepção de coloração (se necessário)</p>	<p>F. Áreas de foco limitadas;</p> <p>G. Menor profundidade de foco se comparada com o MEV;</p> <p>H. Reflexo da luz pode dificultar as análises.</p>

Fonte: Adaptada de ASTM F2743-11 (2011).

Tabela 5 – Vantagens e Desvantagens da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) na Inspeção de Revestimentos

Vantagens	Desvantagens
<p>A. Maior profundidade de foco se comparada com o MO;</p> <p>B. Altas ampliações (chegando a 10.000x);</p>	<p>C. Pode ser uma técnica destrutiva;</p> <p>D. Pode ser necessária a metalização da amostra;</p> <p>E. Ensaio lento quando comparada a facilidade do MO;</p> <p>F. Não inspeção do comprimento total pode não ser possível;</p> <p>G. Imagens apenas em escalas de cinza.</p>

Fonte: Adaptada de ASTM F2743-11 (2011).

O desenvolvimento de novas técnicas de revestimento baseadas na aplicação de novos materiais, como os biopolímeros, e o aprimoramento das metodologias que já existem podem ser uma estratégia de sucesso que possibilite ultrapassar a barreira imposta pelos defeitos de revestimentos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida a partir de abordagens experimentais, podendo ser classificada como pesquisa aplicada de caráter exploratório, uma vez que visa gerar conhecimentos dirigidos à solução de problemas específicos com resultados replicáveis, identificando fatores que determinam ou contribuem para a ocorrência dos fenômenos estudados (Marconi e Lakatos, 2011).

As várias etapas metodológicas foram realizadas com o apoio da infraestrutura do Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO), vinculado à Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande.

3.2 Materiais e reagentes

- Stents vasculares autoexpansíveis de Níquel-Titânio (120 mm de comprimento e 6 mm de diâmetro);
- Quitosana em pó de médio peso molecular (CERTBIO).
- Alginato de sódio – (VETEC Química Fina®)
- Curcumina longa (Sigma Aldrich®);
- Álcool etílico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) – (VETEC Química Fina®);
- Ácido fluorídrico, 40% P.A. (HF) - (VETEC Química Fina®);
- Ácido nítrico, 65% P.A. (HNO_3) - (VETEC Química Fina®);
- Ácido acético glacial, 99,8% P.A. (CH_3COOH) - (Fabricante VETEC Química Fina®);
- Phosphate Buffered Saline (PBS) – (Sigma Aldrich®);
- Água Deionizada;

3.3 Métodos

A Figura 15 apresenta o fluxograma das atividades e etapas metodológicas realizadas durante a pesquisa.

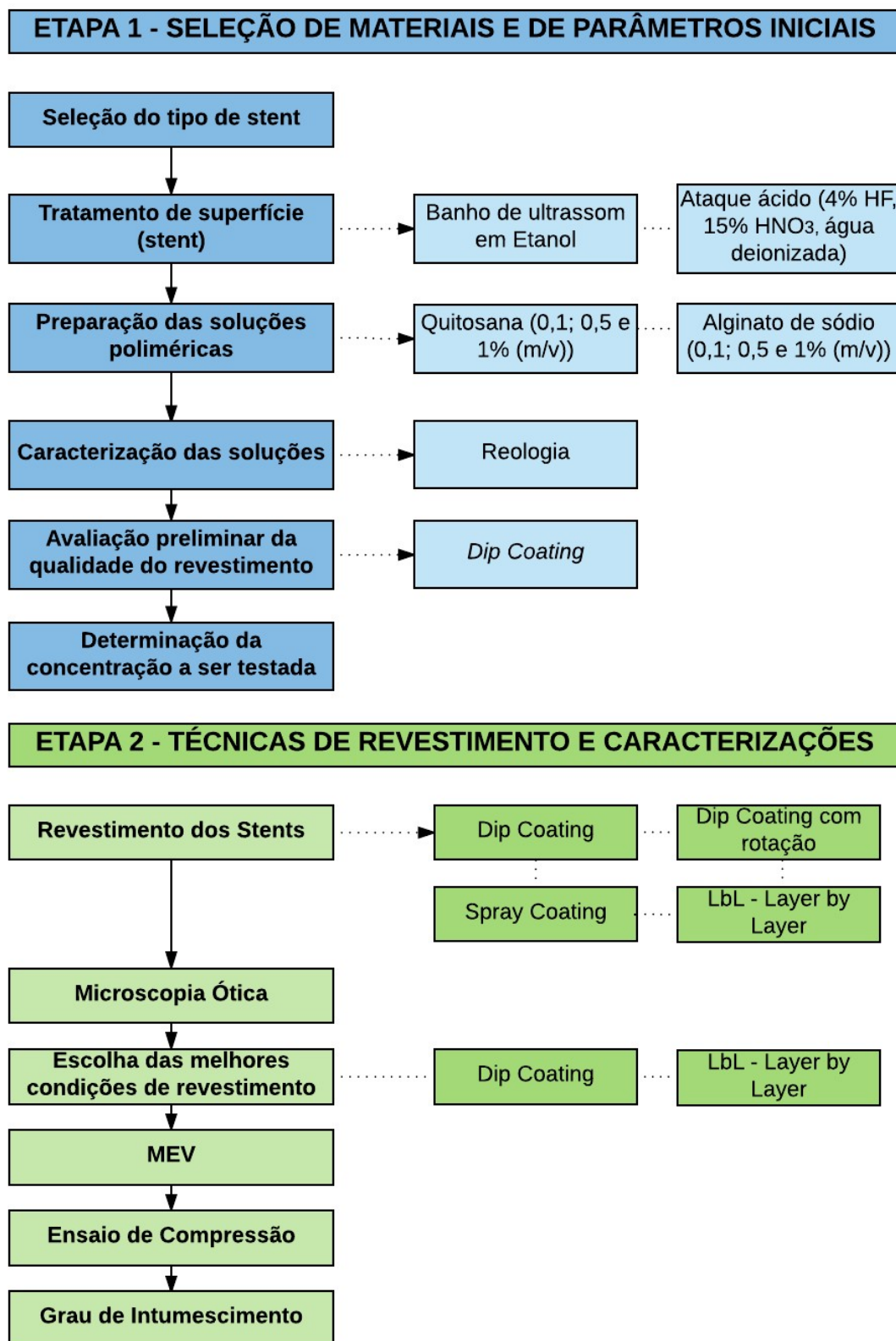


Figura 15 - Fluxograma ilustrativo das etapas de desenvolvimento da pesquisa.

Como apresentado na Figura 15, este estudo pode ser dividido em duas etapas: seleção de materiais e de parâmetros iniciais e o desenvolvimento das técnicas de revestimento e caracterizações. Essa divisão buscou avaliar as técnicas de revestimento e as concentrações das soluções poliméricas, visando dar suporte a tomada de decisão, no que diz respeito a escolha dos parâmetros a serem adotados inicialmente e otimizando o processo de desenvolvimento da pesquisa.

3.3.1 Seleção de materiais e de parâmetros iniciais

Na primeira etapa buscou-se avaliar quais parâmetros seriam adotados inicialmente, como: tipo de stent e concentração das soluções poliméricas. Visando diminuir o número de variáveis, pela eliminação de parâmetros julgados inadequados, a partir da análise dos resultados obtidos.

3.3.1.1 Seleção do tipo de stent

O stent estudado foi do tipo autoexpansível, fabricado a partir de liga níquel-titânio, indicado para as artérias ilíaca e femoral. A Figura 16 apresenta o conjunto do dispositivo de entrega com o stent sendo liberado e totalmente expandido.

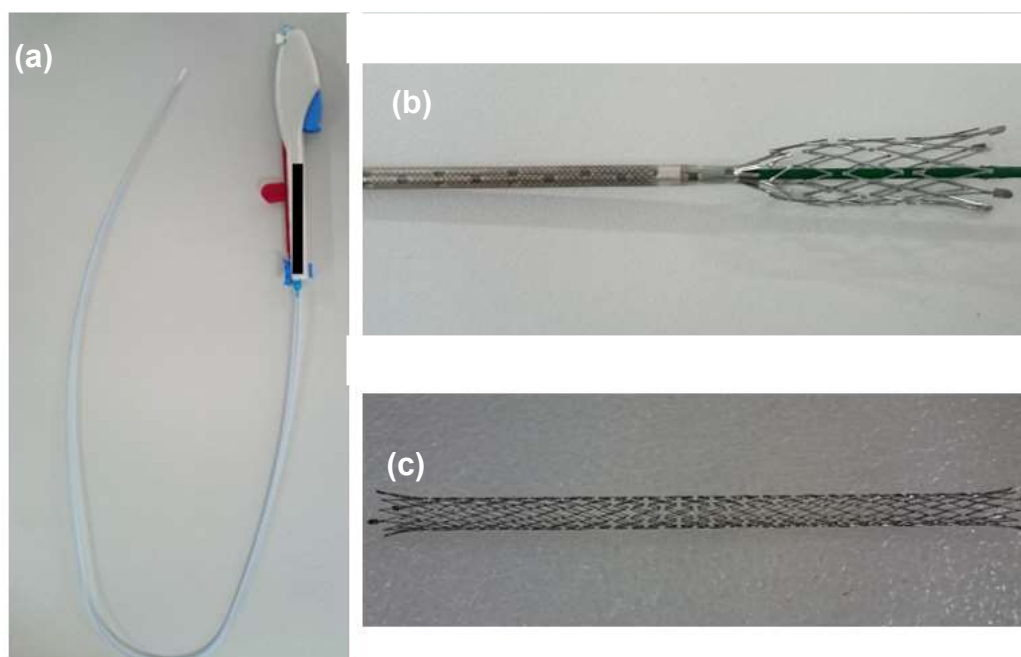


Figura 16 - a) Dispositivo de entrega; b) Processo de liberação do Stent e c) Stent livre.

Cada stent possui 120 mm de comprimento, 8 mm de diâmetro total e 0,2 mm de diâmetro de fio (Figura 17). No intuito de melhorar o manuseio das amostras, os stents foram divididos em segmentos menores com, aproximadamente, 16 mm de comprimento cada.

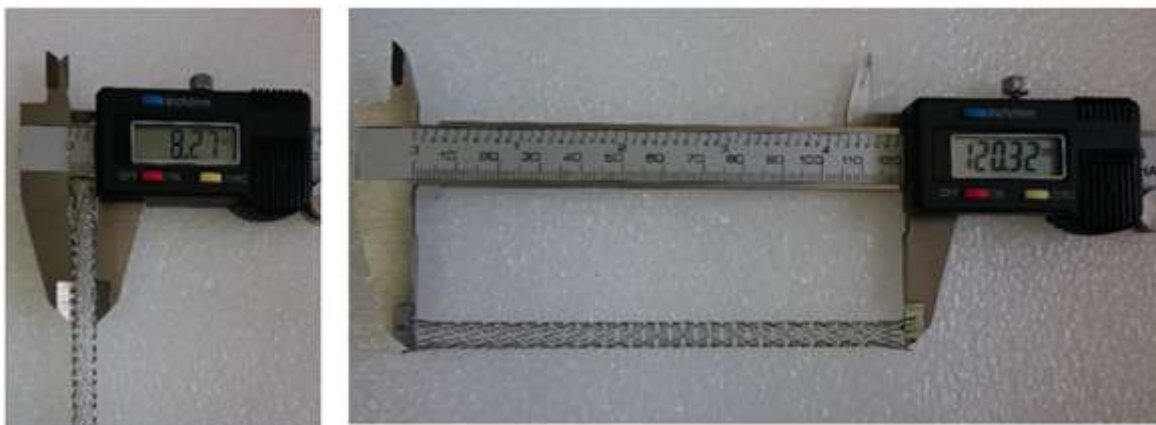


Figura 17 - Dimensões do stent.

3.3.1.2 Tratamento de superfície dos stents

Para limpeza e descontaminação dos stents, foi utilizado um banho de ultrassom (modelo UltraCleaner 1400A), com potência de 100 W e frequência de 40kHz, em etanol durante 30 minutos, seguido de enxague em água deionizada e secagem em estufa bacteriológica (Modelo 5X10 DTSN) à 30°C por uma hora.

Após a limpeza, os stents foram submetidos a um ataque ácido, em solução de água deionizada contendo 4% de ácido fluorídrico (HF) e 15% de ácido nítrico (HNO₃), por um minuto, seguido de enxague em água deionizada para remoção completa da solução ácida e secagem em estufa à 30°C por uma hora e logo em seguida levados para caracterização por microscopia ótica, a fim de visualizar a superfície metálica dos mesmos.

3.3.1.3 Preparação das soluções poliméricas

A quitosana utilizada nesse estudo foi produzida pelo Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste – CERTBIO, a partir de exoesqueletos de camarão (*Litopenaeus vannamei* Boone), possui médio peso

molecular, coloração esbranquiçada, teor de cinzas abaixo de 0,063%, livre de cálcio e grau de desacetilação acima de 90%, se encontrando dentro da faixa necessária para solubilização adequada em soluções diluídas de ácidos fracos, com baixo teor de insolúveis nas soluções (Antonino, 2016).

A melhor concentração para a solução de quitosana foi determinada de maneira exploratória. A literatura não é unânime quanto a concentração ideal de quitosana a ser utilizada no preparo da solução. Alguns autores trabalharam com concentrações de 1% (m/v) de quitosana (Li, P. *et al*, 2013; Kowalski *et al.*, 2015), outros usaram soluções com 0,5% m/v de quitosana (Shu *et al.*, 2011; Meng *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2016) e 0,1% m/v (Prakash, 2014; Taketa e Beppu, 2014). Como a quitosana utilizada nesses trabalhos possuem diferentes origens e diferentes propriedades (grau de desacetilação, peso molecular, entre outros), optou-se por preparar soluções com as três concentrações citadas anteriormente, no intuito de explorar o comportamento da quitosana produzida no CERTBIO.

Sendo assim, inicialmente testou-se uma solução de 1% v/v de ácido acético e água deionizada com uma concentração de 1% m/v de quitosana. A partir dos resultados obtidos com essa solução, foram preparadas outras duas soluções com concentrações inferiores, 0,5 e 0,1% m/v de quitosana.

Paralelamente, foram preparadas soluções de alginato de sódio em três concentrações: 0,1, 0,5 e 1% m/v solubilizadas em água deionizada. Essas soluções foram utilizadas no desenvolvimento da técnica de *Layer-by-Layer*.

3.3.1.4 Revestimento e caracterização

A primeira etapa teve como objetivo a escolha a melhor concentração da solução de quitosana que seria utilizada no decorrer da pesquisa. Essa avaliação aconteceu a partir de ensaios de reologia nas soluções preparadas e testes preliminares de revestimento dos stents.

A caracterização reológica foi realizada para as soluções de 0,1, 0,5 e 1% (m/v) de quitosana e de alginato de sódio. No Reômetro *Haake Mars III*, equipado com geometria de placas paralelas e um sistema com banho térmico para controle de temperatura. Foi utilizada a temperatura constante de 27°C e gap de 0,5 mm.

Para avaliação da viabilidade de revestimento, amostras do stent foram revestidas pela técnica de *dip coating*, sendo imersos na solução de quitosana a uma

velocidade constante, permanecendo imerso por um minuto e foi retirado, também a uma velocidade constante. Esse processo (imersão/retirada) foi repetido dez vezes para cada amostra. Foram revestidas cinco amostras de stent, para cada concentração de solução 0,1, 0,5 e 1% m/v.

Posteriormente, os stents revestidos foram caracterizados por Microscopia Ótica, com ampliações entre 50x e 1050x, para avaliação da qualidade da superfície revestida e determinação da concentração de quitosana que seria utilizada no decorrer da pesquisa.

3.3.2 Técnicas de revestimento

Buscando desenvolver e analisar os resultados obtidos por uma metodologia de revestimento, foram testadas quatro técnicas diferentes para o recobrimento dos stents: *dip coating*, *dip coating* com rotação e *spray coating* e *layer-by-layer*,

Para execução das técnicas *dip coating* e *layer-by-layer* foi utilizada uma máquina universal de ensaios INSTRON 6622 visando garantir o deslocamento adequado da amostra durante o processo de imersão, como: velocidade controlada, deslocamento total programado e níveis reduzidos de vibração.

As técnicas *dip coating com rotação* e *spray coating* são adaptações propostas buscando adequar a técnica ao tipo de substrato, no caso o stent.

3.3.2.1 Dip coating

O revestimento por *dip coating* (Figura 18) se deu a partir da imersão, com velocidade controlada (1mm/min) dos stents na solução de quitosana (0,1%, 0,5% e 1,0%) A amostra permaneceu imersa por dez minutos e logo em seguida retirada e colocada para secar em estufa à 30°C, resultando na evaporação do solvente. Logo após a secagem, a mesma amostra foi submetida a nova imersão e os passos seguintes foram repetidos 10 vezes para cada amostra.

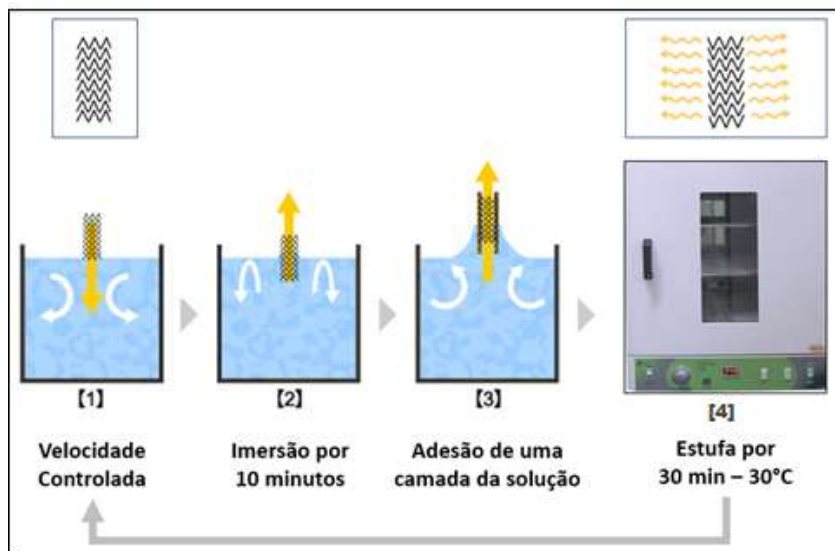


Figura 18 - Etapas do revestimento pela técnica *dip coating*.

3.3.2.2 *Dip coating* com rotação

Como os stents apresentam uma geometria em forma de malha como um tubo com discontinuidades ao longo do comprimento, foi feita uma adaptação na técnica de *dip coating* introduzindo uma etapa de rotação durante o tempo de imersão.

O processo de *dip coating* com rotação é ilustrado na Figura 19.

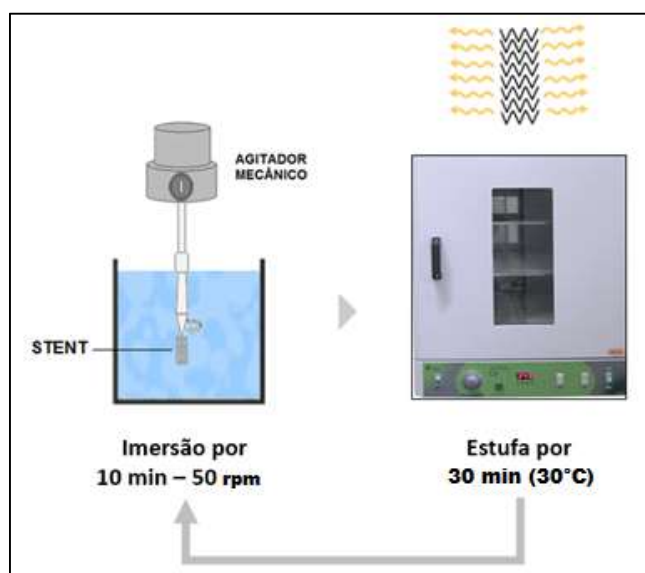


Figura 19 - Representação da montagem para imersão sob rotação.

Para isso, os stents foram presos ao eixo de um agitador mecânico por meio de uma pinça e submetido a uma rotação de 50 rpm, quando imerso na solução de

quitosana (0.5%). Assim, o fluido da solução foi melhor distribuído ao longo das hastes dos stents, o que pode ajudar a prevenir o acúmulo de solução entre as hastes. Esse procedimento foi repetido 10 vezes.

3.3.2.3 *Spray coating*

Para essa técnica a solução de quitosana (0,5%) foi submetida a pressurização transformando o líquido de baixa viscosidade em pequenas partículas em forma de spray.

Para construir o revestimento, os stents foram submetidos a baixa rotação (100 rpm) com o jato de spray direcionado diretamente sobre ele. Foram feitas dez camadas de revestimento, sendo que cada sessão de jateamento teve duração de um minuto, com um fluxo de 10 mL/min (Figura 20).

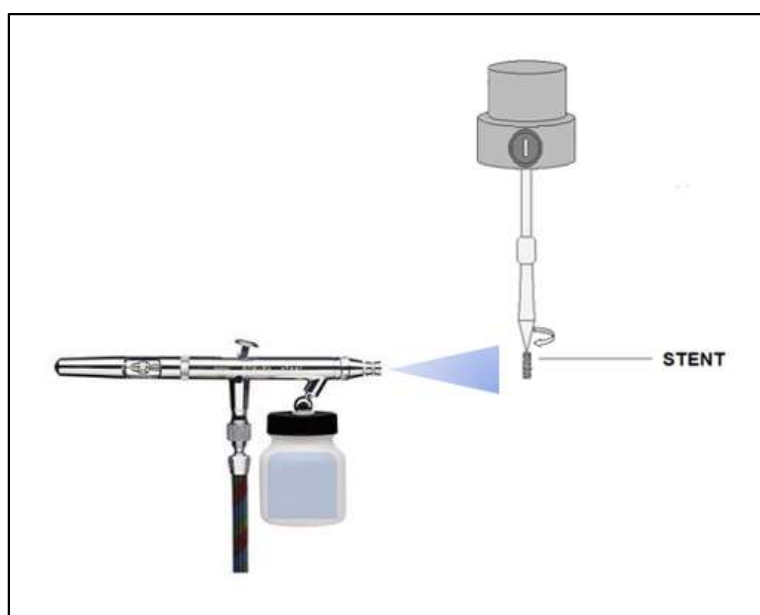


Figura 20 - Técnica de revestimento por spray coating.

3.3.2.4 *Layer-by-Layer*

A técnica de *layer-by-layer* foi utilizada usando como polieletrólitos a quitosana (polieletrólito catiônico) e o alginato de sódio (polieletrólito aniônico). A partir da análise do comportamento reológico das soluções de poliméricas e da qualidade do revestimento das primeiras amostras, optou-se por utilizar soluções com

concentrações de 0,5% (m/v) para a quitosana e 0,1 e 0,5% (m/v) para o alginato de sódio.

A deposição dos biopolímeros foi realizada por imersões alternadas dos stents, com velocidade controlada (1mm/min), em soluções de cargas opostas por 10 minutos, intercaladas por lavagens em água deionizada durante 1 minuto, seguido de mais 1 minuto. O revestimento foi constituído de 5 bicamadas, começando com alginato e terminando com quitosana, indicando assim que a camada mais externa é de quitosana. Ao término do processo de revestimento as amostras foram colocadas em estufa por 30 min à 30°C. A Figura 21 mostra a sequência de imersões e lavagem submetidas na construção de cada bicamada.



Figura 21 - Tempos de deposição do substrato nas soluções de polímeros e de lavagem em água. QUI – quitosana e ALG – alginato de sódio.

3.3.3 Técnicas de caracterizações

O final da segunda etapa abrangeu a caracterização das amostras que apresentaram revestimentos julgados satisfatórios, após inspeção em Microscópio Ótico e avaliação qualitativa guiada pela ASTM F2743-11.

3.3.3.1 Microscopia Ótica

Para a caracterização da morfologia da superfície dos stents utilizou-se um microscópio ótico Hirox de reflexão e transmissão com variação de aumentos entre 50x e 1200x, acoplado a uma estação de análise de imagens.

A superfície dos stents foi analisada em três momentos diferentes: Primeiro, quando desmontado do sistema de entrega. Segundo, imediatamente após o ataque ácido e por último, após o processo de revestimento. Dessa forma, foi possível analisar a endoprótese antes e depois de todos os processos de modificação de superfície aos quais ela foi submetida.

3.3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Após a análise por microscopia ótica, as amostras com a melhor qualidade de revestimento foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) utilizando um microscópio eletrônico de varredura de bancada, PHENON, modelo MEV PROX, (PHENOM WORD), com aumento de até 45.000x, profundidade de foco de 1 mm, resolução de 30 nm, 5,10 e 15 kV, baixo vácuo e pressão variada (1 a 270 Pa), sem recobrimento metálico.

3.3.3.3 Ensaio de Compressão

O ensaio de compressão objetiva avaliar a capacidade do dispositivo de resistir a deformação permanente a partir da aplicação de um carregamento não radial realizado por placas paralelas, como ilustrado na Figura 22.

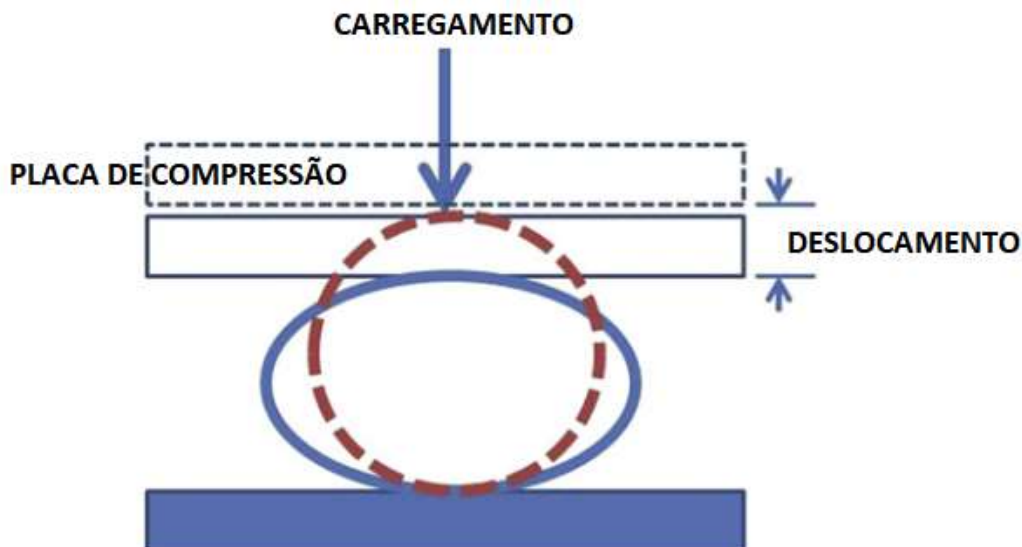


Figura 22 - Ilustração do ensaio de compressão em placas paralelas (Wu e Cao, 2013).

Na figura 22, o stent não deformado (círculo vermelho) é submetido a um ciclo de compressão (carregamento e descarregamento) entre duas placas paralelas até um certo nível de deformação (círculo azul). Paralelamente, a máquina de teste monitora os níveis de força e deslocamento desenvolvidos durante o ensaio.

Foram realizados ensaios das amostras de stents com e sem revestimento, com o objetivo de observar se a presença de revestimento iria alterar significativamente o comportamento mecânico dos stents.

Nesse sentido realizou-se o ensaio de compressão em placas planas paralelas de amostras dos stents com e sem o revestimento, utilizando uma máquina universal de ensaios INSTRON 6633, equipada com uma célula de carga de 500 N e com uma taxa de deslocamento de 1 mm/min (Wu e Cao, 2013).

3.3.3.4 Grau de Intumescimento

Os stents revestidos foram caracterizados quanto ao grau de intumescimento. Dessa forma o grau de intumescimento foi determinado pela razão entre a massa de água absorvida pelo revestimento, quando imerso em solução tampão salina (*Phosphate Buffered Saline* - PBS), com pH = 7,4, e a massa inicial do stent antes da imersão.

O grau de intumescimento em função do tempo, foi calculado pela equação 1:

$$\%GI = \frac{(m_t - m_0)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

m_t : massa da amostra no tempo t.

m_0 : massa inicial da amostra.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Comportamento reológico das soluções poliméricas

4.1.1 Quitosana

A Figura 23 ilustra uma maior dependência da tensão de cisalhamento em função da taxa cisalhante a medida que se aumenta a concentração das soluções. Para as três concentrações, pode-se considerar que o comportamento reológico foi newtoniano, devido a inclinação constante das retas.

O aumento da concentração de polímero na solução é diretamente proporcional ao aumento das cadeias emaranhadas, assim o movimento de cada cadeia se torna mais limitado, em virtude do aumento do emaranhamento.

As conclusões publicadas por Hwang e Shin (2000) corroboram o comportamento pseudoplástico para as soluções de quitosana (grau de desacetilação de 91%) com concentrações superiores a 2%.

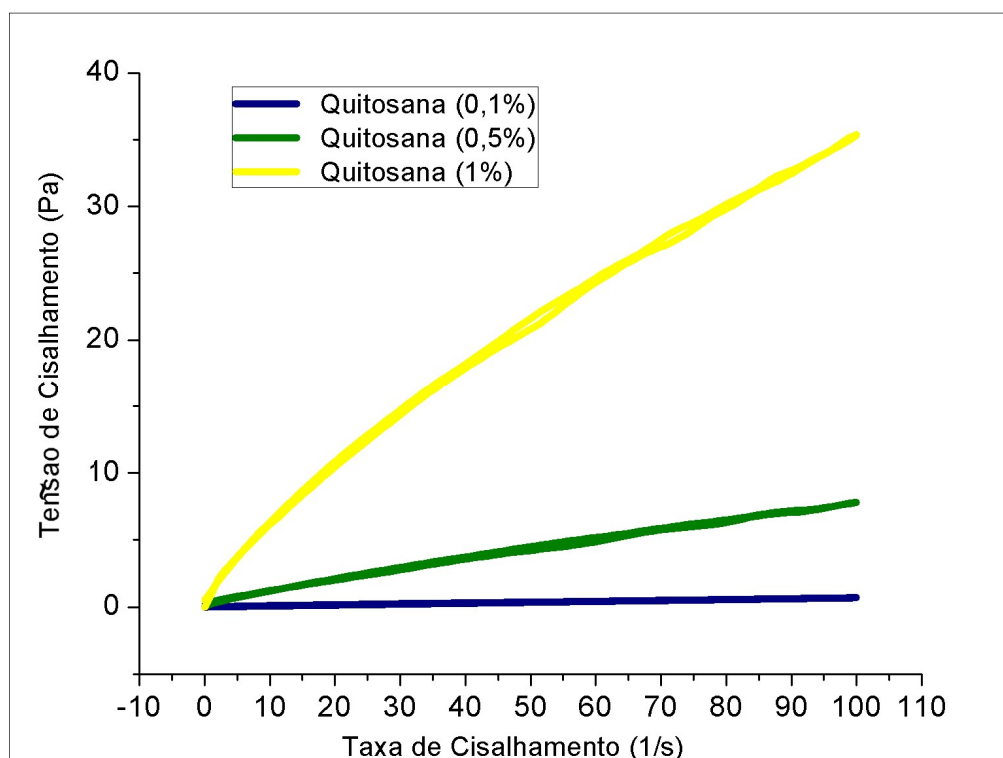


Figura 23 - Tensão de Cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as soluções de quitosana.

O comportamento reológico para as soluções de quitosana baseado na evolução da viscosidade aparente apresentou alterações à diferentes concentrações, conforme apresenta a Figura 24.

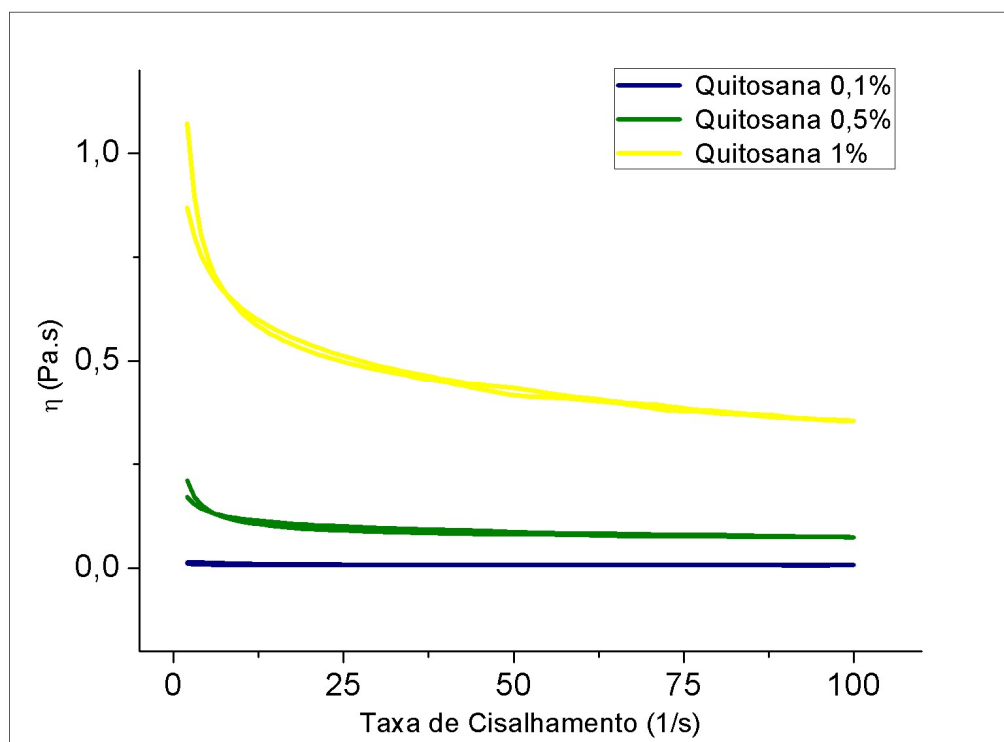


Figura 24 -- Viscosidade em função da taxa de cisalhamento para as soluções de quitosana.

Para a solução com concentração de 0,1%, a viscosidade permaneceu constante com o aumento da taxa de cisalhamento. As soluções com concentração de 0,5% se comportaram de forma pseudoplástica, ou seja, a viscosidade da solução diminuiu em função do aumento da taxa de cisalhamento. À concentração de 1%, as soluções de quitosana apresentaram um comportamento tipicamente pseudoplástico, uma diminuição progressiva da viscosidade com aumento da taxa de cisalhamento, durante todo o intervalo de ensaio.

A temperaturas constantes, o comportamento pseudoplástico mais forte a baixas taxas de cisalhamento é perceptível em soluções mais concentradas, pois as cadeias poliméricas estarão em uma conformação aleatória. À medida que um polímero é deformado, devido à aplicação de uma tensão, as cadeias ficam mais retilíneas, tornando-se mais alinhadas, e o sistema se torna mais ordenado, diminuindo a viscosidade da solução. Os resultados são concordantes com aqueles

encontrados por Arancibia *et al.* (2015) e Costa *et al.* (2015), que observaram o aumento da viscosidade com o aumento da concentração.

4.1.2 Alginato de sódio

A Figura 25 apresenta as curvas de fluxo para as soluções de Alginato de Sódio nas concentrações estudadas. A baixas concentrações (0,1%), a curva apresenta um comportamento tipicamente newtoniano, mas com o aumento da concentração, o comportamento reológico é alterado, passa a ser pseudoplástico, e aumenta a viscosidade para uma mesma taxa de cisalhamento.

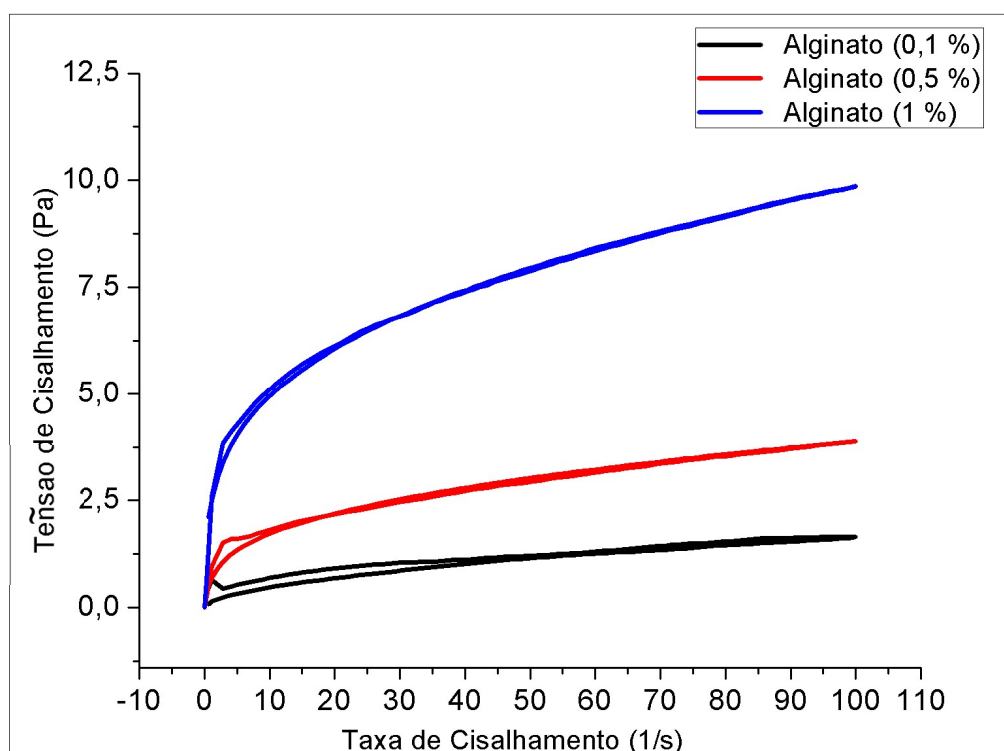


Figura 25 - Tensão de Cisalhamento em função da taxa de cisalhamento para as soluções de alginato de sódio.

Analisando as curvas de viscosidade (Figura 26) observa-se que houve uma redução inicial com a aplicação do cisalhamento, mas à medida que a taxa aumenta os valores de viscosidade tendem a se manter constantes. Isso pode ser entendido quando se analisa o fenômeno levando em consideração as interações intermoleculares e a concentração de polímero nas soluções.

Belalia e Djelali (2014) citam que a estrutura do Alginato de Sódio nas dispersões é formada pela disposição espacial do ácido glicurônico com o íon de sódio resultando numa estrutura rígida, que obriga a aplicação de forças maiores para romper a estrutura quando o sistema é submetido a um gradiente de cisalhamento.

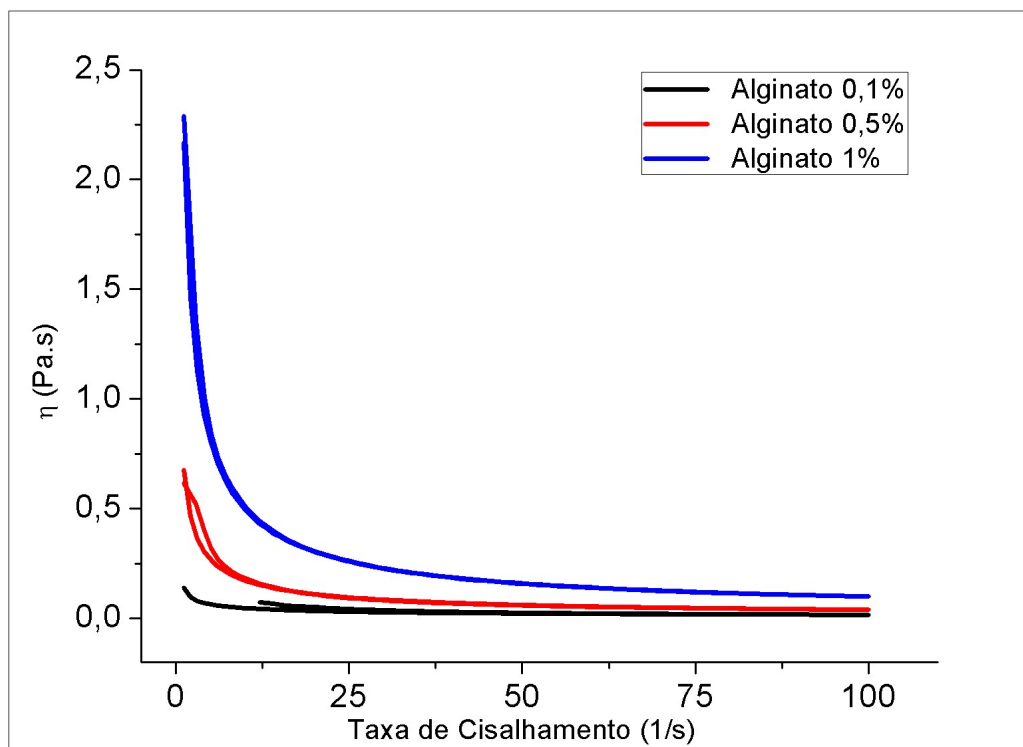


Figura 26 - Viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento para as soluções de Alginato de Sódio.

A solução com concentração de 1% de alginato de sódio não foi testada em nenhuma técnica de revestimento em virtude da viscosidade relativamente alta quando comparada com a viscosidade das soluções de quitosana.

4.2 Microscopia Ótica

4.2.1 Tratamento de superfície – Etapa 1

A Figura 27 apresenta as micrografias dos stents após retirada do sistema de entrega e depois de lavado em etanol. É possível perceber que os stents possuem uma malha de células abertas, formada a partir da ligação de elementos fundamentais no formato de losango repetidos ao longo da malha (Figura 27b). A geometria desse

elemento padrão se mostrou determinante na qualidade da adesão do revestimento sem a ocorrência de defeitos.

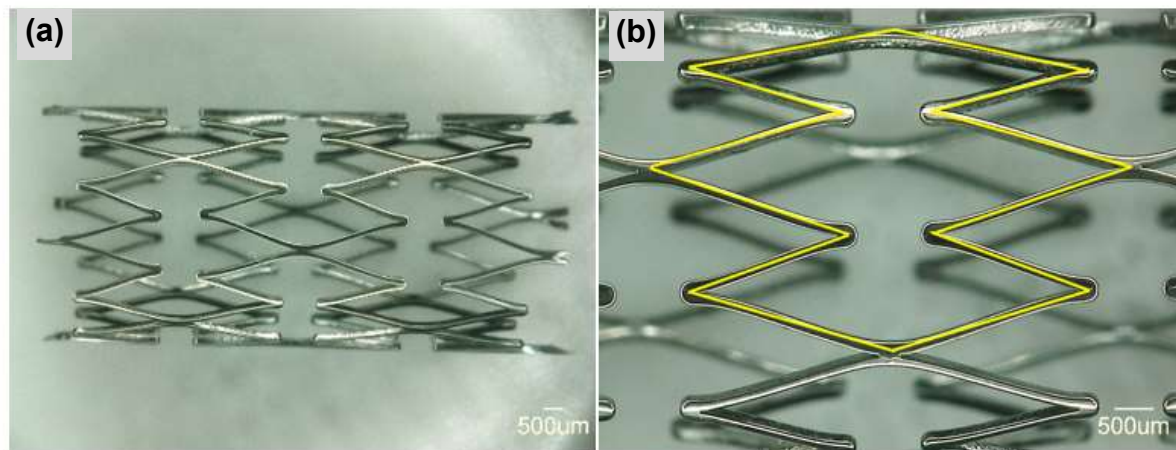


Figura 27 - Stent comercial limpo em etanol. (a) Aumento de 40x (b) aumento de 160x destaque geométrico da unidade padrão que se repete formando a malha do stent.

Uma vez limpos, os stents foram submetidos a um ataque ácido, com o objetivo de remover qualquer resquício de partículas contaminantes e preparar a superfície para o revestimento, propiciando uma melhor adesão do revestimento ao substrato metálico.

A Figura 28 apresenta as micrografias de microscopia ótica dos stents antes (Figura 28a e 28c) e após o ataque ácido (Figura 28b e 28d), onde após o ataque ácido a superfície se encontra livre de qualquer contaminante que pudesse ter permanecido mesmo com a lavagem em álcool etílico, como também a natureza do ácido do tratamento químico favorece a adesão da solução polimérica de revestimento.

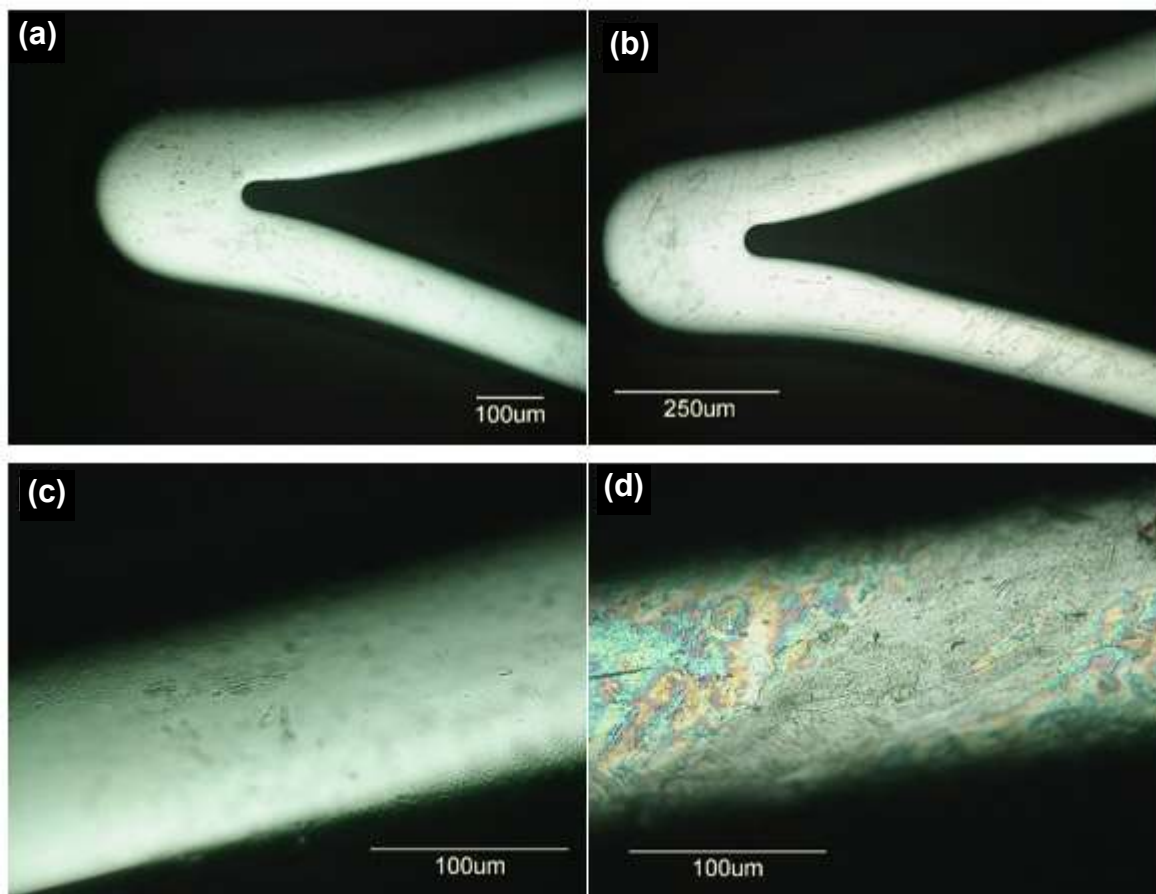


Figura 28 - Microscopia ótica antes e depois do ataque ácido. a) antes (350x) b) depois (350x) c) antes (1050x) d) depois (1050x).

4.2.2 Dip coating – Etapa 1

A Figura 29 apresenta as micrografias dos stents revestidos por *dip coating*, nas três concentrações inicialmente estudadas 0,1, 0,5 e 1% de quitosana. Analisando as imagens é possível perceber que para a concentração de 1% m/v (Figuras 29a e 29d), a solução polimérica ficou acumulada entre as hastes do stent (Figura 29a), como também, em outros pontos, preencheu completamente os interstícios entre as células abertas (Figura 29d). Esse acúmulo pode ser resultado da maior concentração da solução (1% m/v) da solução, que cobriu todos os espaços e mesmo com a secagem do solvente ainda permitiu que uma quantidade de polímero ficasse localizada entre as hastes. Ou ainda, a ação da gravidade durante o processo de secagem ocasionou o acúmulo da solução na região entre as hastes.

Segundo Bedair *et al.* (2014), o acúmulo de revestimento entre as hastes do stent é chamado de *webbing*, por lembrar o formato de teias. Defeitos do tipo *webbing* podem interferir no implante do stent, uma vez que a deformação elástica do filamento

de polímero impede sua expansão completa, reduzindo a tensão entre a parede do vaso e o stent o que pode resultar na migração da endoprótese.

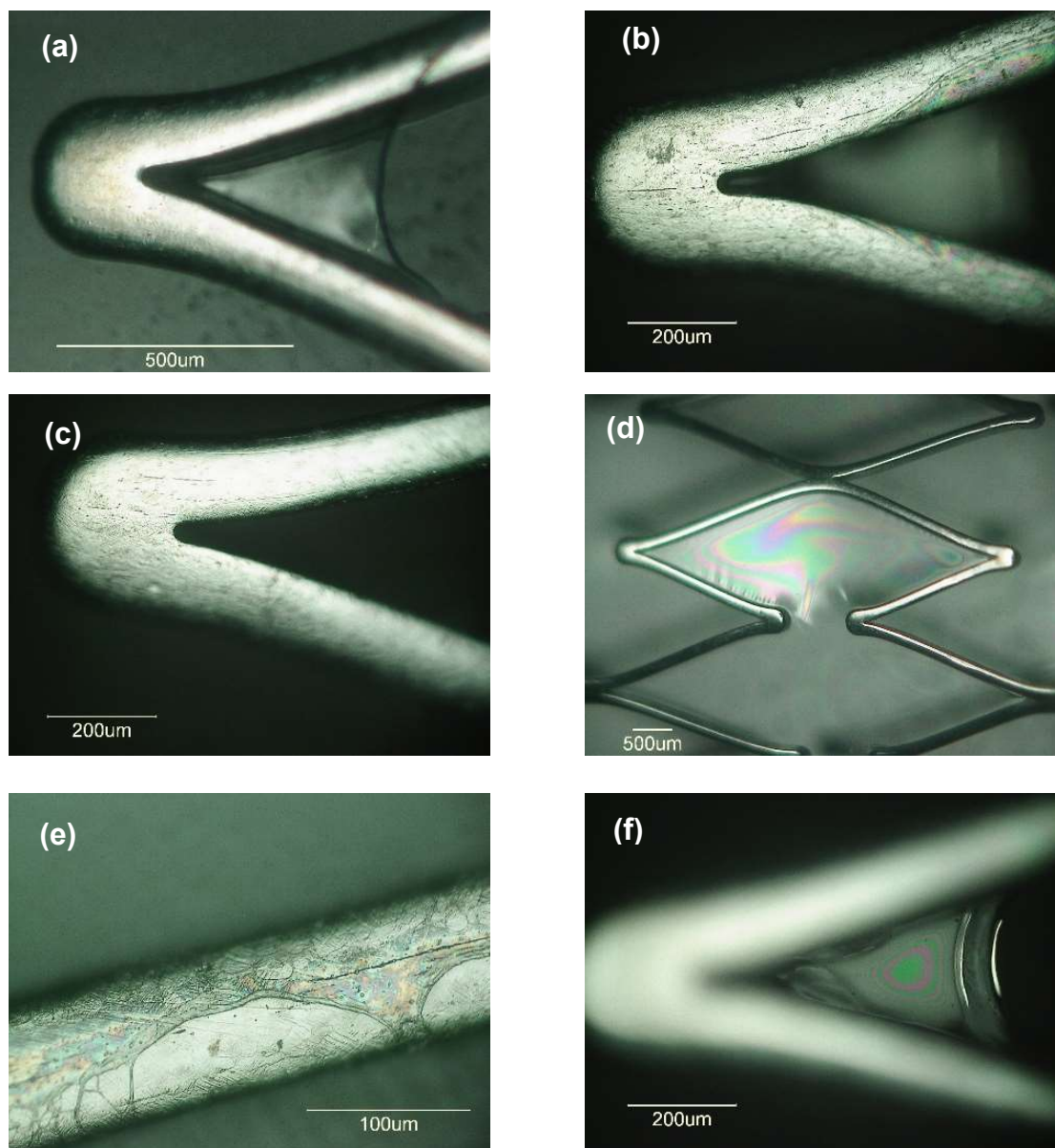


Figura 29 - Micrografias de microscopia ótica do stent revestido: (a) 1% m/v (350x), (b) 0,5% m/v (350x), (c) 0,1% m/v (350x), (d) 1% m/v (50x), (e) 0,5% m/v (1050x) e (f) 0,1% m/v (700x).

Na Figura 29, as micrografias referentes à concentração de 0,1 % m/v, não indicam a presença de superfícies revestidas, todavia ainda é perceptível *webbing* (Figura 29c e 29f).

Para a concentração de 0,5% m/v de quitosana (Figura 29b e 29e), é possível perceber a presença de revestimento ao longo das hastes (Figura 29e), entretanto

não há uniformidade, nem regularidade nas partes revestidas. Além disso, também ocorreu *webbing* significativo no encontro das hastes em outros pontos (Figura 29b).

4.2.3 *Dip coating* com rotação – Etapa 1

A Figura 30 apresenta as imagens de microscopia ótica para os stents revestidos por *dip coating* com rotação.

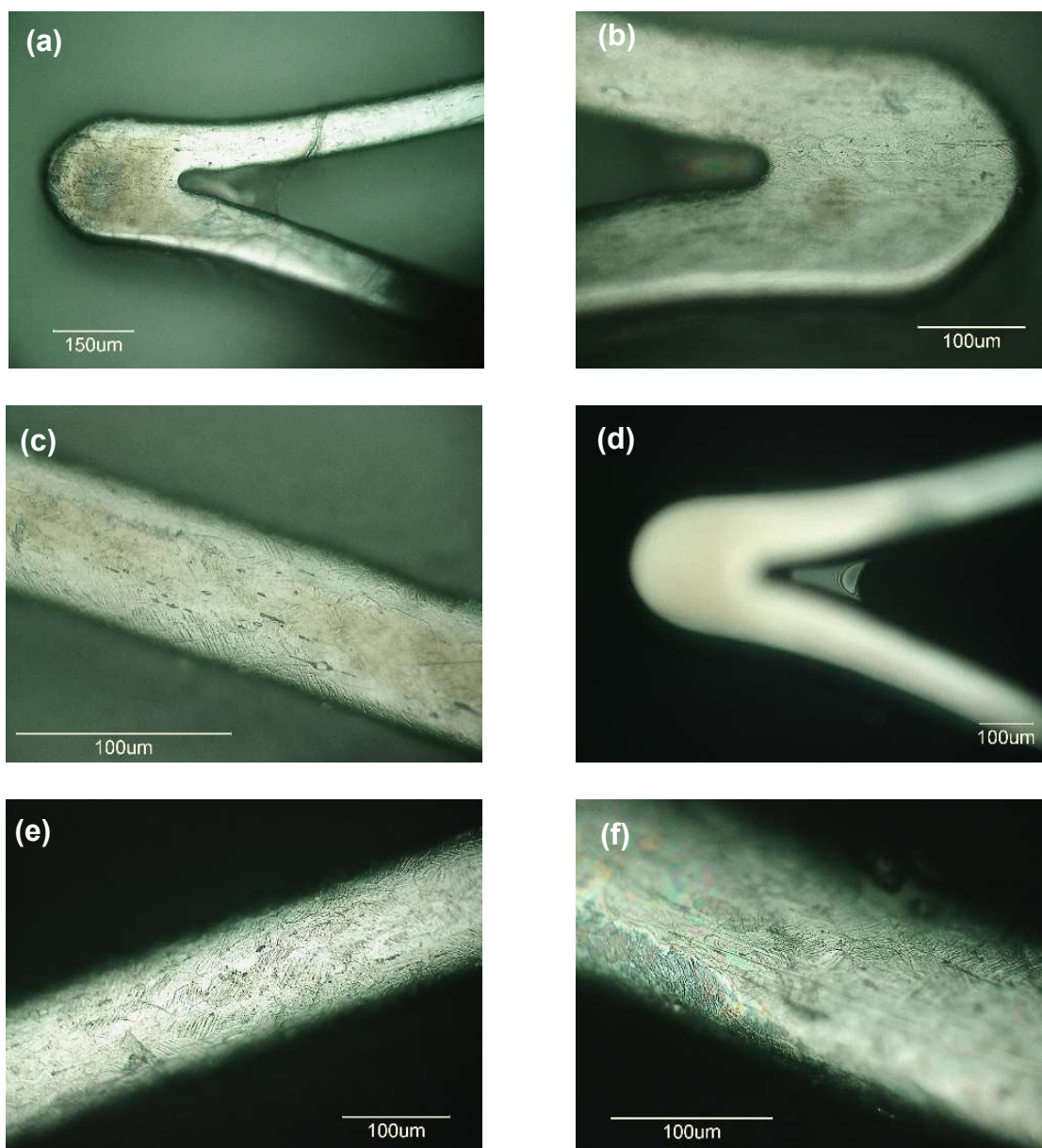


Figura 30 - Micrografias de microscopia ótica do stent revestido por imersão com rotação na solução de: a) 0,5% m/v e aumento de 350x, b) 0,5% m/v aumento de 700x e c) 0,5% m/v aumento de 1400x.: d) 0,1% m/v aumento de 350x, e) 0,1% m/v aumento de 700x e e) 0,1% m/v aumento de 1050x.

A técnica de *dip coating* com rotação foi testada utilizando as concentrações mais baixas, 0,5% e 0,1% de quitosana. A solução de 1% m/v não foi utilizada por apresentar a maior viscosidade dificultando a rotação do stent imerso, como também por ter apresentado os defeitos com maior severidade na técnica de *dip coating*.

Analisando as imagens da Figura 30, conclui-se que os stents revestidos com rotação com solução de 0,5% de quitosana (Figuras 30a, 30b e 30c) e 0,1% (Figuras 30d, 30e e 30f) de quitosana ainda apresentaram *webbing* no encontro das hastes, sendo este evento mais discreto com uso da solução de 0,1% (Figura 30d). Ademais, não é possível perceber a presença de revestimento ao longo das hastes para nenhuma das concentrações utilizadas.

Dessa maneira, o *dip coating* com rotação apresentou resultados insatisfatórios, pois a adesão de polímero ao substrato foi irrelevante quando se compara esses resultados com o método de *dip coating* (Figura 29). Provavelmente, a turbulência gerada pela rotação não proporcionou uma condição favorável de atração eletrostática para o revestimento. Ainda comparando as duas técnicas, ambas apresentaram defeitos nas superfícies revestidas, que persistiram mesmo com diferentes condições de concentrações e com o uso de técnicas diferentes.

Defeitos semelhantes foram encontrados em stents com revestimento polimérico comerciais e são discutidos na literatura (Levy *et al.*, 2009; Basalus *et al.*, 2010; Balls *et al.*, 2012; Hopkins *et al.*, 2016). Esses defeitos podem aparecer durante o processo de revestimento, após a expansão (seja, stent expansível por balão, ou autoexpansível) ou ainda dentro do corpo por certo tempo após o implante.

De acordo com Bedair *et al.*, (2014), a ocorrência de *webbing* está relacionada às características da endoprótese (como, geometria do stent) e às propriedades do revestimento (viscosidade da solução e elasticidade).

O ângulo entre as hastes do stent é um parâmetro a ser considerado quando se tenta entender a ocorrência de *webbing*. Basalus e Von Birgelen (2010) levantaram a hipótese de que o ângulo entre as hastes dos stents em certas geometrias acaba influenciado na formação de *webbing* no processo de revestimento e na ocorrência de vazios e fissuras logo após a expansão do stent.

Os stents estudados possuem um ângulo de encontro de hastes bastante fechado, o que acaba propiciando o acúmulo de solução nesses pontos logo após a retirada da endoprótese da solução. Dessa forma, soluções mais viscosas resultam

em um maior acúmulo de massa, enquanto que em soluções menos viscosas foi perceptível um acúmulo menor de polímero nessa região entre as hastes.

Essas primeiras análises de microscopia ótica permitiram concluir que revestimento realizados a partir de soluções com concentrações elevadas, como a solução de 1% de quitosana, tinham mais chances de apresentar defeitos de revestimentos. Paralelamente, a solução de 0,1% de quitosana, não resultou em superfícies revestidas. A quantidade de polímero nessa concentração não foi o suficiente para a finalidade aqui proposta. Por isso, decidiu-se continuar a pesquisa utilizando a concentração de 0,5% como referência.

Sob o mesmo ponto de vista, é justificável também a preferência pelo método de *dip coating* para as próximas análises, uma vez que o *dip coating* com rotação não foi uma adaptação relevante, pois não apresentou resultados satisfatórios como a técnica original.

4.2.4 Dip coating – Etapa 2

Considerando os primeiros resultados de microscopia ótica, foi posta em consideração a dificuldade na constatação da presença ou não de revestimento sobre as hastes dos stents, em virtude da natureza incolor da solução de quitosana e do reflexo do feixe de luz do microscópio ótico. Por conseguinte, decidiu-se que seriam testados a incorporação de elementos corantes que facilitem a visualização da camada polimérica. Por isso, utilizou-se a curcumina para funcionar como marcador e destacar a camada de revestimento sobre as hastes dos Stents. A priori, não faz parte do escopo dessa pesquisa estudar as características terapêuticas desse material.

Novas amostras foram revestidas por *dip coating* e por spray e analisadas no microscópio ótico. Para essas técnicas usou-se as soluções de quitosana com concentração 0,5% m/v, misturadas com solução de curcumina diluídas em metanol, na proporção de 10 mg/mL.

A Figura 31 apresenta as micrografias das amostras revestidas por *dip coating* com quitosana com curcumina.

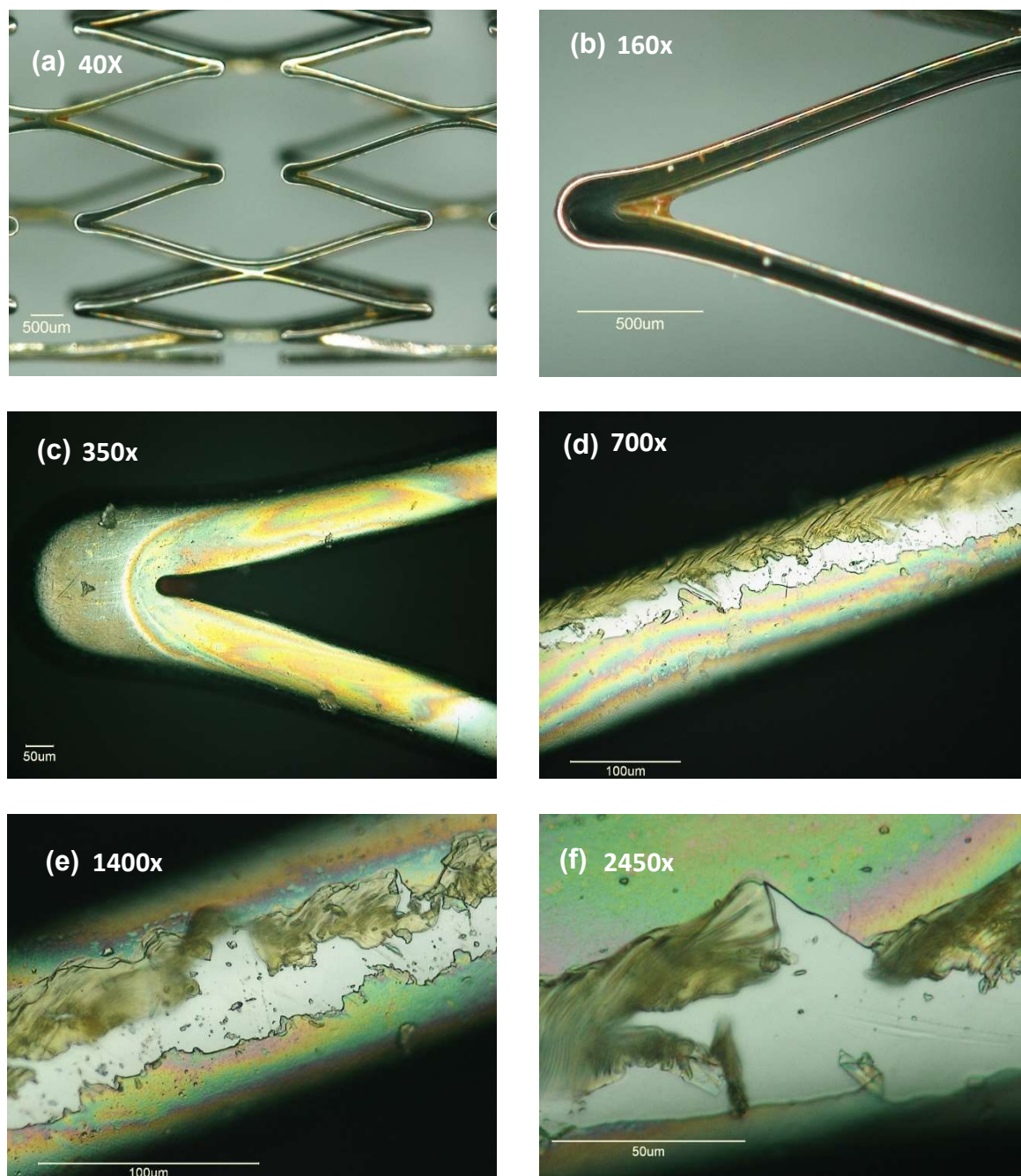


Figura 31 - Stents revestidos por dip coating com solução de quitosana (0,5% m/v) mais solução de curcumina (10 mg/mL).

Comparando as micrografias da Figura 31 com as imagens da Figura 29, fica evidente o destaque que a curcumina trouxe ao realçar a camada polimérica sobre as hastes dos stents. Na Figura 31c, pode-se observar a presença de revestimento uniforme por toda extensão da haste. As Figuras 31d, 31e e 31f evidenciam o revestimento ao contrastar o filme polimérico com a superfície do substrato metálico. Tendo em vista que os parâmetros da técnica de revestimento, como velocidade e tempo de imersão e concentração da solução de quitosana não foram alterados, em

relação ao revestimento sem curcumina, e que não se encontrou discussões na literatura que evidenciem a influência da curcumina em técnicas de *dip coating*, pode-se concluir que a presença da mesma apenas destacou a camada de polímero que aderiu ao substrato pela técnica de *dip coating*.

4.2.5 *Spray coating* – Etapa 2

Em contrapartida, os resultados obtidos a partir da técnica de *spray coating* com a mesma solução polimérica quitosana (0,5%) com curcumina (10mg/mL) não foram satisfatórios. Houve o acúmulo de polímero em áreas específicas sobre a região dos stents, enfatizadas pela presença de várias partículas de curcumina, como é possível observar nas micrografias da Figura 32.

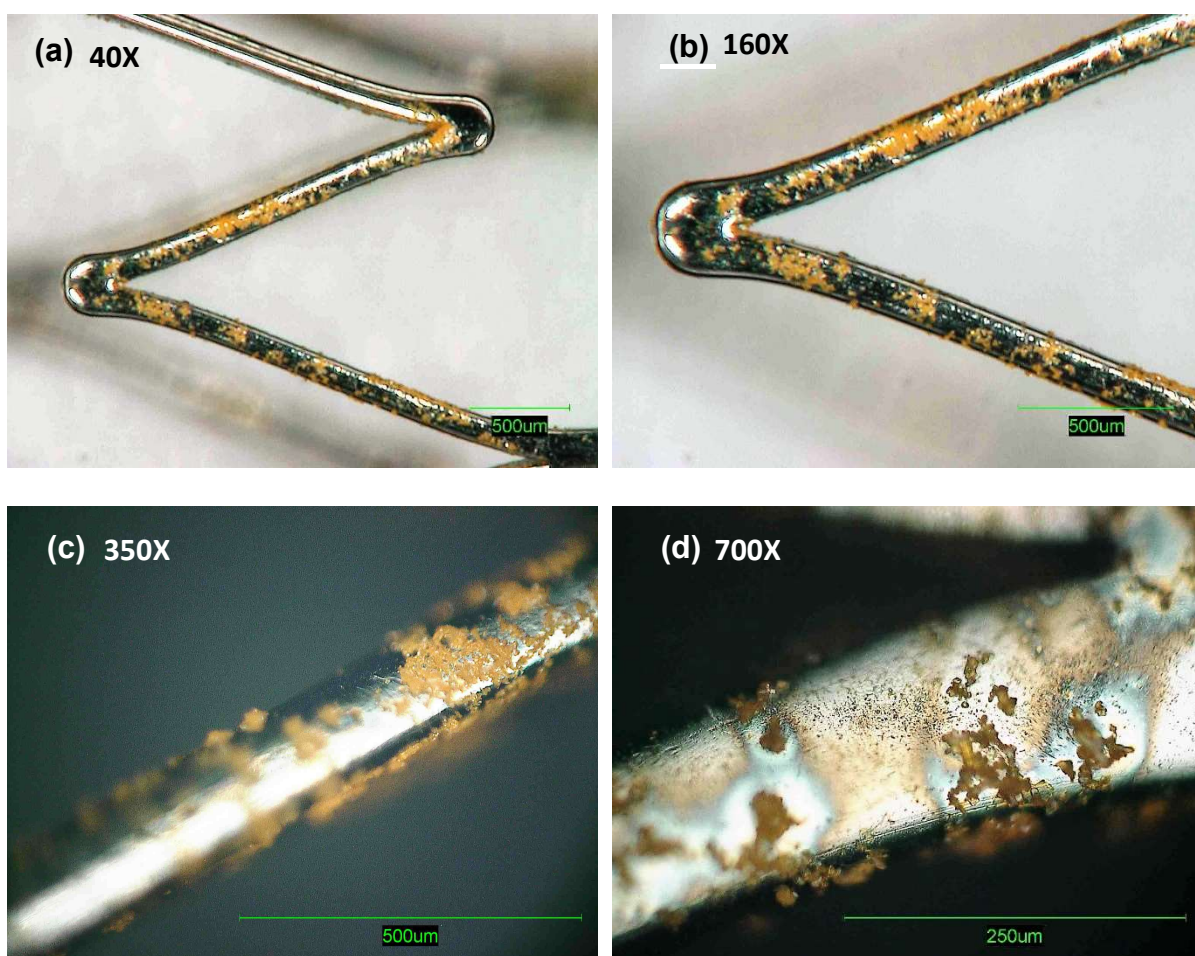


Figura 32 - Stents revestidos pela técnica de *spray* com solução de quitosana e curcumina.

A pressurização quebra e libera o conteúdo líquido da solução em partículas bem menores o que acaba gerando o jato de spray. Contudo, essas partículas de soluções ainda não foram suficientemente pequenas para recobrir de forma homogênea e regular a superfície. Além disso, os acúmulos de curcumina devem ser resultado da turbulência gerada pela pressurização que acabou possibilitando a agregação de partículas do material. É possível desconsiderar uma provável solubilização incompleta da curcumina, já que para as cinco amostras testadas os problemas se repetiram e o método de solubilização em metanol já é bastante estabelecido.

Segundo Kim *et al.* (2011), o spray por pressurização não possibilita a formação de revestimentos homogêneos justamente pelos tamanhos de partículas gerados. O revestimento por spray é feito a partir de técnicas de ultrassom, que são mais precisas e permitem maior controle do fluxo de fluido.

4.2.6 Layer-by-Layer – Etapa 2

Revestimentos construídos por *layer-by-layer* a partir dos polieletrólitos quitosana e alginato de sódio foram caracterizados e as micrografias feitas por Microscopia Ótica são apresentadas nas Figuras 33 e 34.

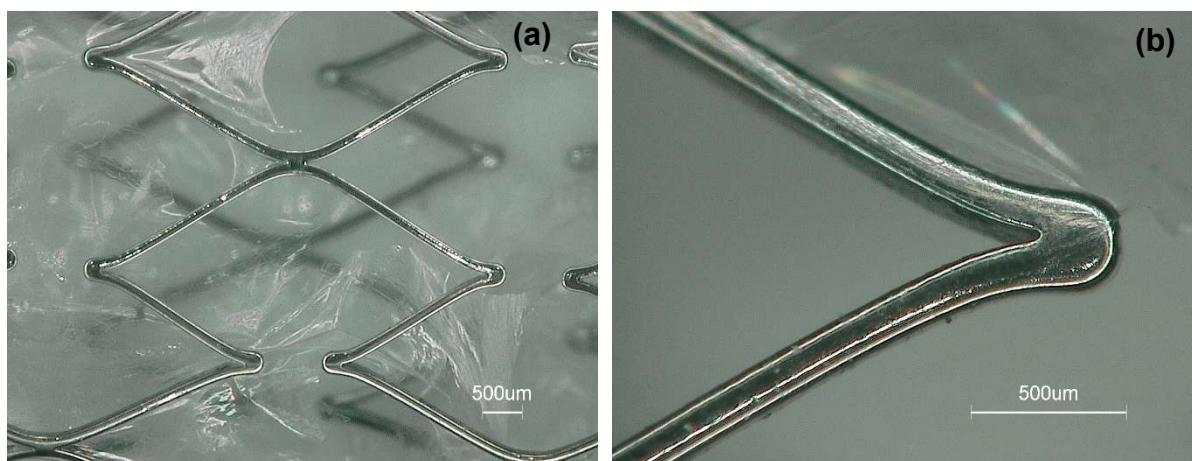


Figura 33 - Stents revestidos por layer-by-layer a partir de soluções de Quitosana (0,5%) e Alginato de Sódio (0,5%); (a) Aumento de 20x e (b) Aumento de 160x.

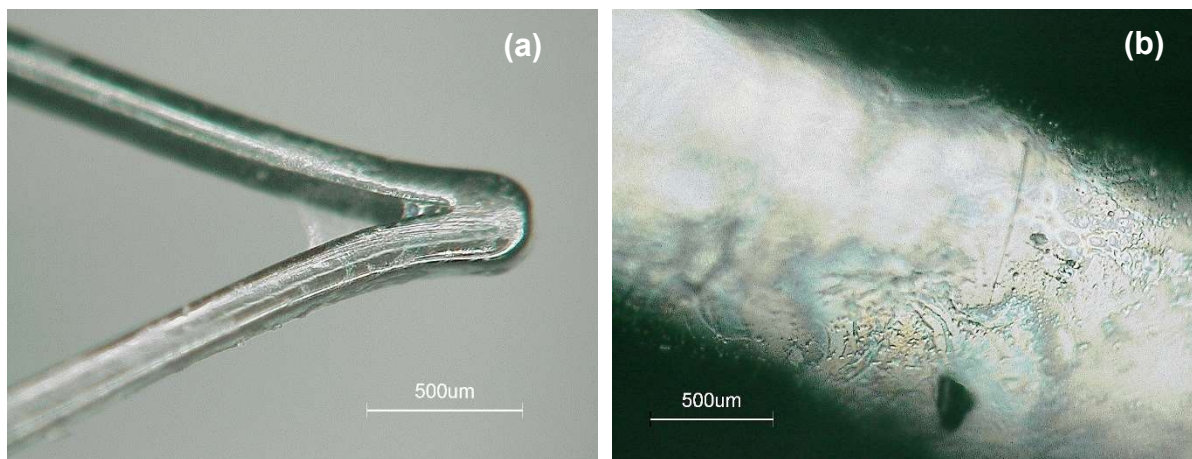


Figura 34 - Stents revestidos por layer-by-layer a partir de soluções de quitosana (0,5%) e alginato de sódio (0,1%); (a) Aumento de 160x e (b) Aumento de 1400x.

Os revestimentos de quitosana/alginato de sódio não apresentaram regularidade nem homogeneidade ao longo da superfície do stent. As Figuras 33a e 33b, mostram a ocorrência de *webbing* e delaminação nos interstícios do stent para a combinação de quitosana (0,5% m/v) e alginato de sódio (0,5% m/v), resultados semelhantes aos verificados quando foi utilizada uma solução de quitosana com 1% m/v de concentração, pois a solução de alginato de sódio (0,5% m/v) se mostrou mais viscosa do que a solução de quitosana a mesma concentração, resultando na ocorrência desses defeitos.

As Figuras 34a e 34b apresentam micrografias das superfícies revestidas a partir da combinação: quitosana (0,5%) com alginato de sódio (0,1%), com defeitos em menor grau de severidade e presença de revestimento nas superfícies das hastes.

4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

As amostras revestidas por *dip coating* e por *layer-by-layer* também foram analisadas por Microscopia de Eletrônica de Varredura (MEV) com o objetivo de confirmar a presença de revestimento e inspecionar a qualidade do mesmo, além do recobrimento irregular visualizado nas imagens de microscopia ótica.

A Figura 35 apresenta as micrografias dos stents revestidos por *dip coating*, onde se pode perceber a presença de revestimento pela superfície dos stents, conforme Figura 35c e 35d.

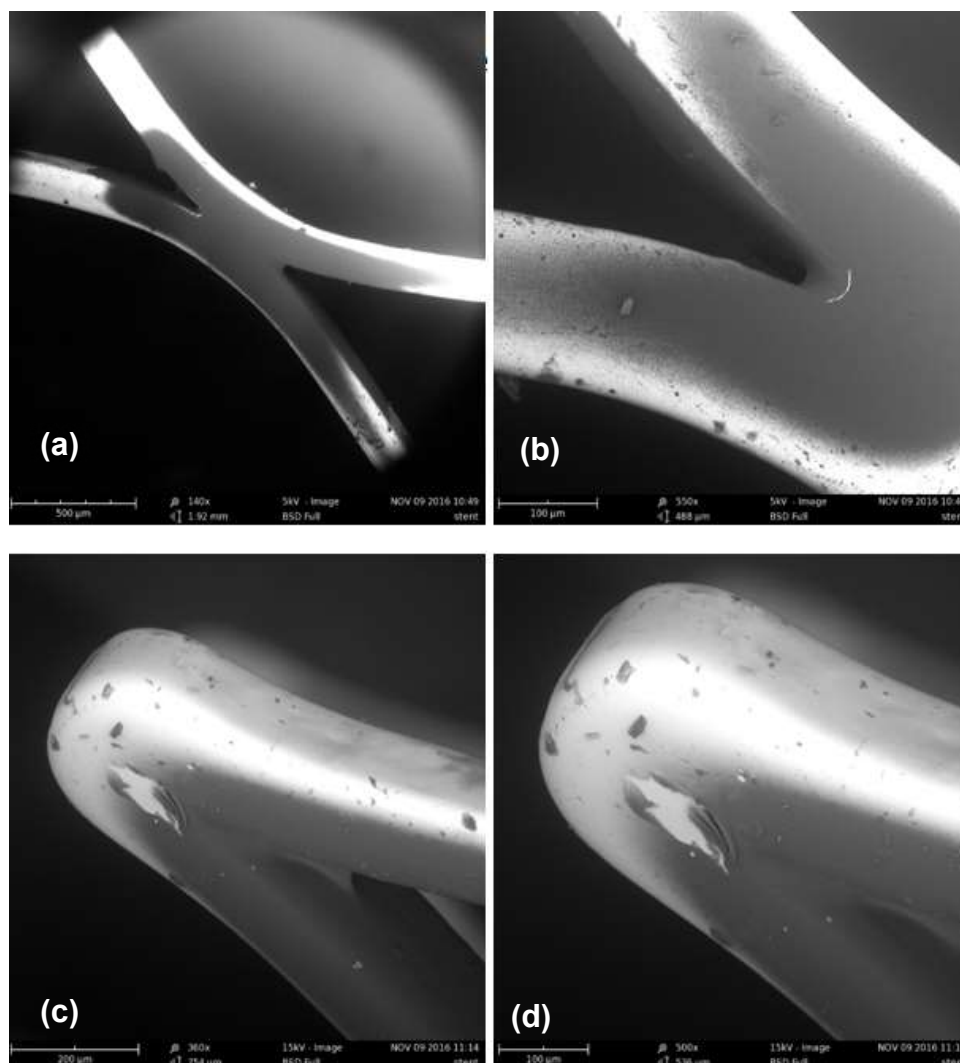


Figura 35 - Imagens de MEV do Stent revestido por dip coating (a) 140x (b) 550x (c) 360x (d) 500x.

Analisando as imagens pode-se concluir que existe revestimento sobre a superfície dos stents, ao se analisar o contraste causado pela falha destacada nas Figuras 35c e 35d. O rasgo acaba expondo que existe uma continuidade do filme polimérico por toda extensão da superfície. A diferença de tonalidade entre as regiões pode indicar uma condição técnica do ensaio, em virtude da geometria tridimensional volumétrica da amostra, como também pode ser resultado de um acúmulo maior de polímeros em regiões específicas.

Analisando as micrografias, percebe-se distribuição uniforme do revestimento sobre a superfície, sem irregularidades severas, ou delaminações, mas com a presença de *webbing* de severidade leve no encontro das hastes (Figura 38c).

A Figuras 36 apresenta as micrografias das amostras revestidas pela técnica *layer-by-layer*, usando as soluções poliméricas com concentrações 0,5% de quitosana

e 0,1% de alginato de sódio, uma vez que essa combinação foi a que apresentou resultados mais satisfatórios na inspeção por Microscopia Ótica.

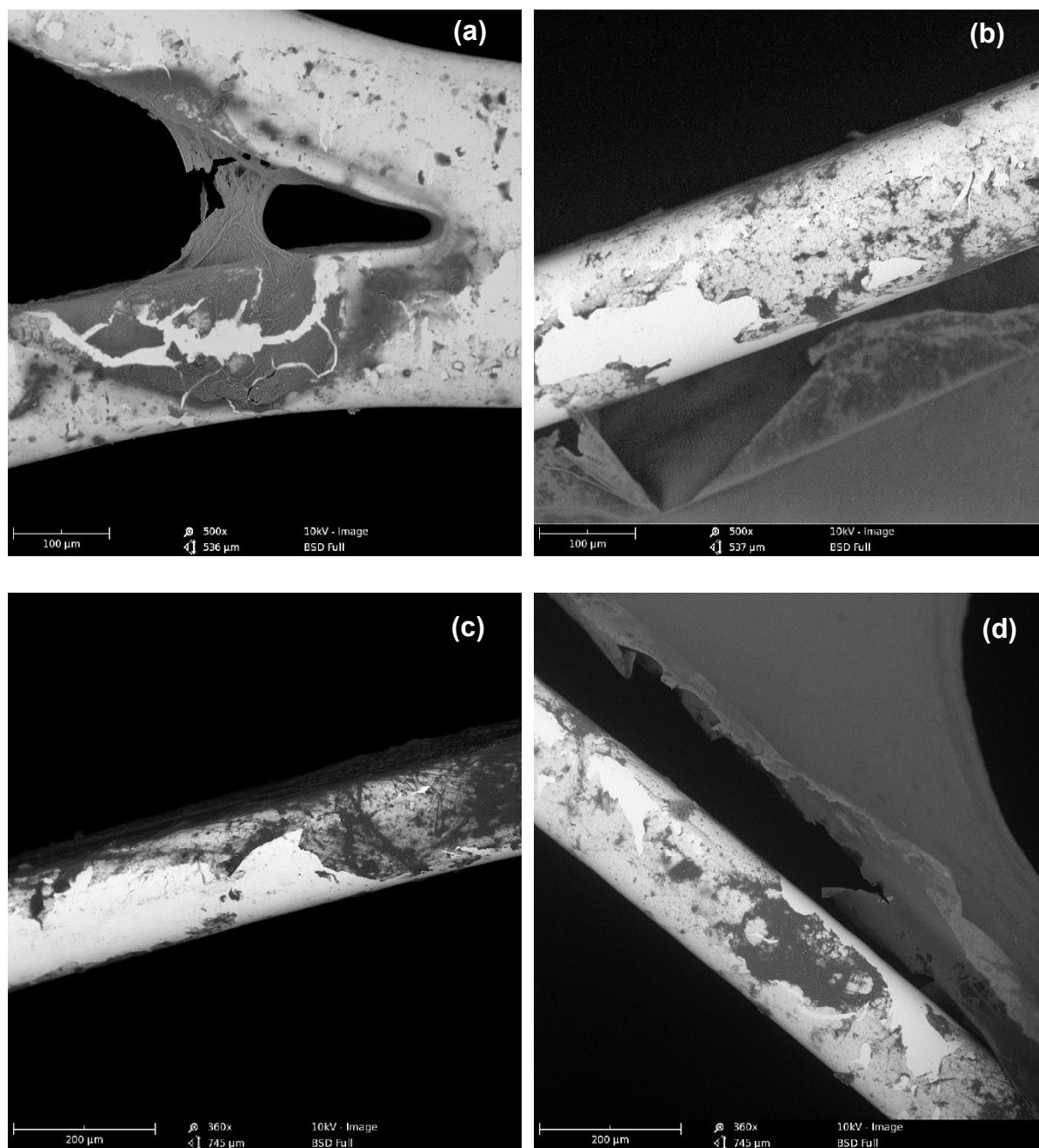


Figura 36 - Micrografias de MEV das amostras de stents revestidas por layer-by-layer. (a) e (b) Aumento de 500x (c) e (d) Aumento de 360x.

Nas micrografias apresentadas na Figura 36a e 36b, observa-se a presença de defeitos do tipo *webbing* e delaminação, além de várias fissuras geram descontinuidade no revestimento, mas que também ajudam a corroborar a presença

do filme polimérico sobre a superfície metálica, denotando a viabilidade da técnica adotada, ao mesmo tempo que aponta a necessidade de adequações.

O revestimento construído por *layer-by-layer* não apresentou homogeneidade adequada, como pode ser observado na Figura 36c e 36d. A diferença nas tonalidades observada nas micrografias, pode indicar diferenças de espessuras de revestimento ao longo da superfície da amostra, indicando uma não uniformidade.

4.4 Grau de Intumescimento

As propriedades de intumescimento do revestimento de quitosana/alginato de sódio revestidos por *layer-by-layer* e do revestimento de quitosana pela técnica de *dip coating* são apresentadas na Figura 37, que ilustra, em porcentagem, as mudanças na massa das amostras ao longo do tempo quando imersas em solução de PBS.

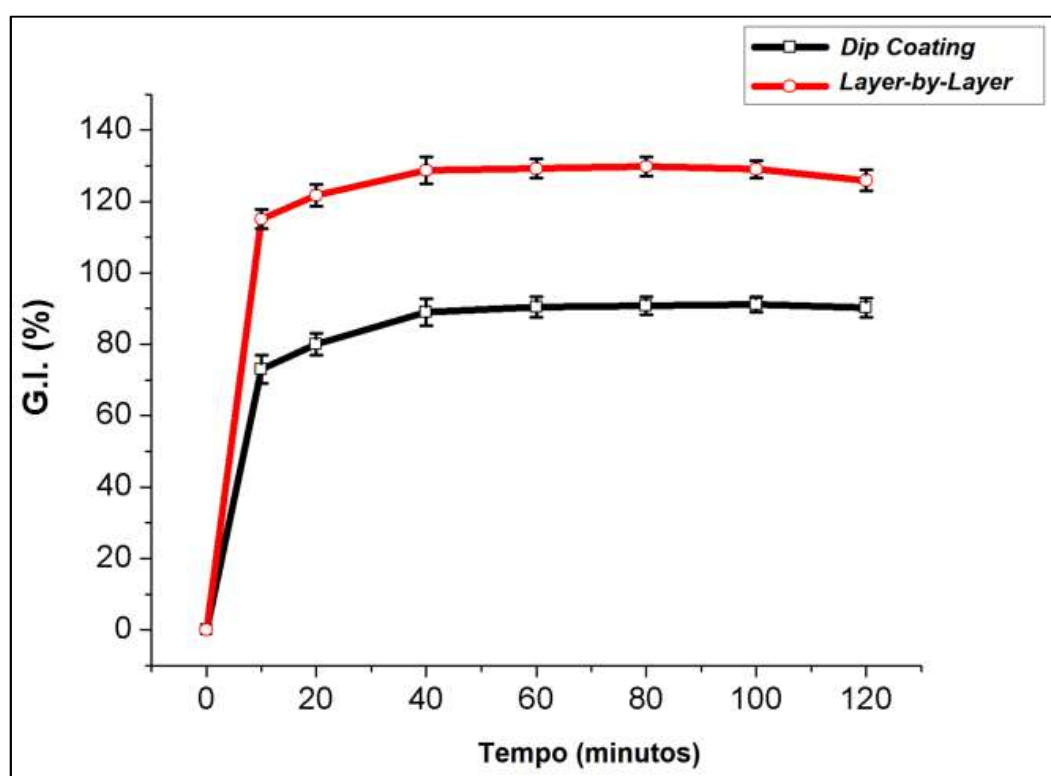


Figura 37 - Grau de Intumescimento em função do tempo para os stents revestidos pelas técnicas *dip coating* e *layer-by-layer*.

O intumescimento se inicia quando as moléculas do solvente entram na matriz polimérica do revestimento hidratando os grupos hidrofílicos mais polares, com isso os grupos hidrofóbicos da cadeia polimérica são expostos e que irão reorganizar as

moléculas de água nas proximidades. Posteriormente, moléculas adicionais de água entram nos interstícios da rede polimérica ocupando os espaços que existirem na rede, como poros, macroporos e vazios. Uma vez que o sistema passou por esses três mecanismos de intumescimento ele alcança o equilíbrio e para de absorver água, e dado um período de tempo o filme começa a degradar (Hoffman, 2012).

Observa-se que o revestimento de quitosa/alginato de sódio apresentou maior grau de intumescimento quando comparado com o revestimento formado apenas por quitosana. Isso pode ser explicado devido a presença de maior quantidade de grupos hidrofílicos expostos pelo alginato, permitindo que a água se difunda através da rede polimérica.

Tanto o alginato como a quitosana absorvem quantidades consideráveis de água nos primeiros minutos de exposição ao solvente. Sendo que a quitosana tende a intumescer mais em meios mais ácidos, uma vez que os grupos amino se mantêm protonados (NH_3^+), favorecendo a repulsão eletrostática intramolecular e intermolecular. Enquanto que o alginato, essa repulsão intramolecular tende a acontecer em ambiente neutro e vai aumentando a medida que o meio se torna mais básico, em virtude da protonação dos grupos carboxilatos (CH_3COOH^-), diminuindo a repulsão eletrostática do sistema (Wang, Z. *et al.*, 2014).

Exatamente essa diferenciação eletrostática entre o grupo amina da quitosana e o grupo carboxilato do alginato, que preserva a integridade do revestimento durante o processo de intumescimento. Além disso, a pequena espessura também acaba contribuindo para o rápido alcance do equilíbrio osmótico.

4.5 Resistência à Compressão

A Figura 38 apresenta a curva força em função do deslocamento construída a partir do ensaio de compressão em placas paralelas em amostras dos stents sem revestimento e amostras revestidas por *layer-by-layer* e *dip coating*.

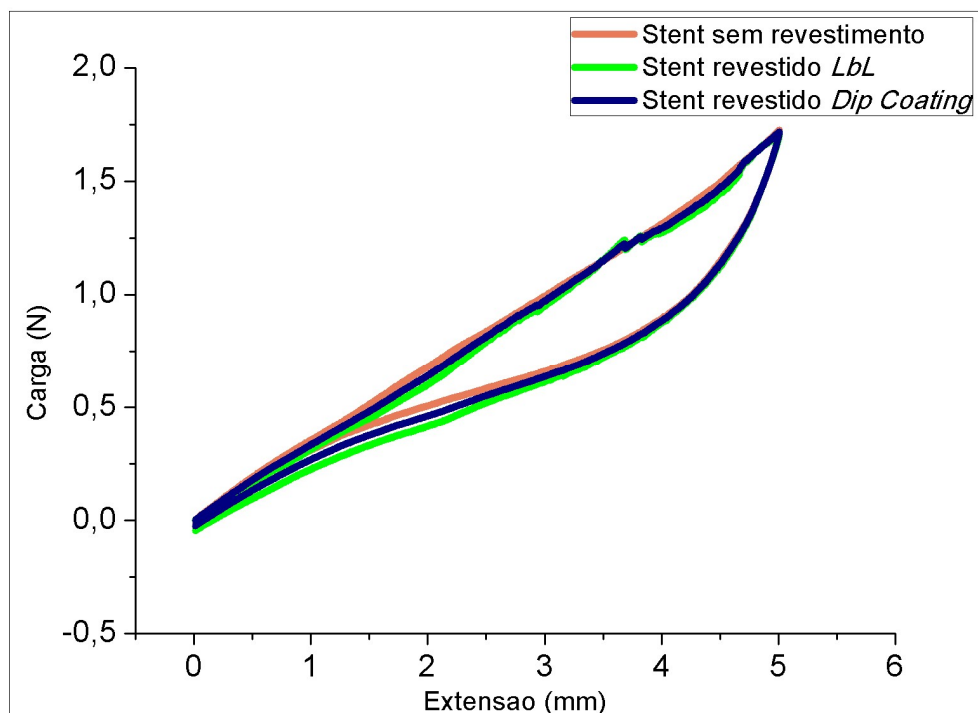


Figura 38 - Curva de Resistência à Compressão (Carga em função do deslocamento).

Observando as curvas percebe-se que a presença do revestimento polimérico não alterou a resposta mecânica dos stents, pois os níveis de carga no carregamento e descarregamento ficaram bastante próximos em todos os casos, bem como a carga máxima, a uma extensão compressiva de 5 mm, foi de aproximadamente 1,7 N nas três condições.

As curvas apresentam uma área de histerese característica de ligas de NiTi superelástica, representando a recuperação total da deformação a níveis distintos de cargas, quando comparamos o carregamento e o descarregamento. Além disso, o módulo de elasticidade do material não sofreu uma variação relevante, ao considerar a influência apenas da liga austenítica (sem revestimento) e depois com a presença do revestimento polimérico.

5 CONCLUSÕES

- No ensaio de reologia foi possível verificar que as soluções com concentrações de 0,1% e 0,5% para o alginato de sódio e 0,1, 0,5 e 1% para a quitosana, poderiam ser utilizadas nos processos de revestimento. Verificou-se que a solução de alginato de sódio (1%) foi, aproximadamente, duas vezes mais viscosa do que a solução de quitosana de mesma concentração e foi desconsiderada. As demais soluções apresentaram parâmetros reológicos semelhantes, sem alterações significativas no comportamento dentro das condições das técnicas utilizadas;
- A pesquisa exploratória realizada permitiu determinar a influência de parâmetros como concentração da solução de biopolímero na qualidade do revestimento. As soluções com 1% m/v de quitosana apresentaram o maior grau de severidade dos defeitos de revestimentos obtidos, ao passo que as soluções de 0,1% m/v não se mostraram suficientes para criar os recobrimentos. Dessa forma, a concentração de 0,5% m/v é a que melhor se adequa aos objetivos do estudo.
- A partir da técnica *dip coating* foi possível obter as melhores estruturas de revestimento. As micrografias de Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica Varredura evidenciaram a presença de revestimento homogêneo e uniforme sobre a superfície dos stents, ainda que apresentassem alguns níveis de defeitos, como webbing e descontinuidade. Defeitos que podem ser sanados, a partir de modificações de parâmetros de testes.
- A técnica de revestimento *dip coating* com rotação não se mostrou uma adaptação adequada, uma vez que não permitiu aderência da solução polimérica aos stents, muito em virtude do caráter turbulento do meio de imersão dos stents na solução.
- Os revestimentos construídos pela técnica de spray, onde a vaporização por pressurização não possibilita a quebra da solução em partículas suficientemente pequenas ao ponto de criar um revestimento homogêneo, além disso os parâmetros de teste como fluxo de liberação do fluido, pressão de pressurização são de difícil controle.
- Considerando os revestimentos construídos a partir da técnica *layer-by-layer* foi verificado que os revestimentos se mostraram satisfatórios, no que diz respeito a presença e adesão de filme polimérico sobre a superfície metálica dos stents. A quantidade de defeitos foi um pouco maior quando comparada com a técnica *dip coating*. No entanto a qualidade de revestimentos obtidos por *layer-by-layer* pode

ser significativamente melhorada a partir da adequação de parâmetros como pH e força iônica, sendo essa uma oportunidade a ser considerada e estudada em trabalhos futuros.

- Portanto, a partir da análise dos resultados pode-se concluir que a solução com 0,5% de quitosana juntamente com a técnica de revestimento *dip coating* possibilitaram a construção de filmes poliméricos mais adequados a finalidade de revestimento de stents quando comparadas com as outras condições testadas.
- O grau de intumescimento apresentou o comportamento preconizado pela literatura, onde as amostras revestidas por *dip coating* que possuíam apenas quitosana no filme polimérico, intumesceram menos em comparação com as amostras revestidas por *layer-by-layer*. A presença de camadas de alginato de sódio determinou uma absorção de água na condição de teste. Além disso, a associação entre os polieletrólitos manteve a integridade do revestimento.
- A presença de revestimento polimérico não foi suficiente para interferir na resistência à deformação por compressão dos stents. Os resultados mostraram curvas com comportamentos significativamente similares e áreas de histereses com tamanhos aproximados. Histerese que pode ser utilizada como um parâmetro para avaliar a capacidade do dispositivo de recuperar seu diâmetro original no momento do implante.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir das discussões feitas e das conclusões obtidas nessa pesquisa sugere-se como objetos de estudo para trabalhos futuros:

- Realizar uma avaliação *in vitro* das hemocompatibilidade de biofilmes poliméricos construídos a partir de quitosana e alginato de sódio.
- Obter revestimento a partir da associação da quitosana com outros tipos de polissacarídeos, como o ácido hialurônico, heparina e carboximetil-quitosana. Materiais que ainda são alvos de poucas pesquisas no que diz respeito a construção de revestimento.
- Utilizar a curcumina como um potencial fármaco antiproliferativo a ser utilizado na prevenção de reestenose em implantes vasculares, partindo dos resultados promissores obtidos nesse estudo.
- Usar a técnica de *spray coating* para montagem de recobrimentos utilizando a técnica *layer-by-layer* e a quebra da fluido por ultrassom.
- Testar quitosana com diferentes massas molares e grau de desacetilação, visando aumentar a disponibilidade de agrupamentos amino funcionais nos materiais obtidos.

REFERÊNCIAS

ANEURYSM. Aneurysm. Photograph. Britannica Online. Site. 2016. <Disponível em: <http://goo.gl/sh9FFq>>

AHMED, R.A.; FADL-ALLAH, S.A.; EL-GABOURY, N.; SANAA, M.F.; EL-RAB, G. Improvement of corrosion resistance and antibacterial effect of NiTi orthopedic materials by chitosan and gold nanoparticles, **Applied Surface Science**, v. 292, p. 390-399, 2014.

ANTONINO, R.A.C.M.Q. **Produção de Quitosana a partir de Exoesqueleto de Camarão (*Litopenaus vannamei* Boone)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Campina Grande – PB.

ARANCIBIA, M.Y. et al. Antimicrobial and rheological properties of chitosan as affected by extracting conditions and humidity exposure. **Food Science and Technology**, v. 60, i. 2, 2015, p. 802-810, 2015.

ARAÚJO, M.; MORGADO, J.; FERREIRA, Q. Layer-by-layer Assembled Films for Ocular Drug Delivery In Proceedings of the **5th International Conference on Photonics, Optics and Laser Technology**, v.1,p. 395-401, 2017.

ASTM – American Society for Testing Materials. **ASTM F 2743 – 11** Standard Guide for Coating Inspection and Acute Particulate Characterization of Coated Drug-Eluting Vascular Stent Systems, 2011.

ASTM – American Society for Testing Materials. **ASTM F 67 – 13** Standard Specification for Unalloyed Titanium, for Surgical Implant Applications (UNS R50250, UNS R50400, UNS R50550, UNS R50700), 2013.

AUER, J.; PRIMUS, C.; BERENT, R. Blood pressure variability and aortic atherosclerosis – Cause or consequence? **Atherosclerosis**, v. 241, i. 2, p. 339–34, 2015.

AVILEZ, H.V.R.; CASADIEGO, D.A.C.; AVILA, A.L.V.; PEREZ, O.J. O.; ALMODOVAR, J. Production of chitosan coatings on metal and ceramic biomaterials, In JENNINGS, A. BUMGARDNER, J.D. (Ed.) **Chitosan Based Biomaterials Volume 1**, Woodhead Publishing, 2017. Pages 255-293,

AZEVEDO, E.P.; KUMAR, V. Immobilization of heparin onto the novel cellulose: chitosan vascular grafts. A preliminary study. **Journal of Surgical Research**, v. 5, p. 1-11, 2014.

BAGHERI-KHOULENJANI, S.; MIRZADEH, H.; ETRATI-KHOSROSHAHI, M.; SHOKRGOZAR, M.A. Particle size modeling and morphology study of chitosan/gelatin/nanohydroxyapatite nanocomposite microspheres for bone tissue engineering. **J Biomed Mater Res A**, v. 101(6), p. 1758-1767, 2013.

BAHADORI, A. Surface Preparation for Coating, Painting, and Lining, In: BAHADORI.A. (Ed.) **Essentials of Coating, Painting, and Lining for the Oil, Gas and Petrochemical Industries**. Boston, Gulf Professional Publishing, 2015. p. 1-105.

BAINO, F. et al. Biomaterials for orbital implants and ocular prostheses: Overview and prospects, **Acta Biomaterialia**, v. 10, p. 1064-1087, 2014.

BALAJI, R.A.; RAGHUNATHAN, S.; REVATHY, R. Levofloxacin: formulation and in-vitro evaluation of alginate and chitosan nanospheres. **Egyptian Pharmaceutics Journal**, v. 14, p. 30-35, 2015.

BALAN, V.; VERESTIUC, L. Strategies to Improve Chitosan Hemocompatibility: A Review. **European Polymer Journal**, v. 53, p 17-188, 2014.

BALSS, K.M.; VESELOV, V.; LI, H.Q; AKERMAN-REVIS, E.; COHEN, J.H.; INTERBITZEN, M.; ALVAREZ, J.; WENDEL, C.; POTTINGER-COOPER, E.; MAUREEN, F.; CHISHOLM, M.F.; O'BRIEN, R.; GARCIA-TUNON, S.; PAPANDREOU, G.; MARYANOFF, C.A. Quantitative surface defect analysis of drug-eluting coronary stents by scanning electron microscopy: coating integrity of the CYPHER Sirolimus-eluting Coronary Stent. **Analytical Methods**, v.4, p. 3968-3973, 2012.

BANORIYA, D.; PUROHIT, R.; DWIVEDI, R. K. Advanced Application of Polymer based Biomaterials. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 2, p. 3534–3541, 2017.

BARBA, A. A. et al. Engineering approaches in siRNA delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 525, n. 2, p. 343–358, 2017.

BARBOSA, M.A.; GONÇALVES, I.C.; MORENO, P.M.D.; GONÇALVES, R.M.; SANTOS, S.G.; PÊGO, A.P.; AMARAL, I.F. 2.13 Chitosan. In: DUCHEYNE, P. (Ed.) **Comprehensive Biomaterials II**, Oxford, Elsevier, 2017. p. 279-305.

BARBOSA, W.T. **Obtenção e Caracterização de Scaffolds de Hidroxiapatita a Partir do Método SOL-GEL**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Campina Grande – PB.

BASALUS, M.W.Z.; VAN HOUWELINGEN, G.K.; ANKONE, M. MAN, F.H.A.F.; VON BIRGELEN, C. Scanning electron microscopic assessment of the biodegradable coating on expanded biolimus-eluting stents. **Eurointervention**, v. 5, p. 505-510, 2010.

BASALUS, M.W.Z.; VON BIRGELEN, C. Benchside testing of drug-eluting stent surface and geometry. **Journal of Interventional Cardiology**, v. 2, p. 159-175, 2010.

BASNETT, P.; ROY, I. Microbial production of biodegradable polymers and their role in cardiac stent development. **Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, v.2, p. 1405–1415, 2010.

BAYRAMOGLU, G.; CAN AKCALI, K.; GULTEKIN, S.; BENGU, E.; ARICA, M.Y. Preparation and characterization of poly (hydroxyethyl methacrylate-co-poly(ethyleneglycol-methacrylate)/hydroxypropylchitosan) hydrogel films: adhesion of rat mesenchymal stem cells. **Macromol Res**, v. 19(4), p. 385-395, 2011.

BEDAIR, T.M.; CHO, Y.; PARK, B.J.; JOUNG, Y.K.; HAN, D.K. Coating defects in polymer-coated drug-eluting stents. **Biomaterials and Biomechanics in Bioengineering**, v. 1, p. 131-150, 2014.

BEDAIR, T.M.; YU, S.J.; IM, S.G.; PARK, B.J. Effects of Interfacial Layer Wettability and Thickness on the Coating Morphology and Sirolimus Release for Drug-Eluting Stent. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 460, p. 189-199, 2015.

BEGE, N.; STEINMÜLLER, S.O.; KALINOWSKI, M.; REUL, R.; KLAUS, S.; PETERSEN, H.; CURDY, C.; JANEK, J.; KISSEL, T. Drug eluting stents based on Poly(ethylene carbonate): Optimization of the stent coating process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 562–570, 2012.

BELALIA, F. DJELALI, N.E. Rheological Properties of Sodium Alginate Solutions. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 59, p. 135-145, 2014.

BING, J.J.; FENG, C.; YAN, Y.Y.; SUN, G.; CHENG, X.; KONG, M.; LIU, Y.; JIANG, C.; LI, L.; CHEN, X.; Investigation of Genipin-crosslinked Hydroxybutyl Chitosan Polymeric Stent for Cardiovascular Diseases. **Journal of Nature and Science**, v.1, 2015.

BOSCO, R.; VAN DEN BEUCKEN, J.; LEEUWENBURGH, S.; JANSEN, J. Surface Engineering for Bone Implants: A Trend from Passive to Active Surfaces. **Coatings**, v. 2, p. 95-119, 2012.

BRAEM, A.; MATTHEYS, T.; NEIRINCK, B.; ČEH, M.; NOVAK, S.; SCHROOTEN, J.; VAN DER BIEST, O.; VLEUGELS, J. Bioactive glass–ceramic coated titanium implants prepared by electrophoretic deposition. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, p. 2267–2273, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Banco de dados do Sistema Único de Saúde - DATASUS. Informações de Saúde, Sistema de Informações sobre Mortalidade. Disponível em <http://www.datasus.gov.br/catalogo/sim.htm> [Acessado em 28 de maio de 2017].

BRASIL. Ministério da Saúde. Banco de dados do Sistema Único de Saúde- DATASUS, Sistema de Informações Hospitalares. Disponível em <http://www.datasus.gov.br/catalogo/sihsus.htm> [Acessado em 28 de maio de 2016].

BRASIL. Ministério da Saúde / Secretaria de Vigilância em Saúde/ Coordenação Geral de Informações e Análises Epidemiológicas / Sistema de Informações sobre Mortalidade – SIM.

BRAUNE, S.; HOENOW, A.; MROWIETZ, C.; Hemocompatibility of soft hydrophobic poly(n-butyl acrylate) networks with elastic moduli adapted to the elasticity of human arteries. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 49, p. 375-390, 2011.

BRINKER, C.J. Dip-Coating In: SCHANELLER, T.; WASERM R.; KOSEC, M.; PAYNE, D. (Ed.). **Chemical Solution Deposition of Functional Oxide Thin Films**, Springer, 2013. p. 233-261.

BRUINSMA, B.G. et al. Layer-by-Layer Heparinization of Decellularized Liver Matrices to Reduce Thrombogenicity of Tissue Engineered Grafts. **Journal of clinical and translational research**, v.1, 2015.

CAMPELO, C.S.; LIMA, L.D.; REBÊLO, L.M.; MANTOVANI, D; BEPPU, M.M.; VIEIRA, R.S. In vitro evaluation of anti-calcification and anti-coagulation on sulfonated chitosan and carrageenan surfaces. **Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems**, v. 59, p. 241-248, 2015.

CAO, Y.; WANG, B.; Biodegradation of Silk Biomaterials. **International Journal of Molecular Science**, v. 10, p. 1514-1524, 2009.

CALLISTER, W.D.; RETHWISH, D.G. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. LTC, 2016. ISBN 978-85-216-3103-3.

CARDONA, M.; MIRABET, S.; MARTÍN, V.; MARTÍ, V.; SABATÉ, M.; GENÍS ,A.B Comparación de la tasa de reestenosis entre stents convencionales y stents farmacoactivos en la enfermedad vascular del injerto. **Medicina Clínica**, v. 138, i. 13, p. 562–564, 2012.

CELLI, G.B.; GHANEM, A.; BROOKS, M.S. Development and evaluation of floating alginate microspheres for oral delivery of anthocyanins – A preliminary investigation. **Food and Science & Nutrition**, v. 2016, p. 1-10, 2016.

CHANG, H.; LIN, Y.; TSAI, Y.; TSAI, M. Effects of chitosan characteristics on the physicochemical properties, antibacterial activity, and cytotoxicity of chitosan/2-glycerophosphate/nanosilver hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, p. 169-176, 2013.

CHEN, M.C.; MI, F.L.; LIAO, Z.X.; SUNG, H.W. Chitosan: Its Application in Drug Eluting Devices. **Advances in Polymer Science**, v. 243, p. 185-230, 2011.

CHEN, Q.; THOUAS, G.A. Metallic implant biomaterials. **Materials Science and Engineering R**, v. 87, p. 1–57, 2015.

CHENG, A. L.; HSU, C.H. ; LIN, J.K. ; HSU, M.M.; HO, Y.F.; SHEN, T.S. ; KO, J.Y.; LIN, J.T.; LIN, B.R.; MING-SHIANG, W.; YU, H.S. ; JEE, S.H.; CHEN, G.S.; CHEN, T.M.; CHEN, C.A.; LAI, M.K.; PU, Y.S.; PAN, M.H.; WANG, Y.J.; TSAI, C.C.; HSIEH, C.Y. Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with highrisk or pre-malignant lesions. **Anticancer Research**. v. 21, n.4, p. 2895–2900, 2001.

CHRISTIANSEN, E.H.; THYGESEN, K.; SØRENSEN, J.T.; NORGAARD, B.L.; MADSEN, M.; SØRENSEN, H.T.; CHRISTIANSEN, E.H.; TILSTED, H.H.; RAVKILDE, J.; THUESEN, L.; LASSEN, J.F.; THAYSEN, P.; JENSEN, L.O.; Biolimus-eluting biodegradable polymer-coated stent versus durable polymer-coated sirolimus-eluting stent in unselected patients receiving percutaneous coronary intervention (SORT OUT V): a randomised non-inferiority trial. **The Lancet**, v. 381, i. 9867, p. 661-669, 2013.

CHUANG, J. J. et al. Effects of pH on the Shape of Alginate Particles and Its Release Behavior. **International Journal of Polymer Science**, v. 2017, 2017.

COHEN, D. **Lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox) VERSUS lipoproteína de baixa densidade eletronegativa [LDL(-)] de adolescentes: análise comparativa**. 2013. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana Aplicada) Programa de Pós-Graduação Interunidades em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT. Universidade de São Paulo – USP. São Paulo.

COSTA, N.C. et al. Viscometric study of chitosan solutions in acetic acid/sodium acetate and acetic acid/sodium chloride. **Carbohydrate Polymers**, v. 133, p. 245-250, 2015.

CREA, F.; BATTIPAGLIA, I.; ANDREOTTI, F. Sex differences in mechanisms, presentation and management of ischaemic heart disease. **Atherosclerosis**, v. 241, p. 157-168, 2015.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; FRANCISCO, A.de; SANTO, M. L. P. E.; TEIXEIRA, E. Quitosana: Um Amino Polissacarídeo com Características Funcionais. **Alimentos e Nutrição**. v. 16, n. 2, p. 195-205, 2005.

DAS, R. K.; KASOJU, N.; BORA, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**. v.6, n.1, p.153–160, 2010.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. Progress in Polymer Science. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Special Issue on Biomaterials**. v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.

DECHER, G.; HONG, J.D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, v. 210, p. 831-835, 1992.

DENARDO, S.J.; CARPINONE, P.L.; VOCK, D.M.; BATICH, C.D.; PEPINE, C.J. Changes to Polymer Surface of Drug-Eluting Stents During Balloon Expansion. **JAMA**, v. 307, p. 2148-2150, 2012.

DENARI, N.S.M. **Biomateriais binários de quitosana/amido e quitosana/gelatina em L-ácido láctico**. 2014. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química de São Carlos. Universidade de São Paulo – USP, São Carlos.

DIOMIDIS, N.; MISCHLER, S.; MORE, N.S.; ROY, M. Tribo-electrochemical characterization of metallic biomaterials for total joint replacement. **Acta Biomaterialia**, v. 8, p. 852-859, 2012.

DORJ, B.; PARK, J.H.; KIM, H.W.; Robocasting chitosan/nanobioactive glass dual-pore structured scaffolds for bone engineering. **Materials Letters**, v. 73, p. 119-122, 2012.

DRATVA, J. et al. Atherogenesis in youth--early consequence of adolescent smoking. **Atherosclerosis**, v. 230, p. 304-309, 2013.

DUERIG, T.W.; WHOLEY, M. A comparison of balloon- and self-expanding stents. **Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies**, v. 11, n. 4, p 173-178, 2002.

EL-HAYEK, G. et al. Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials Comparing Biodegradable Polymer Drug-Eluting Stent to Second-Generation Durable Polymer Drug-Eluting Stents. **JACC: Cardiovascular Interventions**, v. 10, n. 5, p. 462-473, 2017.

ELNAGGAR, M. A. et al. Nitric Oxide Releasing Coronary Stent: A New Approach Using Layer-by-Layer Coating and Liposomal Encapsulation. **Small**, v. 12, n. 43, p. 6012-6023, 2016.

FABRA, M.J.; FLORES-LÓPEZ, M.L. CERQUEIRA, M.A.; RODRIGUEZ, D.J.; LAGARON, J.M. VICENTE, A.A. Layer-by-Layer Technique to Developing Functional Nanolaminate Films with Antifungal Activity. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, i. 3, p. 471-480, 2016.

FARAH, S.; KHAN, W.; DOMB, A.J.; Crystalline coating of rapamycin onto a stent: Process development and characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 445, p. 20-28, 2013.

FARRARO, K.F.; KIM, KE.; WOO, S.L.Y.; FLOWERS, J.R. Revolutionizing Orthopaedic Biomaterials: the Potential of Biodegradable and Bioresorbable Magnesium-Based Materials for Functional Tissue Engineering. **Journal of Biomechanics**, v. 47, p. 1979-1986, 2014.

FU, C.H.; LIU, J.F; GUO, A. Statistical characteristics of surface integrity by fiber laser cutting of Nitinol vascular stents. **Applied Surface Science**, v. 353, p. 291-299, 2015.

FUKUMOTHI D.K.; PUPO, H.; REGANIN, L.A.; MATTE, S.R.F.; LIMA, B.S.; MATTOS, C.A. Functional assessment of endoprosthesis in the treatment of bone tumors. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 51, p. 569-573, 2016.

GAMA, M.S. et al. Adsorption of Copper on Glass Beads Coated with Chitosan: Stirred Batch and Fixed Bed Analysis. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, 2017.

GAO, X.F.; ZHANG, Y.J.; TIAN, N.L.; WU, W.; LI, M.H.; BOURANTAS, C.V.; JIANG, X.M.; WANG, Z.M.; LI, B.; MAO, W.X.; ZHANG, J.J. CHEN, S.L. Stenting Strategy for

Coronary Artery Bifurcation with Drug-eluting stent: a meta-analysis of nine randomized trials and systematic review. **EuroIntervention**, v. 10, n. 5, 2014.

GARCÍA, A. J. Surface Modification of Biomaterials. In: ATALA, A.; LANZA, R.; THOMSON, J.A.; NEREM, R.M. (Ed.) **Principles of Regenerative Medicine**. Elsevier, 2011. p. 663-673.

GARCIA, A.F.G. **Estudo da Viabilidade da Moldagem por Injeção de Stents Poliméricos de PEBD e PCL com Fármaco**. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC, Florianópolis-SC.

GARG, S.; BOURANTAS, C.; SERRUYS, P. W. New concepts in the design of drug-eluting coronary stents. **Nature reviews - Cardiology**, v. 10, n. 5, p. 248–60, 2013.

GEIM, A. K.; GRIGORIEVA, I. V. Van der Waals heterostructures. **Nature**, v. 499, n. 7459, p. 419–425, 25 jul. 2013.

GILL, P.; MUSARAMTHOTA, V.; MUNROE, N.; DATYE, A.; DUA, R.; HAIDER, W.; MCGORON, A.; ROKICKI, R. Surface modification of Ni–Ti alloys for stent application after magnetoelectropolishing. **Materials Science and Engineering C**, v. 50, p. 37–44, 2015.

GENTILE, P.; CARMAGNOLA, I.; NARDTO, T.; CHIONO, V. Layer-by-layer assembly for biomedical applications in the last decade. **Nanotechnology**, v. 26, i. 42, 2015.

GOMES, S. et al. Evaluation of nanofibrous scaffolds obtained from blends of chitosan, gelatin and polycaprolactone for skin tissue engineering. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1174–1185, 2017.

GONSALVES, A.A.; ARAUJO, C.R.M.; SOARES, N.A.; GOULART, M.O.F.; ABREU, F.C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, 2011.

GORBET, M.B.; SEFTON, M.V.; Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. **Biomaterials**. v. 25, p. 5681–5703, 2004.

GORYCZKA, T.; KOKOSZKA, A.; LOSIEWICZ, B.; DULSKI, M. Martensitic transformation and shape memory effect in NiTi alloy covered by chitosan/silver layer. **MATEC Web Conferences**, v. 33, 2015.

GORCZYCA, G.; TYLINGO, R.; SZWEDA, P.; AUGUSTIN, E.; SADOWSKA, M.; MILEWSKI, S. Preparation and characterization of genipin cross-linked porous chitosan–collagen–gelatin scaffolds using chitosan–CO₂ solution. **Carbohydrate Polymers**. v.102, p. 901-911, 2014.

GOTTLIEB, M.G.V.; BONARDI, G.; EMÍLO H. MORIGUCHI, E.H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. **Scientia Medica**, v. 15, n. 3, p. 203-207, 2005.

GU, X.N.; LI, S.S.; LI, X.M.; FAN, Y.B. Magnesium based degradable biomaterials: A review. **Frontiers of Materials Science**, v. 8, p. 200–218, 2014.

GU, X. et al. Biodegradable, elastomeric coatings with controlled anti-proliferative agent release for magnesium-based cardiovascular stents, **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 144, p. 170-179, 2016.

GUO, S. CHU, X.; LOH, X.J. Controlling cell adhesion using layer-by-layer approaches for biomedical applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 70, part 2, p. 1163-1175, 2017.

GURIN, A.; FEDETOV, A.Y.; DEEV, R.V.; KOMLEV, V.S. Sodium alginate bioresorbable membrane and octacalcium phosphate biomaterial for guided bone regeneration. **Cellular Transplantation & Tissue Engineering**, v.8, p. 70-77, 2013.

HAERI, A. et al. Effective attenuation of vascular restenosis following local delivery of chitosan decorated sirolimus liposomes. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1461–1469, 2017.

HENCH, B. Ceramics, Bioglasses and Glass-Ceramics Basic Principles In: RATNER, B.D. (Ed.) **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**, Academic Press, 2013, p. 128-155.

HERNÁNDEZ-MONTELONGO, J. et al. Nanofilms of hyaluronan/chitosan assembled layer-by-layer: An antibacterial surface for *Xylella fastidiosa*. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 1–11, 2016.

HOFFMAN, A.S. Hydrogels for Biomedical Applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 54, p. 3-12, 2002.

HOLMES, C.; TABRIZIAN, M. Surface Functionalization of Biomaterials In: VISHWAKARMA, A.; SHARPE, P.; SONGTAO, S.; RAMALINGAM, M. (Ed.) **Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences**, Elsevier, 2015. p. 187–206.

HOPKINS, C. et al. Webbing and Delamination of Drug Eluting Stent Coatings. *Annals of Biomedical Engineering*, v. 44, n. 2, p. 419–431, 2016.

HOSSFELD, S. et al. Bioactive coronary stent coating based on layer-by-layer technology for siRNA release. **Acta Biomaterialia**, v. 9, p. 6741-6752, 2013.

HU, W.-W.; TSOU, S.-L. The effect of alginate on DNA delivery from layer-by-layer assembled films. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 240–248, 2014.

HUMPHREY, J.D.; BAROUTAJI, A. Mechanical and Physical Properties of Blood Vessels. In: HASHMI, S. (Ed.) *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*. Elsevier, 2016.

HUXLEY, R.R; TAYLOR, R.; DOBSON, A. Risk Factors. In: QUAH, S.R. (Ed.) **International Encyclopedia of Public Health**. Academic Press, Oxford, Pages 383-392, 2017.

HWANG, J.K.; SHIN, H.H., Rheological properties of chitosan solutions. **Korea-Australia Rheology Journal**, v. 12, v. 3, 2000.

IBRAGIMOVA, A. R. et al. Polyelectrolyte nanocapsules with controlled properties fabricated by layer-by-layer deposition of polyethyleneimine and graft-copolyimide with polymethacrylic acid side chains. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 526, p. 20–28, 2017.

IM, S. H.; JUNG, Y.; KIM, S. H. Current status and future direction of biodegradable metallic and polymeric vascular scaffolds for next-generation stents. *Acta Biomaterialia*, 2017.

JACKSON, M.J.; AHMED, W. Surface Engineering Artificial Heart Valves to Improve Quality of Life and Lifetime using Modified Diamond-like Coatings. In: JACKSON, M.J.; AHMED, W. (Ed.) **Surface Engineered Surgical Tools and Medical Devices**, Springer US, 2007. p. 99-139.

JAFARKHANI, M.; FAZLALI, A.; MOZTARZADEH, A.; MOZTARZADEH, Z.; MOZAFAR, M. Fabrication and Characterization of PLLA/Chitosan/Nano Calcium Phosphate Scaffolds by Freeze-Casting Technique. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 9241-9249, 2012.

JAGANATHAN, A.K.; SUPRIYANTO, E.; MURUGESAN, S.; BALAJI, A.; ASOKAN, M.K. Biomaterials in Cardiovascular Research: Applications and Clinical Implications. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

JENNINGS, J.A. et al. Chitosan coatings to control release and target tissues for therapeutic delivery. **Therapeutic Delivery**, v. 6, p. 855-871, 2015.

JING, X.; MIA, H.Y.; PENG, J.; PENG, X.F.; TURNG, L.S. Electrospun aligned poly(propylene carbonate) microfibers with chitosan nanofibers as tissue engineering scaffolds. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p 941–949, 2015.

JOKAR, M.; ALIOFKHAZRAEI, M. Surface Preparation and Adhesion Tests of Coatings In: HASHMI, M.S.J. (Ed.) **Comprehensive Materials Finishing**, Oxford, Elsevier, 2017, p. 306-335.

KATAYAMA, Y. et al. Two-year vascular responses to drug-eluting stents with biodegradable polymer versus durable polymer: An optical coherence tomography sub-study of the NEXT. **Journal of Cardiology**, 2017.

KAVALLARIS M. Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. **Nat Rev Cancer**. v. 10(3), p. 194-204, 2010.

KELLER, L. et al. Chitosan-based nanocomposites for the repair of bone defects. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2017.

KHAN, W.; FARAH, S.; DOMB, A. J. Drug eluting stents: developments and current status, *Journal of Controlled Release. Official Journal of the Controlled Release Society*, v. 161, n. 2, p. 703–12, 2012.

KHOR, E.; WAN, A.C.A. **Chitin: Fulfilling a Biomaterials Promise**, Elsevier: 2014. ISBN: 978-0-08-099939-5.

KIM, S.; KANG, Y.; KRUEGER, C.A.; SEN, M.; HOLCOMB, J.B.; CHEN, D.; WENKE, J.C.; YANG, Y. Sequential delivery of BMP-2 and IGF-1 using a chitosan gel with gelatin microspheres enhances early osteoblastic differentiation. *Acta Biomaterialia*, v. 8(5), p. 1768-1777, 2012.

KIM, S.J.; PARK, J.G.; KIM, J.H.; HEO, J.S.; CHOI, J.W.; JANG, Y.S.; YOON, J. LEE, S.J.; KWON, I.K.; Development of a biodegradable sirolimus-eluting stent coated by ultrasonic atomizing spray. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 11, p. 5689-5897, 2011.

KOLANDAIVELU, K.; RIKHTEGAR, F. The Systems Biocompatibility of Coronary Stenting. *Interventional Cardiology Clinics*, v. 5, n. 3, p. 295–306, 2016.

KOLANDAIVELU, K.; SWAMINATHAN, R.; GIBSON, W.J.; KOLACHALAMA, V.B.; NGUYEN-EHRENREICH, K.L.; GIDDINGS, V.L.; COLEMAN, L.; WONG, G.K.; EDELMAN, E.R. Stent Thrombogenicity Early in High-Risk Interventional Settings Is Driven by Stent Design and Deployment and Protected by Polymer-Drug Coatings. *Circulation*, v. 123, p. 1400-1409, 2011.

KOWALSKI, P.; ŁOSIEWICZ, B.; GORYCZKA, T. Deposition Of Chitosan Layers On Niti Shape Memory Alloy. *Archives of Metallurgy and materials*, v. 60, i.1, 2015

KUFNER, S.; CASSESE, S.; VALESKINI, M.; NEUMANN, F.J.; SCHULZ-SCHÜPKE, S.; HOPPMANN, P.; FUSARO, M.; SCHUNKERT, H.; LAUGWITZ, K.L.; KASTRATI, A.; BYRNE, R.A. Long-Term Efficacy and Safety of Paclitaxel-Eluting Balloon for the Treatment of Drug-Eluting Stent Restenosis: 3-Year Results of a Randomized Controlled Trial. *JACC: Cardiovascular Interventions*, v.8, i.7, p. 877-884, 2015.

KULIG, D. et al. Study on Alginate–Chitosan Complex Formed with Different Polymers Ratio. *Polymers*, v. 8, n. 167, 2016.

KUMAR, S. S. D.; MAHESH, A.; MAHADEVAN, S.; MANDAL, A. B. Synthesis and characterization of curcumin loaded polymer/lipid based nanoparticles and evaluation of their antitumor effects on MCF-7 cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. v. 1840, n. 6, p.1913-1922, 2014.

LABARRE, D. Improving blood-compatibility of polymeric surfaces. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, v. 15, p. 1–3, 2001.

LACERDA, L.; PARIZE, A. L.; FÁVERE, V.; LARANJEIRA, M. C. M.; STULZER, H. K. Development and evaluation of pH-sensitive sodium alginate/chitosan microparticles containing the antituberculosis drug rifampicin. *Materials Science and Engineering: C*. v. 39, p. 161–167. 2014.

LADEIRAS-LOPES, R.; AGEWALL, S.; TAWAKOL, A.; STAELS, B.; STEIN, E.; MENTZ, R.J.; LEITE-MOREIRA, A.; ZANNAD, F.; KOENIG, W. Atherosclerosis: Recent trials, new targets and future directions, **International Journal of Cardiology**, v. 192, p. 72-81, 2015.

LAM, K.M. et al. Comparison of 3 biodegradable polymer and durable polymer-based drug-eluting stents in all-comers (BIO-RESORT): Rationale and study design of the randomized TWENTE III multicenter trial. **American Heart Journal**, v. 167, n. 4, p. 445-451, 2014.

LANZA, R.; LANGER, R.; VACANTI, J.P. **Principles of Tissue Engineering**. 2014. Fourth Edition, 2014.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. de. Quitosana: biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.672-678, 2009.

LAURA, F.; ANDREI, P.; NATALIA, S.; ION N, M. Polymer-Bioglass Composite Coatings: A Promising Alternative for Advanced Biomedical Implants. In: CUPPOLETTI, J. (Ed.) **Metal, Ceramics and Polymeric Composite for Various Uses**. Intech, 2011, p. 393-420.

LAWRIE, G.; KEEN, I.; DREW, B.; CHANDLER-TEMPLE, A.; RINTOUL, L.; FREDERICKS, P; GRØNDAHL, L. Interactions between Alginate and Chitosan Biopolymers Characterized Using FTIR and XPS. **Biomacromolecules**, v. 8, p. 2533-2541, 2007.

LEE, H.J.; PARK, T.K.; SONG, Y.B.; CHOI, Y.J.; YU, C.W.; YANG, J.H.; HAHN, J.Y.; CHOI, S.H.; CHOI, R.K.; CHOI, J.H.; PARK, J.S.; KIM, J.S.; KIM, T.H.; JANG, H.J.; LEE, S.H.; SHIM, W.H.; ROH, Y.M.; GWON, H.C. Biodegradable polymer biolimus-eluting stent versus durable polymer everolimus-eluting stent in patients with acute myocardial infarction. **International Journal of Cardiology**, v. 183, p. 190-197, 2015.

LEVINE, B.; DELLA VALLE, C.J.; JACOBS, J.J. Applications of porous tantalum in total hip arthroplasty. **J Am Acad Orthop Surg**, v. 14(12), p. 646-655, 2006.

LEVY, Y.; MANDLER, D.; WEINBERGER, J.; DOMB, A.J. Evaluation of Drug-Eluting Stents' Coating Durability—Clinical and Regulatory Implications. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 91, p. 441-451, 2009.

LI, L.; NAZANIN, M.; ALUN, M.; ZHU, L.; WANG, T. Enhancement of Endothelialisation of Coronary Stents by Laser Surface Engineering. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 45, p. 608–616, 2013.

LI, P. H.; CHU, P. K. Thin film deposition technologies and processing of biomaterials. In: GRISSER, H.J. (Ed.) **Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications**, Elsevier, p. 3–28, 2016.

LI, P.; ZHANG, X.; XU, R.; WANG, W.; LIU, X.; YEUNG, K.W.K.; CHU, P.K. Electrochemically deposited chitosan/Ag complex coatings on biomedical NiTi alloy for antibacterial application. **Surface & Coatings Technology**, v. 232, p. 370–375, 2013.

LI, Y.; CHENG, C.; WANG, N.; TAN, H.; TSAI, Y. HSIAO, C.; MA, D.H.; YEH, L. Characterization of the modified chitosan membrane cross-linked with genipin for the cultured corneal epithelial cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 126, p. 237- 244, 2015.

LIANG, C. et al. Biomimetic cardiovascular stents for in vivo re-endothelialization. **Biomaterials**, v. 103, p. 170–182, 2016.

LIU, H. et al. Improving hemocompatibility and accelerating endothelialization of vascular stents by a copper-titanium film. **Materials Science and Engineering C**, v. 69, p. 1175–1182, 2016.

LIU, P. et al. Construction of extracellular microenvironment to improve surface endothelialization of NiTi alloy substrate. **Materials Science and Engineering: C**, v. 55, p. 1–7, 2015.

LIU, R.; ZHUANG, X.; XU, X.; CHENG, G. Solution blowing of chitosan/PVA hydrogel nanofiber mats. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 1116-1121, 2014.

LIU, X.; PENG, W.; WANG, Y.; ZHU, M.; SUN, T.; PENG, Q.; ZENQ, Y.; FENQ, B.; LU, X.; WENG, J.; WANG, J. Synthesis of an RGD-grafted oxidized sodium alginate N-succinyl chitosan hydrogel and an in vitro study of endothelial and osteogenic differentiation. **J Mater Chem**, v. 1(35), p. 448-492, 2013.

LIU, Y.; GAO, L.; SONG, Y.; CHEN, L.; XUE, Q.; TIAN, J.; WANG, Y.; CHEN, Y. Efficacy and safety of limus-eluting versus paclitaxel-eluting coronary artery stents in patients with diabetes mellitus: A meta-analysis. **International Journal of Cardiology**, v. 184, p. 680–691, 2015.

LIU, Y.; YANG, J.; ZHOU, Y.; HU, J. Structure Design of Vascular Stents In: LIN. S.; QIAN, D. (Ed.) **Multiscale Simulations and Mechanics of Biological Materials**. John Wiley & Sons Ltd, Oxford, UK, 2013, p. 301-317.

LIVINGSTON, M.; TAN, A. Coating techniques and release kinetics of drug-eluting stents. **Journal of Medical Devices, Transactions of the ASME**, v. 10, i. 1, 2016.

LIZARDI-MENDOZA, J.; MONAL, W.M.A.; VALENCIA, F.M.G. Chemical Characteristics and Functional Properties of Chitosan. In: BAUTISTA-BAÑOS, S.; ROMANAZZI, G.; JIMÉNEZ-APARICIO, A. **Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities**. Elsevier, 2016.

LUTTER, C.; NOTHHAFTA, M.; RZANYB, A.; GARLICHSA, C.D.; CICHAA, I.C. Effect of specific surface microstructures on substrate endothelialisation and thrombogenicity: Importance for stent design. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 59, p. 219–233, 2015.

MA, S. et al. Solvent effect on hydrogen-bonded thin film of poly(vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid) prepared by layer-by-layer assembly. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 471, p. 11–18, 2015.

MAHAPATRO, A. Bio-functional nano-coatings on metallic biomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 55, p. 227–251, 2015.

MARCONI, M.A.; LAKATOS, E.M. **Metodologia científica**. São Paulo: Atlas, 2011. ISBN: 9788522466252.

MARTINS, A.; OLIVEIRA, D.M.; PEREIRA, A.G.B.; RUBIRA, A.K.; MUNIZ, E.C. Chitosan/TPP microparticles obtained by microemulsion method applied in controlled release of heparin. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 51, n.5, p. 1127-1133, 2012

MATHUR, N. K.; NARANG, C.K. Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals. **Journal of Chemical Education**, Madison, v.67, n.11, p.938–942, 1990.

MA'MANI, L.; NIKZAD, S.; KHEIRI-MANJILI, H.; AL-MUSAWI, S.; SAEEDI, M.; ASKARLOU, S.; FOROUMADI, A.; SHAFIEE, A. Curcumin-loaded guanidine functionalized PEGylated I3ad mesoporous silica nanoparticles KIT-6: Practical strategy for the breast cancer therapy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 83, p. 646-654, 2014.

MCGRATH, D.J.; O'BRIEN, B.; BRUZZI, M.; KELLY, N.; CLAUSER, J.; STEINSEIFER, U.; MCHUGH, P.E. Evaluation of Cover Effects on Bare Stent Mechanical Response. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 61, p. 567-580, 2016.

MCNICHOLS, C.; WILKINS, J.; KUBOTA, A.; SHIU, Y.T.; AOUADI, S.M.; KOHLI, P. Investigating surface topology and cyclic-RGD peptide functionalization on vascular endothelialization. **Journal of Biomedical Materials Research. Part A**, v. 102(2), p. 532-539, 2013.

MENG, S.; LIU, Z.; SHEN, LI.; GUO, Z.; CHOU, L.L.; ZHONG, W.; DU, Q.; GE, J. The effect of a layer-by-layer chitosan–heparin coating on the endothelialization and coagulation properties of a coronary stent system. **Biomaterials**, v. 30, p. 2276–2283, 2009.

MIGLIONICO, M.; MANGIACAPRA, F.; NUSCA, A.; SCORDINO, D.; GALLO, P.; CAMPANALE, M.; MELFI, R.; DI SCIASCIO, G. Efficacy and Safety of Paclitaxel-Coated Balloon for the Treatment of In-Stent Restenosis in High-Risk Patients. **The American Journal of Cardiology**, v. 116, i. 11, p. 1690–1694, 2015.

MITSUISHI, M.; CAO, J.; BÁRTOLO, P.; FRIEDRICH, D.; SHIH, A. J.; RAJURKAR, K.; SUGITA, N; HARADA, K. **Biomanufacturing. CIRP Annals - Manufacturing Technology**. v. 62, n.2, p.585–606. 2013.

MUXIKA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2017.

NATSUAKI, M.; KOZUMA, K.; MORIMOTO, T.; KADOTA, K.; MURAMATSU, T.; NAKAGAWA, Y.; AKASAKA, T.; IGARASHI, K.; TANABE, K.; MORINO, Y.; ISHIKAWA, T.; NISHIKAWA, H.; AWATA, M.; ABE, M.; OKADA, H.; TAKATSU, Y.; OGATA, N.; KIMURA, K.; URASAWA, K.; TARUTANI, Y.; SHIODE, N.; KIMURA, T. Biodegradable Polymer Biolimus-Eluting Stent Versus Durable Polymer Everolimus-Eluting Stent a Randomized, Controlled, Noninferiority Trial. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, n. 3, 2013.

NISHIGUCHI, A.; MATSUSAKI, M.; AKASHI, M. Cell-Cell Crosslinking by Bio-Molecular Recognition of Heparin-Based Layer-by-Layer Nanofilms. **Macromolecular Bioscience**, v. 15, n. 3, p. 312–317, 2015.

NOTARA, C.A.; SCOTCHFORD, D.M.; GRANT, N.; WESTON, G.A.F.; ROBERT, M. Cytocompatibility and hemocompatibility of a novel chitosan-alginate gel system. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 89A, 2009.

NOURI, A.; WEN, C. Introduction to surface coating and modification for metallic biomaterials. In: WEN, C. (Ed.) **Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials**, Elsevier, 2015.

NUNES, B. N. et al. Layer-by-layer assembled photocatalysts for environmental remediation and solar energy conversion. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 32, p. 1–20, 2017.

NUSSINOVITCH, U.; SHOENFELD, Y. The clinical and diagnostic significance of anti-myosin autoantibodies in cardiac disease. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 44, p. 98-108, 2013.

NWE, N.; FURUIKE, T.; TAMURA, H. Isolation and characterization of chitin and chitosan from marine origin. **Advances and Food and Nutrition Research**, v. 72, p. 1-15, 2014.

O'FLAHERTY, M.; SANS-MENENDEZ, S.; CAPEWELL, S.; JØRGENSEN, T. Epidemiology of atherosclerotic cardiovascular disease: scope of the problem and its determinants. **The ESC Textbook of Preventive Cardiology**, p.3-18, 2015.

O'NEAL, J. T. et al. Hydrogen-bonded polymer nanocomposites containing discrete layers of gold nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 485, p. 260–268, 2017.

OLIVEIRA, L.S.A.F.; OLIVEIRA, C.S.; MACHADO, A.P.L.; ROSA, F.P. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, p. 37-44, 2010.

OLIVEIRA, S.S.L. **Desenvolvimento de Arcabouços de Quitosana/Hidroxiapatita para Liberação Controlada de Fármacos**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia

de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Campina Grande – PB.

OSHIDA, Y.; GUVEN, Y.; Biocompatible coatings for metallic biomaterials. In: WEN, C. (Ed.) **Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials**, Elsevier, 2015.

PAGANIAS, C.G.; TSAKOTOS, G.A.; KOUTSOSTATHIS, S.D.; MACHERAS, G.A. Osseous integration in porous tantalum implants. **Indian Journal of Orthopaedics**, v. 46(5), p. 505–513, 2012.

PAN, C.J. HOU, Y.H.; ZHANG, B.B. ZHANG, L.C. Fabrication of anticoagulation layer on titanium surface by sequential immobilization of poly (ethylene glycol) and albumin. **Biomedical Materials and Engineering**, v. 24, p. 781-787, 2014.

PANT, S.; BRESSLOFF, N.W.; LIMBERT, G. Geometry Parameterization and Multidisciplinary Constrained. **Biomechanics and Modeling in Mechanobiology**, v. 11(1-2), p. 61-82, 2012.

PARIZE. A. L.; STULZER, H. K.; LARANJEIRA, M. C. M.; BRIGHENTE, I. M. DA C.; SOUZA, T. C. R. de. Evaluation of chitosan microparticles containing curcumin and crosslinked with sodium tripolyphosphate produced by spray drying. **Química Nova**, v.35, n. 6, p.1127-1132, 2012.

PARK, et al. Atherosclerotic Plaque Characteristics by CT Angiography Identify Coronary Lesions That Cause Ischemia a Direct Comparison to Fractional Flow Reserve. **JACC: Cardiovascular Imaging**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2015.

PARK, J.H.; SHIN, U.S.; KIM, H.W. Alginate-Microfibers Produced by Self-Assembly in Cell Culture Medium. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 32, 2011.

PASPARAKIS, G.; BOUROPOULOS, N. Swelling studies and in vitro release of verapamil from calcium alginate and calcium alginate–chitosan beads. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, n.1–2, p. 34 - 42, 2006.

PATEL, N.R.; GOHIL, P.P. A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance. **International Journal of Emerging Technology and Advanced Engineering**, v. 2, i. 4, 2012.

PELLEGRINI, D.O. GOMES, V.O.; LASEVITCH, R.; SMIDT, L.; AZEREDO, M.A.; LEDUR, P.; BODANESE, R.; SINNOTT, L.; MORIGUCHI, E.; CARAMORI, P. Eficácia e Segurança de Stents Eluidores de Drogas no Mundo Real: Acompanhamento de 8 Anos, **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 103, n. 3, p. 174-182, 2014.

PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL, W.; GOYCOOLEA, F.M. Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications. In: BELGACEM M.N.; GANDINI, A. (Ed.) **Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources**. Elsevier, p. 517, 2008.

PEREZ, E.A. Microtubule inhibitors: Differentiating tubulin-inhibiting agents based on mechanisms of action, clinical activity, and resistance, **Mol Cancer Ther**, v. 8, 2009.

PHUA, K. K. L.; ROBERTS, E. R. H.; LEONG, K. W. Degradable Polymers. In: DUCHEYNE, P. (Ed.) **Comprehensive Biomaterials II**. p. 516–553, 2017.

PILLAI, C.K.S.; PAUL, W.; SHARMA, C.P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 641–678, 2009.

PIRES, A.L.R.; BIERHALZ, A.C.K.; MORAES, A.M. Biomateriais: Tipos, Aplicações e Mercado, **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 057-971, 2015.

PONSONNET, L.; REYBIERA, K.; JAFFREZICA, N.; COMTEB, V.; LAGNEAUB, C.; LISSACB, M.; MARTELET, C. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behavior. **Materials Science and Engineering C**, v. 23, p. 551 – 560, 2003.

PRAKASH, C. **Development of Chitosan and Sodium Alginate Composite Coating on 316l Stainless Steel y Electrochemical Method**. 2014. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Engenharia Biomédica). Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Instituto Nacional de Tecnologia de Rourkela, Rourkela-India.

PRASAD, S.; GUPTA, S. C.; TYAGI, A. K.; AGGARWAL, B. B. Curcumin, a component of golden spice: From bedside to bench and back. **Biotechnology Advances**. v. 32, n. 6, p. 1053–1064, 2014.

PURANIK, A. S.; DAWSON, E. R.; PEPPAS, N. A. Recent advances in drug eluting stents, **International journal of pharmaceutics**, v. 29, p. 1–15, 2013.

QI, P.; MAITZ, M.F.; HUANG, N. Surface modification of cardiovascular materials and implants. **Surface & Coatings Technology**, v. 233, p. 80–90, 2013.

RABER, L. et al. Effect of biolimus eluting stents with biodegradable polymer vs bare-metal stents on cardiovascular events among patients with acute myocardial infarction: the COMFORTABLE AMI randomized trial, **The Journal of the American Medical Association**, v. 308, n. 8, p. 777-787, 2012.

RAHAMAN, M.N. et al. Bioactive Glass in Tissue Engineering, **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 2355-2373, 2011.

RAO, W.; ZHANG, W.; POVENTUD-FUENTES, I.; WANG, Y.; LEUS, Y.; AGARWAL, P. ; WEEKES, B.; LI, C. ; LU, X.; YU, J. ; HE, X. Thermally responsive nanoparticleencapsulated curcumin and its combination with mild hyperthermia for enhanced cancer cell destruction. **Acta Biomaterialia**. v.10, n. 2, p. 831-842, 2014.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E., **Biomaterials Science – An Introduction to Materials in Medicine**, Elsevier: Oxford, 2013. ISBN: 978-0-12-374626-9.

REN, L.; YANG, K. Bio-functional Design for Metal Implants, a New Concept for Development of Metallic Biomaterials. **Journal of Materials Science & Technology**, v. 29, n. 11, p. 1005-1010, 2013.

RICHARDSON, J.J.; BJÖRNMALM, M.; CARUSO, F. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms. **Science**, v. 348, i. 6233, 2015.

RICHERT, L.; LAVALLE, P.; PAYAN, E.; SHU, X.Z.; PRESTWICH, G.D.; STOLTZ, P. SCHAAF, J.F.; VOEGEL, J.C; PICART, C. Layer by Layer Buildup of Polysaccharide Films: Physical Chemistry and Cellular Adhesion Aspects. **Langmuir**, v. 20, p. 448-458, 2004.

RODRIGUES, L.B. Aplicação de Biomateriais em Engenharia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9(2), p. :63-76, 2013.

ROGUIN, A. Stent: The Man and Word Behind the Coronary Metal Prosthesis. **Circulation: Cardiovascular Interventions**, v. 4, p. 206-209, 2011.

ROOPMANI, R. SWAMINATHAN, S. SATHEESH, S., KRISHNAN, U.M. The Metamorphosis of Vascular Stents: passive structures to smart devices. **RSC Advance**, v. 6, p. 2835-2853, 2016.

SALEHI-NIK, N. et al. Sustained release of growth hormone and sodium nitrite from biomimetic collagen coating immobilized on silicone tubes improves endothelialization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 77, p. 1204–1215, 2017.

SANTOS, L.A.L. Natural Polymeric Biomaterials: Processing and Properties. In: Reference Module. HASMI, S. (Ed.) In **Materials Science and Materials Engineering**, Elsevier, 2017.

SHIMOJO, A. A. M.; PEREZ, A. G. M.; RODRIGUES, A. A.; LANA, J. F. S. D. LUZO, Â. C. M.; BELANGERO, W.D.; SANTANA, M. H. A. Preparação e Caracterização de Complexos Polieletrólitos de Ácido Hialurônico-Quitosana para Aplicação como Scaffolds do Plasma Rico em Plaquetas. 2012. **Anais VII Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais - COLAOB**. Natal.

SHU, Y.; OU, G.; WANG, LI.; ZOU, Z.; LI, Q. Surface Modification of Titanium with Heparin-Chitosan Multilayers via Layer-by-Layer Self-Assembly Technique. **Journal of Nanomaterials**, v. 2011, 2011.

SHUKLA, S. K.; MISHRA, A. K.; AROTIBA, O. A.; MAMBA, B. B. Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 59, p. 46–58, 2013.

SILVA, M.C. **Arcabouços Quitosana/Curcumina como Sistema de Liberação Controlada para Tratamento de Câncer de Mama**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande-UFCG, Campina Grande – PB.

SILVA, N.C.; NASCIMENTO, I.; RIBEIRO, V.S.; LIA FOOK, M.V. Evaluation of the obtaining method of chitosan/ curcumin scaffolds on the structure, morphology and thermal properties **Matéria**, v. 21(3), p.560-568, 2016.

SIONKOWSKA, A. Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review, **Progress in Polymer Science**, v. 36, p. 1254-1276, 2011.

SKOP, N. B.; CALDERON, F.; LEVISON, S. W.; GANDHI, C. D.; CHO, C. H. Heparin crosslinked chitosan microspheres for the delivery of neural stem cells and growth factors for central nervous system repair. **Acta Biomaterialia**. v. 9, n. 6, p. 6834-6843. 2013.

SMITS, P.C.; HOFMA, S.; TOGNI, M.; VÁZQUEZ, N.; VALDÉS, M.; VOUDRIS, V.; SLAGBOOM, T.; GOY, J.; VUILLOMENET, A.; SERRA, A.; NOUCHE, R.T.; HEIJER, P.; ENT, M. Abluminal biodegradable polymer biolimus-eluting stent versus durable polymer everolimus-eluting stent (COMPARE II): a randomised, controlled, non-inferiority trial, **The Lancet**, v. 381, i. 9867, p. 651–660, 2013.

SNYDER, T.A.; EASH, H.J.; LITWAK, K.N.; FRANKOWSKI, B.J.; HATTLER, B.G.; FEDERSPIEL, W.J. Blood biocompatibility assessment of an intravenous gas exchange device. **Artificial Organs**, v. 30. P. 657-654, 2006.

SOGIAS, I.A.; KHUTORYANSKY, V.V.; WILLIAMS, A.C. Exploring the factors affecting solubility of chitosan in water. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 211, p. 426-433, 2010.

SOSNIK, A. Alginate Particles as Platform for Drug Delivery by the Oral Route: State-of-the-Art. **ISRN Pharmaceutics**, v. 2014, 2014.

STEFANINI, G.G.; BYRNE, R.A.; SERRUYS, P.W.; DE WAHA, A.; MEIER, B.; MASSBERG, S.; JÜNI, P.; SCHÖMIG, A.; WINDECKER, S.; KASTRATI, A. Biodegradable polymer drug-eluting stents reduce the risk of stent thrombosis at 4 years in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a pooled analysis of individual patient data from the ISAR-TEST 3, ISAR-TEST 4, and LEADERS randomized trials. **European Heart Journal**, v. 33, n. 10, p.1214-1222, 2012.

SU, P.G.; SHIEH, H.C. Flexible NO sensors fabricated by layer-by-layer covalent anchoring and in situ reduction of graphene oxide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 190, p. 865-872, 2014.

SZYMANSKI, J.M.; FEINBERG, A.W. Fabrication of Freestanding Alginate Microfibers and Microstructures for Tissue Engineering Applications. **Biofabrication**, v. 6, 2014.

SZYMANSKA, E.; WINNICKA, K. Stability of Chitosan – A Challenge for Pharmaceutical and Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 13, p. 1819-1846, 2015.

SZARPAK-JANKOWSKA, A.; JING, J.; AUZÉLY-VELTY, R. Layer-by-Layer Microcapsules Based on Functional Polysaccharides. In: PICART, C.; CARUSO, F.;

VOEGEL, J.C. (ed.) **Layer-by-Layer Films for Biomedical Applications**. Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2015. P295-308.

TAGHIZADEH, S.M.; DAVARI, G. Preparation, characterization, and swelling behavior of N-acetylated and deacetylated chitosans. **Carbohydrate Polymers**. v.64, n.1, p. 9-15, 2006.

TALEB, S., Inflammation in atherosclerosis, **Archives of Cardiovascular Diseases**, v. 109, i. 12, p. 708-715, 2016.

TAKETA, T. B.; BEPPU, M. M. Layer-by-Layer Thin Films of Alginate/Chitosan and Hyaluronic Acid/Chitosan with Tunable Thickness and Surface Roughness. **Materials Science Forum**, v. 783–786, p. 1226–1231, 2014.

TAKIMURA, C. K. et al. Estudo Pré-Clínico de Stent com Polímero Biodegradável e Liberação Abluminal de Sirolimus. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 5, p. 432-440, 2014.

TANG, J. et al. Inhibiting macrophage proliferation suppresses atherosclerotic plaque inflammation. **Science Advances**, v. 1, n. 3, 2015.

TEGOS, T.J.; KALODIKI, E.; SABETAI, M.M.; NICOLAIDES, A.N. The genesis of atherosclerosis and risk factors: a review. **Angiology** v.52, n. 2, p. 89-97, 2001.

TIWARI, R.K.; SINGH, L.; SHARMA, V. Alginate Micro-Beads in Novel Drug Delivery System: An Overview. **IJPT**, v. 5, 2013.

TRINDADE, I.S. Stent é realmente um epônimo? **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, v. 11, n. 4, p. 64-66, 2003.

TRIPLETT, R.G.; BUDINSKAYA, O. New Frontiers in Biomaterials. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 29, n. 1, p. 105–115, 2017.

VASCONCELLOS, F.C.; SWISTON, A.J.; BEPPU, M.M.; COHEN, R.E.; RUBNER M.F, Bioactive Polyelectrolyte Multilayers: Hyaluronic Acid Mediated B Lymphocyte Adhesion. **Biomacromolecules**, v. 11, p. 2407-2414, 2010.

VALLITTU, P.K.; NÄRHI, T.O.; HUPA, L. Fiber glass–bioactive glass composite for bone replacing and bone anchoring implants. **Dental Materials**, v. 31, p. 371, 381, 2015.

VECHIETTI, F.A. **Estudo das Temperaturas de Transformação de Fases e da Caracterização da Superfície da Liga NiTi Submetida a Diferentes Tratamentos Térmicos para Aplicação em Órteses Metálicas**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, Porto Alegre-RS.

VENKATESAN, J.; KIM, S.K. Chitosan composites for bone tissue engineering - An overview. **Mar Drugs**, v. 8(8), p. 225-266, 2010.

VIMALA, K.; MOHAN, Y. M.; SIVUDU, K.S.; VARAPRASAD, K.; RAVINDRA, S.; REDDY, N. N.; PADMA, Y.; SREEDHAR, B.; MOHANARAJU, K.; Fabrication of porous chitosan films impregnated with silver nanoparticles: A facile approach for superior antibacterial application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 76 p. 248-258, 2010.

VIMALA, K.; MOHAN, Y. M.; VARAPRASAD, K.; REDD, N. N.; RAVINDRA, S.; NAIDU, N. S.; RAJU, K. M. Fabrication of Curcumin Encapsulated Chitosan-PVA Silver Nanocomposite Films for Improved Antimicrobial Activity. **Journal of Biomaterials e Nanobiotecnologia**. v.2, n.1, p.55-64, 2011.

VLACHOJANNIS, G. J. et al. Biodegradable Polymer Biolimus-Eluting Stents Versus Durable Polymer Everolimus-Eluting Stents in Patients With Coronary Artery Disease. **JACC: Cardiovascular Interventions**, v. 10, n. 12, p. 1215–1221, 2017.

WAHA, A. et al. Long-term outcomes of biodegradable versus durable polymer drug-eluting stents in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: a pooled analysis of individual patient data from three randomised trials. **EuroIntervention**, v. 10, n. 12, p. 1425-1431, 2015.

WANG, J.; SMITH, C.E.; SANKAR, J.; YUN, Y.; HUANG, N. Absorbable magnesium-based stent: physiological factors to consider for in vitro degradation assessments. **Regenerative Biomaterials**, p. 59-69, 2015.

WANG, L. et al. Long-term Outcomes of Drug-eluting versus Bare-metal stent for ST-elevation Myocardial Infarction. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 102, n. 6, p. 529-538, 2014.

WANG, Z. et al., Electrodeposition of alginate/chitosan layer-by-layer compositecoatings on titanium substrates. **Carbohydrate Polymers**, v. 103, p. 38-45, 2014.

WEM, W.; MA, L.M.; HE, W.; ZHANG, Y.; WANG, X.; LIU, L.; FAN, Z.N. Silver-nanoparticle-coated biliary stent inhibits bacterial adhesion in bacterial cholangitis in swine. **Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International**, v. 12, i. 1, p. 87-92, 2016.

WU, M.H.; CAO, H. Characterization of Cardiovascular Implantable Devices. In: BANDHYOPADHYA, A.; BOSE, S. (Ed.) Characterization of Biomaterials. Elsevier, 2013.

XI, M. JIN, J.; ZHANG, B. Surface modification of poly(propylene carbonate) by layer-by-layer assembly and its hemocompatibility. **RSC Advances**, v. 4, I 73, p. 38943-38950, 2014.

XIAO Y.; ZHAO, L.; SHI, Y.; LIU, N.; LIU, Y.; LIU, B.; XU, Q.; HE, C.; CHEN, X. Surface Modification of 316L Stainless Steel by Grafting Methoxy Poly(ethylene glycol) to Improve the Biocompatibility. **Chem. Res. Chin. Univ**, v. 31(4), p. 651-657, 2015.

XIAO, J.; NIAN, S.; HUANG, Q. Assembly of kafirin/carboxymethyl chitosan nanoparticles to enhance the cellular uptake of curcumin. **Food Hydrocolloids**. v.51, p.166-175, 2015.

YANG, J. M.; TSAI, R.-Z.; HSU, C.-C. Protein adsorption on polyanion/polycation layer-by-layer assembled polyelectrolyte films. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 142, p. 98–104, 2016.

YAMANLAR, S.; SANT, S.; BOUDOU, T.; PICART, C.; KHADEMHOSEINI, A. Surface functionalization of hyaluronic acid hydrogels by polyelectrolyte multilayer films. **Biomaterials**, v. 32, p. 5590-5599, 2011.

YAMAZAKI, M. HUDSON, S.M.; Chitosan Derivatives for Bioadhesive/Hemostatic Applications: Chemical and Biological Aspects. In: HABIBI, Y.; LUCIA, L.A. (Ed.) **Polysaccharide Building Blocks: A Sustainable Approach to the Development of Renewable Biomaterials**. John Wiley & Sons, 2012. p. 199-226.

YANG, L.; HUANG, Y.; FEYERABEND, F.; Microstructure, mechanical and corrosion properties of Mg–Dy–Gd–Zr alloys for medical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 9(10), p. 8499– 8508, 2013.

YAZDANI, S. K. et al. Stent Coating Integrity of Durable and Biodegradable Coated Drug Eluting Stents. **Journal of Interventional Cardiology**, v. 29, n. 5, p. 483–490, 2016.

YE, S.; WANG, C.; LIU, X.; TONG, Z. Multilayer nanocapsules of polysaccharide chitosan and alginate through layer-by-layer assembly directly on PS nanoparticles for release, **Journal of Biomaterials Science - Polymer Edition**, v. 16, p. 909-923, 2005.

ZANDPARSA, R. Latest Biomaterials and Technology in Dentistry, **Dental Clinics of North America**, v. 58, p. 113–134, 2014.

ZAVAGLIA, C.A.C.; PRADO-SILVA, M.H. Feature Article: **Biomaterials** In: (HASHMI, M.S.J.) **Reference Module in Materials Science and Materials Engineering**, Elsevier, 2016.

ZHANG, J.; XIA, W.; LIU, P.; CHENG, Q.; TAHIROU, T.; HU, W.; LI, B.; Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 8, p. 1962-1987, 2010.

ZHANG, K.; LIU, T.; LI, J.A.; CHEN, J.Y.; WANG, J.; HUANG, N. Surface modification of implanted cardiovascular metal stents: From antithrombosis and antirestenosis to endothelialization **Journal of Biomedical Materials Research A**, v. 102(2), p. 588-609, 2014.

ZHANG, Q.; SHEN, Y.; TANG, C.; WU, X.; YU, Q.; WANG, G. Surface modification of coronary stents with SiCOH plasma nanocoatings for improving endothelialization and anticoagulation. **Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials**, v. 103B, i. 2, p. 464-472, 2015.

ZHAO, W.; KONG, M.; FENG, C.; CHENG, X.; LIU, Y.; CHEN, X. Investigation of gelling behavior of thiolated chitosan in alkaline condition and its application in stent coating. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 307–315, 2016

ZHOU, K.; ZHANG, X.; CHEN, Z.; SHI, L.; LI, W. Preparation and characterization of hydroxyapatite–sodium alginate scaffolds by extrusion freeforming. **Ceramics International**, v. 41, p. 14029-14034, 2015.

ZHU, X.; LOH, X.J. Layer-by-layer assemblies for antibacterial applications. **Biomaterials Science**, v. 3, i. 12, p. 1505-1518, 2015.