

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

Eudes Leonnán Gomes de Medeiros

**DESENVOLVIMENTO DE SCAFFOLDS NANOFIBRILARES DE VIDROS
BIOATIVOS PELO SOLUTION BLOW SPINNING (SBS)**

Campina Grande – PB

2018

Eudes Leonnán Gomes de Medeiros

**DESENVOLVIMENTO DE SCAFFOLDS NANOFIBRILARES DE VIDROS
BIOATIVOS PELO SOLUTION BLOW SPINNING (SBS)**

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

Orientador: Prof. Dr. Romualdo Rodrigues Menezes

Co-orientador: Prof. Dr. Eliton Souto de Medeiros

Campina Grande – PB

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

M488d Medeiros, Eudes Leonnán Gomes de.
Desenvolvimento de scaffolds nanofibrilares de vidros bioativos pelo solution blow spinning (SBS) / Eudes Leonnán Gomes de Medeiros. – Campina Grande, 2018.
93 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2018.
"Orientação: Prof. Dr. Romualdo Rodrigues Menezes, Prof. Dr. Eliton Souto de Medeiros".
Referências.

1. Nanotecnologia. 2. Engenharia de Tecidos. 3. Scaffolds. 4. Vidros Bioativos. I. Menezes, Romualdo Rodrigues. II. Medeiros, Eliton Souto de. III. Título.

CDU 620.3(043)

VITAE

Engenheiro de Materiais pela UFPB (2016)
Mestrando em Ciência e Engenharia de Materiais pela UFCG

EUDES LEONNAN GOMES DE MEDEIROS

**DESENVOLVIMENTO DE SCAFFOLDS NANOFIBROSOS DE BIOVIDROS
PRODUZIDOS POR SOLUTION BLOW SPINNING**

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

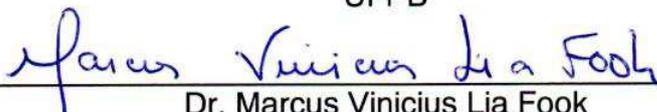
Aprovado em: 20/02/2018



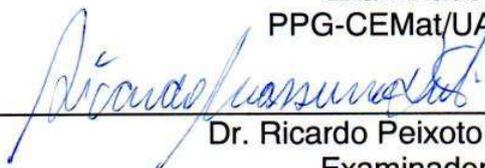
Dr. Romualdo Rodrigues Menezes
Orientador
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



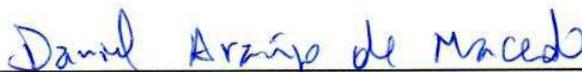
Dr. Eliton Souto de Medeiros
Orientador Externo
UFPB



Dr. Marcus Vinicius Lia Fook
Examinador Interno
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



Dr. Ricardo Peixoto Suassuna Dutra
Examinador Externo
UFPB



Dr. Daniel Araújo de Macedo
Examinador Externo
UFPB

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre ter me fortalecido e me ajudado a caminhar com saúde por onde quer que eu esteja, seja para o que for! Que a vontade Dele seja sempre a única opção.

Agradeço a minha família pelo amor, incentivo, e por sempre me mostrar o caminho do bem. Por terem sido minha base de apoio e suporte em todas as minhas decisões. A eles agradeço por acreditarem no meu potencial e investido em miha educação.

Aos professores Dr. Romualdo Rodrigues Menezes e Dr. Eliton Souto Medeiros por terem aceitado ser meus orientadores e por todos os ensinamentos repassados, que serão de grande valia na minha carreira acadêmica. Pelo companheirismo e pela boa convivência. Amigos e exemplos para mim!

Aos professores Dr. Marcus Vinicius Lia Fook, Dr. Ricardo Dutra e Dr. Daniel Macedo por terem aceitado o convite de ser a banca da minha dissertação. À eles agradeço por todas as sugestões que serão acrescentadas e só irão enriquecer o texto do presente trabalho.

Ao Laboratório de Tecnologia dos Materiais (LTM) e ao Laboratório de Materiais e Biosistemas (LaMaB) pelo uso de suas instalações para o desenvolvimeto deste trabalho e pelo ambiente amigável proporcionado.

Aos amigos e parceiros de Laboratório, Adillys e Mariaugusta por toda a ajuda e paciência. Meu muito obrigado especial a vocês!

Aos meus amigos Mykaell e Kleberton pela ajuda, pelo companheirismo, pela amizade e por toda parceria ao longo desses 2 anos de mestrado. Muito obrigado por tudo!

A Juliana, a Lilian e a Lucas por todo o suporte técnico e valoroso no realizar das análises e pela amizade.

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa científica e tecnológica.

À que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus eternos agradecimentos.

RESUMO

A engenharia de tecidos ósseos é um campo multidisciplinar promissor, no qual a nanotecnologia tem um papel fundamental no desenvolvimento de novas “abordagens”. Visando a substituição, reparação e reconstrução de tecidos, os *scaffolds*, estruturas tridimensionais com características específicas objetivando melhorar a viabilidade celular, proliferação e diferenciação osteogênica, são tidos como objetos de estudo sob várias perspectivas na engenharia de tecidos. Os vidros bioativos, neste caso, atraem a atenção dos pesquisadores como *scaffolds*, uma vez que são osteocondutivos e osteoindutivos. Nesse sentido, este trabalho é dividido em três partes, visando um estudo dos parâmetros da produção de pós via sol-gel, de fibras e de *scaffolds* nano fibrilares utilizando a técnica *Solution Blow Spinning* a partir dos sol-geis. Para os pós utilizou-se a composição 45S5 (46,1%SiO₂-26,9%Na₂O-24,4%CaO-2,6%P₂O₅ em mol) e como ácido catalítico os ácidos clorídrico, ácido cítrico e o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Como formador de rede, foi utilizado o tetraetil ortosilicato (TEOS). Os pós foram tratados termicamente em 600, 700 e 800 °C e avaliados através da análise térmica e difração de raios X. Fibras foram produzidas por SBS utilizando composições 45S5, 58S (60%SiO₂-36%CaO-4%P₂O₅ em mol) e 63S (65%SiO₂-31%CaO-4%P₂O₅ em mol). Como solução polimérica utilizou-se uma concentração de 8% de PVA (poli álcool vinílico) em água e pressões de fiação de 40, 50 e 60 psi. As fibras foram caracterizadas via microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios X (DRX). Posteriormente as fibras foram convertidas em *scaffolds* em 3 formatos diferentes: em mantas fibrosas, em formato cilíndrico e na forma de chumasso. As fibras 45S5 resultaram em amostras cristalinas, evidenciado pelo DRX, e muito quebradiças. Porém as fibras 58S e 63S, se apresentaram amorfas e com aspecto propício à conversão em *scaffolds*. O estudo da bioatividade foi acessado através do FTIR e do DRX em um fluido corpóreo simulado em tempos de imersão de 2, 12, 24, 36, e 168h. A avaliação da bioatividade mostrou a conversão em hidroapatita em 12h para a composição 58S e em apenas 2h para a composição 63S. As mantas fibrosas resultaram em estruturas com fibras alinhadas e a prensagem para a confecção do *scaffolds* cilíndricos mostrou não danificar a estrutura fibrilar, satisfazendo o propósito do trabalho.

Palavras-chave: Engenharia de tecidos; nanotecnologia; *scaffolds*; vidros bioativos.

ABSTRACT

The bone tissue engineering is a promising multidisciplinary field in which nanotechnology plays a key role in the development of new approaches. Aiming at tissue replacement, repair and reconstruction, the scaffolds, a three-dimensional structures with specific characteristics aiming at improving cell viability, proliferation and osteogenic differentiation are considered as objects of study under various perspectives in tissue engineering. Bioactive glasses in this case attract researchers' attention as scaffolds, since they are osteoconductive and osteoinductive. In this sense, this work is divided in three parts, aiming a study of the parameters of the production of powders via sol-gel, fibers and nano-fibrillary scaffolds using the Solution Blowing Spinning (SBS) technique from the sol-gels. For the powders it was used the composition 45S5 (46,1%SiO₂-26,9%Na₂O-24,4%CaO-2,6%P₂O₅ in mol) and hydrochloric acid, the citric acid and ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) it was used as the catalytic acid. The tetraethyl orthosilicate (TEOS) was used as the network former. The powders were heat treated at 600, 700 and 800 °C and evaluated by thermal analysis and X-ray diffraction. Fibers were produced by SBS according to 45S5, 58S (60%SiO₂-36%CaO-4%P₂O₅ in mol) and 63S (65%SiO₂-31%CaO-4%P₂O₅ in mol) compositions. As the polymer solution, a concentration of 8% of PVA (polyvinyl alcohol) in water and 40, 50 and 60 psi spinning pressures was used. The fibers were characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and X-ray diffraction (XRD). Subsequently, the fibers were converted into Scaffolds in three different formats: in fibrous blankets, in cylindrical shape and in the form of cotton. The 45S5 fibers resulted in crystalline samples, evidenced by XRD, and very brittle. However, the 58S and 63S fibers presented amorphous and excellent appearance for the conversion in scaffolds. The bioactivity study was accessed by FTIR and XRD in a Body Fluid Simulator at immersion times of 2, 12, 24, 36, and 168 h. The evaluation of the bioactivity showed the conversion to hydroapatite (HA) in 12h for the 58S composition and in just 2h for the 63S composition. The fibrous blankets resulted in structures with aligned fibers and the pressing for the making of the cylindrical scaffolds showed not to damage the fibrillar structure, satisfying the purpose of the work.

Keywords: tissue engineering; nanotechnology; scaffolds; bioactive glasses.

PUBLICAÇÕES

MEDEIROS, E. L. G.; SANTOS, ADILLYS M.C., MEDEIROS, ELITON S.; MENEZES, ROMUALDO R. Scaffolds de vidros bioativos: desenvolvimento de estruturas bioativas nanoestruturadas. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) A engenharia de tecidos <i>in vitro</i> ; (B) " <i>in vivo</i> "; (C) " <i>in situ</i> "; (D) Elementos essenciais para a regeneração óssea	19
Figura 2 - <i>Scaffold</i> esponjoso de PU fabricado por gas foaming	24
Figura 3 - Diagrama de composição mostrando as classificações para as cerâmicas bioativas.....	31
Figura 4 - Micrografia que ilustra a morfologia "couve-flor", típica da hidroxiapatita formada sobre a superfície do <i>Bioglass® 45S5</i> após imersão em simulador de fluido corporal (SBF) durante 28 dias.....	32
Figura 5 - Estrutura do Coletor utilizado na fiação por SBS	44
Figura 6 - (A) Aparato e variáveis para a fiação por SBS das fibras e scaffolds e (B) modificação da geometria dos bicos para a fiação aquosa	45
Figura 7 - Aparato de fiação evidenciando a caixa e a gaiola de fiação	46
Figura 8 - Moldes utilizados para a preparação dos scaffolds cilíndricos	47
Figura 9 - Metodologia esquemática.....	47
Figura 10 - Imagens dos sois géis para a composição 45S5 depois da secagem. (A) Sois géis sem adição de polímero e (B) sois géis com adição de polímero.	51
Figura 11 - (A) imagem do sol gel 70S30 e (B) estrutura explicativa da cor obtida....	52
Figura 12 - Análises termogravimétricas das amostras SolPre 45S5 com os diferentes ácidos com n=25. Linha preta referente a perda de massa, e linha vermelha referente a DTA.....	53
Figura 13 - Uma ilustração esquemática da evolução da distribuição do cálcio durante o estado de (A) gelificação (B) secagem e (C) queima.....	54
Figura 14 - Análises termogravimétricas das amostras SolPre 45S5 com os diferentes ácidos com n=25 e com polímero. Linha preta referente a perda de massa, e linha vermelha referente a DTA.	55
Figura 15 - DRX das amostras dos sois géis (45S5) produzidos com HCl.....	56
Figura 16 - DRX das amostras dos sois géis (45S5) produzidos com AC.....	57
Figura 17 - Comparação dos DRX das amostras dos sois géis 45S5 com todos os ácidos e com n=25.....	58
Figura 18 - Comparação dos DRX das amostras dos sois géis 45S5 com adição dos polímeros com utilização do HCL e com n=25.	59
Figura 19 - MEV das fibras 12%PVA 45S5 (A) antes da queima e (B) depois da queima.	60
Figura 20 - Análise por FTIR das fibras obtidas com 12%PVA para a composição 45S5	61
Figura 21 - Análise DRX das fibras obtidas com 12%PVA para a composição 45S5 queimadas em diferentes temperaturas.....	62

Figura 22 - Fibras queimadas a 700°C fabricadas com HCl para as composições sem Na.	63
Figura 23 - Análise de DRX para as amostras com composição 58S e 70S30.	64
Figura 24 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 40 psi antes da queima.	64
Figura 25 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 40 psi após a queima.	65
Figura 26 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 50 psi antes da queima.	65
Figura 27 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 50 psi após a queima.	66
Figura 28 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 60 psi antes da queima.	66
Figura 29 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 60 psi após a queima.	67
Figura 30 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 40 psi antes da queima.	67
Figura 31 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 40 psi após a queima.	68
Figura 32 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 50 psi antes da queima.	68
Figura 33 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 50 psi após a queima.	69
Figura 34 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 60 psi antes da queima.	69
Figura 35 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 60 psi após a queima.	70
Figura 36 - Gráfico dos diâmetros fibrilares médios das fibras de composição 58S (A) e 63S (B).	71
Figura 37 - Imagens da formação da hidroxiapatita na superfície das fibras 58S com (A) 12 h de imersão e (B) 168 h de imersão no SBF.	72
Figura 38 - Imagens da formação da hidroxiapatita na superfície das fibras 63S com (A) 12 h de imersão e (B) 168 h de imersão no SBF.	73
Figura 39 - FTIR das fibras (A) 58S e (B) 63S para todos os tempos de imersão. ...	74
Figura 40 - Padrões de DRX das fibras (A) 58S e (B) 63S antes e depois da imersão para o tempo de 168 h.	75
Figura 41 - (A) Mantas fibrosas produzidas com o auxílio do coletor rotatório, (B) fibras com aparência de algodão coletadas em volta do coletor, (C) manta fibrosa antes da queima, (D) manta fibrosa obtida depois da queima a 700°C.	76
Figura 42 - (A) Ilustração do coletor rotatório e imagens de MEV evidenciando o caráter de alinhamento das amostras (B) 45S5, (C) 58S e (D) 63S.	76

Figura 43 - - (A) Scaffold com composição 63S obtido a partir da prensagem no molde maior antes da queima, (B) imagen dos scaffolds na morfologia de algodão, na forma cilíndrica produzida com o molde maior e produzida como molde menor, sequencialmente. 77

Figura 44 - Micrografias obtidas por MEV evidenciando a estrutura do scaffold 63S produzidos segundo a (A) forma de algodão e segundo o (B) formato cilíndrico. 78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Todos as composições nomeadamente 49-86S e da serie Bioglass®.....	35
Tabela 2 - Reagentes utilizados no trabalho.	42
Tabela 3 - Composições estudadas no presente trabalho, em mol. ®	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 Engenharia de tecidos - ET	16
2.2 Scaffolds	20
2.2.1 Estrutura e requisitos	20
2.2.2 Métodos de fabricação	21
2.3 Vidros bioativos	29
2.3.1 Conceito e aspectos principais	29
2.3.2 Métodos de Fabricação e Evolução das Composições	31
2.4. Micro e nanofibras	36
2.5 <i>Scaffolds</i> nanoestruturados de vidros bioativos	38
3. MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1. Materiais	42
3.2. Metodologia	42
3.2.1. Preparação das Amostras	42
3.2.2 Caracterização das Amostras	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 Sol-gel do biovidro puro e com polímero e análise dos pós	50
4.2 Fibras produzidas pelo SBS	59
4.2 Scaffolds nanoestruturados	75
5 CONCLUSÕES	79

1 INTRODUÇÃO

Embora o campo da engenharia de tecidos tenha surgido há quase 50 anos, observa-se a necessidade da conexão interdisciplinar entre engenharia e medicina. Nesse sentido, tem-se observado como a nanotecnologia tem impactado várias áreas da medicina e da engenharia, desde o desenvolvimento de técnicas diagnósticas baseadas em imagens, até a formulação de agentes terapêuticos sintéticos direcionados a nanoescala, no que diz respeito a materiais biologicamente utilizáveis para aplicação dos tratamentos de regeneração óssea (HENCH, 2013; RATNER et al., 1996).

Nos últimos anos, a nanotecnologia tem atraído uma atenção especial por parte da comunidade científica devido ao fato de que materiais nanométricos apresentam propriedades superiores em diversas áreas de interesse. Nesse contexto, destacam-se as nanofibras, as nanofitas, os nanofios e os nanobastões (CUI et al., 2008). Como exemplo, nanofibras podem ser usadas na liberação controlada de drogas, na regeneração de tecidos e na fabricação de *scaffolds*. Tipicamente, os *scaffolds* se tratam de estruturas temporárias que dão suporte para as células crescerem e se proliferarem (TUTAK et al., 2013). E no contexto de regeneração tecidual, sendo o osso um dos órgãos mais comumente transplantados em todo mundo, na engenharia de tecidos ósseos, o processo de regeneração combina as propriedades dos *scaffolds*, fatores de crescimento e células específicas em busca de uma multiplicação e diferenciação para formar um novo tecido (SAIZ et al., 2013).

As diferentes propriedades físicas e químicas obtidas a partir da produção de materiais com alta área superficial tem levado ao desenvolvimento de técnicas de fabricação de fibras cerâmicas em escalas nanométricas. A técnica mais comumente utilizada para fabricação de fibras é conhecida como eletrospiação, a qual possui limitações, tal como a necessidade de utilização de altos campos elétricos, apresentando ainda, baixa produtividade (AGARWAL; GREINER; WENDORFF, 2013; HU et al., 2014; JIANG et al., 2014; WADE; BURDICK, 2014). No entanto, novas técnicas de produção de nanofibras têm chamado a atenção da comunidade científica, e dentre estas, destaca-se a fiação por sopro em solução, do inglês, *Solution Blow Spining* (SBS), a qual utiliza um aparato simples com tubos concêntricos auxiliados por uma corrente de ar que age soprando uma solução polimérica de forma a produzir nano fibras com alta taxa de produtividade (MEDEIROS et al., 2009).

Dessa forma, a engenharia de tecido ósseo é uma abordagem promissora para o tratamento de defeitos ósseos, fornecendo um modelo para orientar essa regeneração tecidual. Os *scaffolds* fabricados com uma microestrutura similar à estrutura óssea do hospedeiro são necessários em estratégias de regeneração. Os vidros bioativos, nesse caso, atraem a atenção dos pesquisadores como *scaffolds*, uma vez que são osteocondutivos e osteoindutivos, visto que, o bloco de construção básico do osso é formado por uma matriz cerâmica de apatita e uma matriz proteica composta por fibras de colágeno. Quando em contato com fluidos biológicos, esse material é capaz de desenvolver uma camada de fosfato carbonatado deficiente em cálcio, a qual promove uma ligação química com o osso hospedeiro (HENCH, 1998, 2011; JONES, 2013).

O método mais comumente utilizado para a produção dos vidros bioativos consiste na fusão de uma mistura de óxidos, carbonatos e fosfatos, seguida de uma têmpera do fundido para formar o vidro. Entretanto esse método é acompanhado com uma série de desvantagens que são sobrepostas pelo método sol-gel, o qual permitiu a produção de vidros bioativos com maior pureza e homogeneidade e também expandiu significativamente as gamas de composições que apresentam bioatividade, em comparação com vidros bioativos preparados pelo método tradicional de fusão (LI; CLARK; HENCH, 1991). Em contrapartida ao método via fusão, o método sol-gel utiliza baixas temperaturas, e levou à simplificação do sistema, dando origem aos primeiros vidros do sistema ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ (LI; CLARK; HENCH, 1991; SEPULVEDA; JONES; HENCH, 2002).

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os parâmetros do sol-gel através do estudo de pós produzidos a partir da composição 45S5 e dessa forma produzir fibras de vidros bioativos segundo a composição quaternária do 45S5 e ternárias do 58S e 63S a partir de sol-géis, fiadas com o SBS. Tem-se ainda como objetivos a conversão dessas fibras em *scaffolds* nanofibrilares, estruturas bidimensionais (na forma de manta fibrosa), bem como, em estruturas tridimensionais (num corpo cilíndrico e em uma estrutura de chumaço).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Engenharia de tecidos - ET

Ao longo dos séculos XIX e XX a humanidade observou uma enorme mudança social após a invenção do microscópio de esferas de vidro. Este possibilitou o estudo e tratamento de muitas doenças levando ao aumento da expectativa de vida de 45 para mais de 80 anos. A consequente descoberta de formas de vida microscópicas como bactérias, vírus, fungos e patógenos caracterizou a primeira revolução nos cuidados com a saúde (HENCH, 2013). A segunda revolução ficou por parte da engenharia de tecidos (ET). A ideia de substituir partes do corpo danificadas em humanos remonta a pré-história; isto pode ser visto, por exemplo, no uso de próteses de madeiras para partes dos membros inferiores no antigo Egito (3000 a.C.), dentes artificiais feitos de conchas pelos Maias (600 a.C.) e de ouro e madeira pelos romanos, chineses e astecas (RATNER et al., 1996). Nos últimos 50 anos a ET entrou em cena visando a reparação, substituição e restauração de funções teciduais (BAINO et al., 2016; HENCH, 2013).

A primeira geração de materiais utilizados para reposição de tecidos compreende o conjunto daqueles que são inertes ao ambiente corporal. Os biomateriais padrões como os metais resistentes à corrosão, as biocerâmicas e os materiais poliméricos insolúveis, todos materiais não tóxicos, foram os selecionados para essa categoria (HENCH, 2013; KRISHNAN; LAKSHMI, 2013a). A segunda geração de materiais utilizados na ET surgiu no final da década de 60 em função de falhas dos seus “predecessores” devido a incompatibilidade da interface entre o material e o tecido vivo, além da natureza agressiva dos fluidos corporais. Um novo conceito de biocerâmica foi desenvolvido: os vidros bioativos. Diferentemente dos materiais da primeira geração, os vidros bioativos apresentavam a capacidade de se ligar a tecidos vivos, proporcionando consequentemente biocompatibilidade entre o biomaterial e o meio hospedeiro. Como consequência, os vidros bioativos se tornaram alvo de estudos no campo da ET, especificamente na regeneração do tecido ósseo (HENCH, 2013).

O osso é um dos órgãos mais comumente transplantados em todo mundo. Uma série de desafios clínicos tem que ser superados para a reconstrução tecidual como: limitações devido à variedade de tamanhos de defeitos, tensões mecânicas e

cobertura de tecidos moles disponíveis. O uso de implantes sintéticos é visto como uma opção na substituição do tecido ósseo danificado. Por outro lado, a fraca integração, infecções, e outras reações podem gerar complicações e rejeição com posterior perda do material implantado (SAIZ et al., 2013).

A mais recente abordagem empregada para contornar os problemas supracitados faz o uso de um biomaterial desenvolvido em uma estrutura tridimensional (3D), capaz de mimetizar a matriz extracelular (MEC) do tecido ósseo, ou seja, deve fornecer suporte celular e porosidade adequada para o processo de adesão celular, proliferação e diferenciação durante o processo de formação óssea (SAIZ et al., 2013; TUTAK et al., 2013).

A engenharia de tecidos visa, portanto, reparar e reconstruir novos tecidos, combinando os conceitos de ciências dos materiais e biomedicina (biomaterial, células, fatores de crescimento celular...) através de duas abordagens clássicas, *in vitro* e *in vivo* (Figura 1). Os estudos *in vitro* (Figura 1A) baseia-se no cultivo de células em um substrato de biomaterial, de forma que se obtenha um tecido funcional composto por células maduras para ser transplantado para o paciente. Neste caso, o *scaffold* deve apresentar densidade e porosidade adequada para a obtenção do alinhamento adequado das células fibrosas e uma boa vascularização, resultando na criação de tecidos capazes de gerar forças de contração fisiologicamente relevantes. Por outro lado, a abordagem *in vivo* (Figura 1B) baseia-se no transplante de células para o local da lesão, onde ocorre a regeneração muscular. A combinação de fatores de crescimento (substâncias com funções específicas), células e características estruturais no paciente proporcionam um nicho a partir do qual as células podem orquestrar o processo de regeneração. A formação de um novo tecido pode acontecer através da integração com o tecido do hospedeiro, ou através de mecanismos regenerativos do próprio corpo (LIN et al., 2009; QAZI et al., 2015; REZWAN et al., 2006).

As estratégias clássicas de engenharia de tecidos até agora têm sido incapazes de mostrar consistentemente o sucesso em vários modelos pré-clínicos. Porém a engenharia de tecidos *in situ* (Figura 1C) tem mostrado grande potencial para superar essa inconsistência. Nessa abordagem, os biomateriais são confeccionados para sinalizar, ativar, recrutar e reorganizar populações de células, podendo ainda exercer propriedades de proteção imunológica. Os agentes sinalizadores estimulam o

recrutamento e a organização das células hospedeiras e asseguram a sua sobrevivência através da vascularização (GATTAZZO; URCIUOLO; BONALDO, 2014; QAZI et al., 2015; REZWAN et al., 2006).

Para melhor compreender o processo de renação óssea via engenharia de tecidos, três conceitos devem ser apresentados: a osteogênese, a osteocondução e a osteoindução. Estes princípios podem ser utilizados para otimizar as abordagens terapêuticas para regeneração óssea. Osteogênese trata-se da transferência direta de células vitais para a área onde ocorrerá o processo de regeneração e formação do novo osso. Já a osteocondução trata do fornecimento do espaço e de um substrato para os eventos celulares e bioquímicos que progridem para a formação óssea. Osteoindução incorpora o princípio da conversão de células pluripotenciais (células capazes de se diferenciar em qualquer célula do tecido humano), derivadas de mesênquima em osteoblastos, com a formação subsequente do osso (MCALLISTER; HAGHIGHAT, 2007; SCHLEGEL et al., 2007; SEEHERMAN; WOZNEY, 2005).

Portanto, como citado anteriormente, na engenharia óssea o processo de regeneração óssea deve ser acelerado de forma a combinar as propriedades de uma matriz, isto é, o *scaffold*, através da sinalização via fatores de crescimento para orientar a diferenciação em concordância com a multiplicação e proliferação de células para formação de tecido. Além disso, é necessário um suprimento sanguíneo afim de garantir uma adequada vascularização (Figura 1D) (SAIZ et al., 2013).

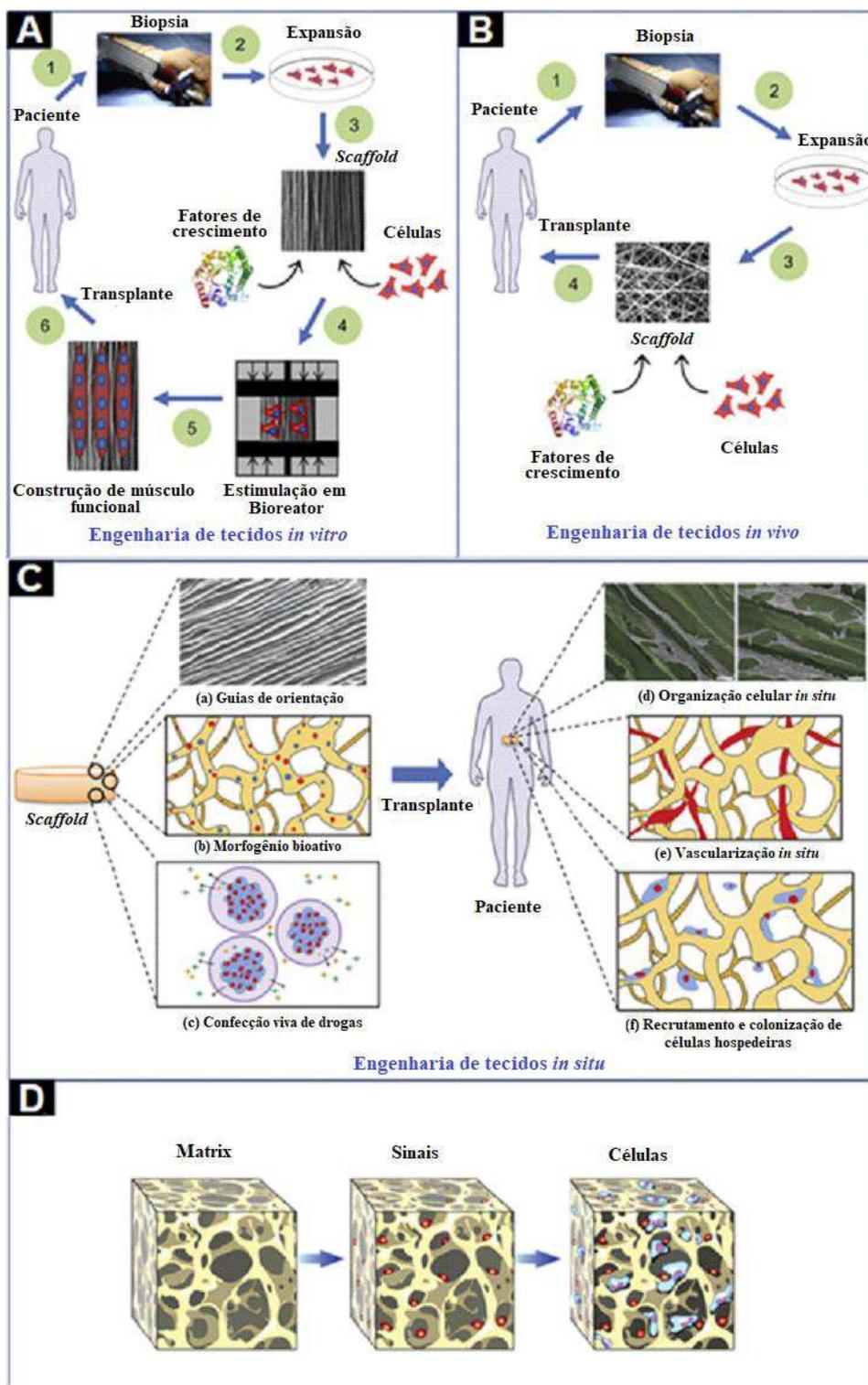


Figura 1 - (A) A engenharia de tecidos *in vitro*; (B) "*in vivo*"; (C) "*in situ*"; (D) Elementos essenciais para a regeneração óssea (QAZI et al., 2015; SAIZ et al., 2013).

2.2 Scaffolds

2.2.1 Estrutura e requisitos

A estrutura do *scaffold* deve ser porosa com poros interconectados e ter uma química de superfície que facilite o crescimento celular, a proliferação e o transporte de nutrientes e resíduos metabólicos. Além disso, requisitos como biodegradabilidade, biocompatibilidade, estrutura específica e propriedades mecânicas adequadas devem ser observadas ao longo do processo de desenvolvimento. As células são direcionadas para crescerem para a forma física desejada e para suportar a vascularização do tecido encravado. Uma porosidade típica de 90%, bem como um diâmetro de poro de, pelo menos, 100 μm é desejável para a difusão celular e uma vascularização adequada do novo tecido (PHELPS; GARCÍA, 2010; REZWAN et al., 2006). Após a implantação do biomaterial no paciente, o processo de regeneração promoverá a formação de um neo-tecido que deverá substituir os espaços deixados pela degradação do biomaterial. Do ponto de vista da engenharia, a otimização dos *scaffolds* em estruturas hierárquicas em 3D é de fundamental importância para a medicina regenerativa (BOSE; ROY; BANDYOPADHYAY, 2012; LIU; LIM; TEOH, 2013).

Biocompatibilidade esta relacionada ao fato do material não causar uma resposta inflamatória, nem demonstrar imunogenicidade ou citotoxicidade. Sua função é, de uma forma previsível com atividade osteogênica controlada, produzir apenas substâncias metabolicamente aceitáveis e sinalizar para orientar a diferenciação celular, além de promover a regeneração tecidual (BOSE; ROY; BANDYOPADHYAY, 2012; LIU; LIM; TEOH, 2013; MIKOS; TEMENOFF, 2000; SITTINGER; HUTMACHER; RISBUD, 2004).

Finalmente, as propriedades mecânicas do *scaffold* devem ser suficientes para evitar que a estrutura venha a colapsar durante o manuseio e atividades normais do doente, ou seja, é preciso combinar as propriedades mecânicas dos tecidos hospedeiros com uma interface tecido-tecido forte e estável, que persiste através do processo de degradação. Dessa forma, pode-se reduzir o risco de rejeição ou reação corpo estranho e conseguir uma boa adaptação e cobertura pelos tecidos moles circundantes que garantem o fornecimento de resistência e rigidez suficientes para prevenir a fratura sob cargas fisiológicas (HOLLISTER, 2005; LIU; LIM; TEOH, 2013).

Atendendo a esses requisitos, o *scaffold* substitui temporariamente o tecido natural fornecendo uma estrutura adequada para o corpo criar um novo tecido ósseo (CHEN et al., 2007; MIKOS; TEMENOFF, 2000; REZWAN et al., 2006).

2.2.2 Métodos de fabricação

O interesse pelo desenho de estruturas 3D para utilização como *scaffolds* na ET foi acompanhado pelo desenvolvimento de métodos que buscaram atender às características e critérios antes discutidos. Várias tecnologias estão disponíveis e inicialmente podem ser divididas em duas categorias: prototipagem convencional (“*conventional prototyping*”, CP) e prototipagem rápida (“*rapid prototyping*”, RP). CP utiliza métodos de subtração, na qual partes dos materiais são removidos para que as características e propriedades objetivadas sejam alcançadas. Entretanto, a difícil introdução de arquiteturas e geometrias específicas, bem como o uso de solventes orgânicos tóxicos de difícil retirada, torna essa tecnologia limitada (BAJAJ et al., 2014; THAVORNYUTIKARN et al., 2014). As técnicas de RP proporcionam um aprimoramento da biocompatibilidade do *scaffold*, pois em geral não utilizam solventes orgânicos tóxicos, e permitem um controle pontual da porosidade, tamanho de poros e propriedades mecânicas. Essa técnica, baseia-se no conceito de fabricação aditiva no qual o objeto final é formado através da deposição de camadas sobrepostas (TORABI; FARJOOD; HAMEDANI, 2015).

As técnicas convencionais incluem moldagem por Lixiviação (“*Solvent casting and particle leaching*”), Liofilização (“*Freeze-drying*”), Separação de fases termicamente induzida (“*Thermally Induced Phase Separation*”), Formação de espuma (“*gas foaming*”), Formação a partir de pó (“*Power forming*”), sol-gel e eletrofição (“*electrospinning*”) (THAVORNYUTIKARN et al., 2014).

Lixiviação (“*Solvent cast and particle leaching*”)

No método de lixiviação uma solução de polímero é dissolvida em um solvente com partículas de sal distribuídas uniformemente e com tamanho específico. O solvente é retirado por evaporação e uma matriz de partículas de sais incorporado é formada. O sistema é imerso em água para a dissolução do sal e formação de uma estrutura altamente porosa. Trata-se de uma técnica de fácil execução e de baixo custo. As vantagens estão relacionadas ao fácil controle no tamanho dos poros e a confecção de estruturas com elevada porosidade. Como desvantagens, produz estruturas simples como folhas planas e tubos, além do produto final poder conter

resíduo de solvente, prejudicando as interações celulares (SUBIA; KUNDU; KUNDU, 2010). Outro desafio observado nesse método é a espessura dos *scaffolds*, compreendendo valores de 3-4 mm, o que limita a aplicação em outras áreas, como reparo ósseo espesso, etc. Alguns pesquisadores modificaram esse método com a adição de tecnologia de centrifugação e camadas para solucionar essas limitações. A centrifugação melhorou a uniformidade e a interconectividade dos poros nos *scaffolds*. Ao utilizarem tamanhos de partículas de sal de 212-295, 295-425 ou 425-531 μm e uma concentração de solução de polímero a 15% m/v, foram obtidas porosidades entre 83-92% (ABOUDZADEH et al., 2010; PRASAD; SANKAR; KATIYAR, 2017; SIN et al., 2010).

Liofilização (“Freeze drying”)

O processo de liofilização baseia-se no princípio da sublimação de um solvente através de um ajuste adequado de baixas temperaturas e baixas pressões. Por exemplo, na produção de *scaffolds* poliméricos o material é primeiro dissolvido em um solvente adequado e em seguida a solução polimérica é congelada abaixo do seu ponto de congelamento, levando a solidificação do solvente. Posteriormente, esse sistema é levado ao liofilizador ajustado a uma temperatura bem abaixo do ponto de congelamento do solvente e a pressões extremamente inferiores à atmosférica o que, por conseguinte, provoca o processo de sublimação do solvente (ROSETI et al., 2017). Espaços vazios são formados deixando uma estrutura porosa e muitas vezes canais interconectados. Essa técnica abre um leque de possibilidades para introdução de agentes biológicos, que facilmente se degradariam em procedimentos que envolvem altas temperaturas (SUBIA; KUNDU; KUNDU, 2010). Além do mais, esse procedimento permite o controle do tamanho dos poros e da anisotropia, de forma que as estruturas geradas possam apresentar porosidade superior a 90% (O'BRIEN et al., 2005; PAWELEC et al., 2014). A literatura tem mostrado o avanço e o aprimoramento dessa técnica através do uso de diversos polímeros. Estes incluíram gelatina (PAWELEC et al., 2014) e suas misturas com hidroxiapatita (KIM; KIM; SALIH, 2005), poli ácido láctico (PLA) (YAO et al., 2017), poli (hidroxibutirato-co-valerato) com hidroxiapatita (SULTANA; WANG, 2008), policaprolactona (PCL) (MAQUET et al., 2003), e quitosana (LI et al., 2005), dentre outros.

Seperação de fases termicamente induzidas (“*Thermally Induced Phase Separation*” TIPS)

A separação de fases termicamente induzida (TIPS) se trata de uma técnica que se baseia na mudança de energia interna de um sistema para provocar o processo de sepração de fases de uma solução polimérica homogênea em outro sistema com dois ou mais domínios. Isso pode ser provocado por resfriamentos bruscos abaixo da curva de solubilidade binodal ou pelo uso de um não solvente (RATNER et al., 1996). O solvente se separa da estrutura polimérica devido a mudança no coeficiente de solubilidade provocado pelo abaixamento da temperatura, formando uma fase rica em polímero e outra pobre. A fase polimérica se solidifica e a outra fase é retirada deixando uma estrutura altamente porosa. Um de suas vantagens se reflete em poder combinar facilmente com outras tecnologias de fabricação (lixiviação de partículas) para projetar estruturas tridimensionais com a morfologia altamente controlada de poros (SUBIA; KUNDU; KUNDU, 2010).

Recentemente Gioacchino Conoscenti et al. em 2017, produziram *scaffolds* de PLLA (poli (ácido láctico)) via separação de fases termicamente induzida e mostraram em seus resultados que a técnica é altamente capaz de criar *scaffolds* homogêneos com tamanho de poros bem definidos. O estudo revela que uma diferença remota no tamanho do poro do scaffold (100 vs. 200 micrometros) já leva a efeitos bem reconhecíveis na expressão gênica de marcadores de cartilagem (CONOSCENTI et al., 2017).

Formação de espumas (“*Gas foaming*”)

A técnica de formação de espumas consiste na utilização de agentes de expansão que pressurizam polímeros moldados. Estes agentes se tornam instáveis formando bolhas de gás que agem como agente porosificadores causando uma expansão no volume, e uma redução na densidade polimérica. Esta técnica tipicamente produz estruturas tipo esponja com um tamanho de poro médio na faixa de 30-700 μm e uma porosidade até 85% (THAVORNYUTIKARN et al., 2014). Foi desenvolvida para evitar solventes orgânicos e citotóxicos. Um estudo recente utilizou a técnica de formação de espumas para produção de *scaffolds* de poliuretano (PU), de forma a avaliar a biomineralização e a citocompatibilidade celular. Os resultados mostraram que a biomineralização de espumas de PU pode ser muito útil no desenvolvimento de materiais para substituição óssea esponjosa, em relação às

propriedades morfológicas, capacidade de promover a adesão e proliferação celular de células ósseas mesenquimais (MESKINFAM et al., 2018). A Figura 2 ilustra uma micrografia da espuma de PU obtida por Meskinfam, em 2018)

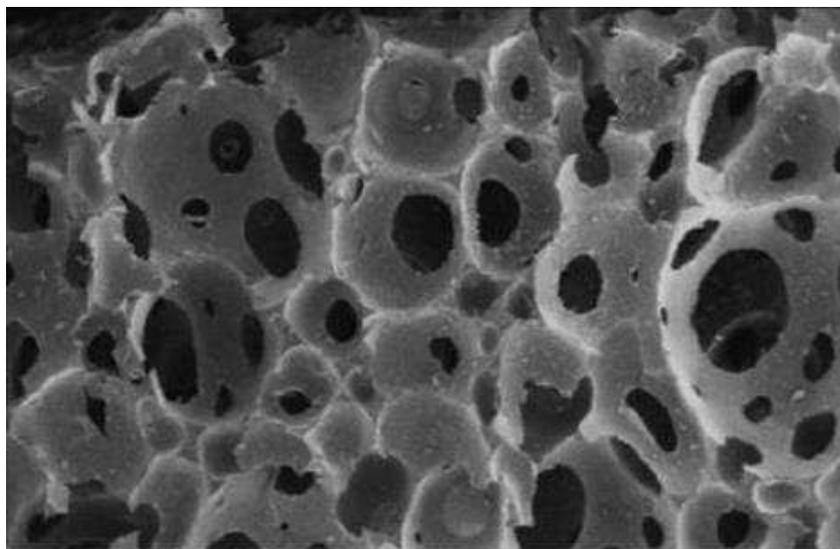


Figura 2 - *Scaffold* esponjoso de PU fabricado por gas foaming (MESKINFAM et al., 2018).

Formação a partir do pó (“Powder-forming”)

O processo de produção de *scaffolds* utilizando pós consiste na preparação de uma suspensão de partículas cerâmicas em um líquido apropriado formando uma pasta. A partir dessa pasta os corpos verdes são produzidos de diversas formas. Uma subsequente queima resulta nos *scaffolds* porosos. Materiais como a sacarose, a gelatina, e um agente molhante (tensor ativo) podem ser adicionados à suspensão cerâmica com o intuito de produzir porosidade quando são evaporados ou queimados durante a sinterização (CHEN, 2011). Nesse processo, destaca-se um procedimento muito utilizado chamado de “replicação”. As partículas são distribuídas uniformemente e uma fase cristaliza na queima deixando a estrutura porosa. Essa técnica proporciona um bom controle de porosidade e tamanho de poros (ROSETI et al., 2017; THAVORNUTIKARN et al., 2014). Chen et al., em 2006, produziram um biovidro segundo a composição 45S5 e em seu trabalho, esses pesquisadores obtiveram *scaffolds* com com porosidade de cerca 90% e tamanho de poro variando de 510 a 720 μm , além de boa estabilidade mecânica sem perda de bioatividade (REZWAN et al., 2006).

Eletrofiação (“Electrospinning”)

Eletrofiação trata-se de uma técnica de fabricação “*top-down*” de fibras, na qual se utiliza um campo elétrico para formar fibras com diâmetros desde a escala micrométrica à nanométrica. Um aparato típico é composto de uma bomba de infusão, conjunto seringa e agulha metálica para a formação da gota de fiação, um coletor e o sistema elétrico. A diferença de potencial aplicada pelo sistema elétrico gera altos campos elétricos e sua força supera a tensão superficial da gota, alongando a mesma. O solvente evapora no processo de forma a resultar na formação fibrilar. As fibras são então coletadas no coletor aterrado (SUN et al., 2014).

Sendo assim, desde que as fibras micro-nanométricas são os blocos básicos de construção estrutural para a maioria dos tecidos conjuntivos (por exemplo, vasos sanguíneos, tendões, nervos, etc.), para um *scaffold* é necessário uma estrutura fibrosa com tamanhos e porosidades adequados para permitir a infiltração celular (JIANG et al., 2018). Dessa forma, como técnica de fabricação de fibras, a eletrofiação é um dos métodos mais utilizados para a fabricação de *scaffolds* fibrosos que mimetizam matrizes extracelulares.

Lin Jiang et al. (2017) fabricaram diferentes estruturas hierárquicas utilizando a eletrofiação. Nesse estudo fibras de PCL em uma estrutura “*shish-Kebab*” foram utilizadas como *scaffolds* e suas propriedades de superfícies foram analisadas tendo em vista a citocompatibilidade. Células endoteliais do cordão umbilical humano (HUVECs) foram então cultivadas para investigar a resposta celular nas fibras de PCL de superfície lisa, nanoporosas e fibras estruturadas “*shish-kebab*”. Em seus resultados, os *scaffolds* com superfícies porosas proporcionaram um ambiente mais favorável para o crescimento celular com base em testes e análises de morfologia celular em comparação com os *scaffolds* fibrosos estruturados *shish-kebab* (JIANG et al., 2018).

A prototipagem rápida se trata de técnicas que utilizam métodos de subtração, de forma que se obtenha as características e propriedades desejadas através da retirada de parte dos materiais. Dentre as principais tecnologias destacam-se: esterolitografia (Stereolithography), modelagem por deposição do fundido (Fused Deposition Modeling, FDM), sinterização seletiva à laser (Selective Laser Sintering, SLS), impressão 3D, (3D Printing, 3DP) e bioimpressão (Bioprinting) (ROSETI et al., 2017).

Estereolitografia (“Stereolithography”)

A técnica estereolitográfica baseia-se em métodos para fazer objetos sólidos, sendo fabricados camada por camada através de um material curável por luz ultravioleta (UV). Esquemáticamente tem-se um recipiente com uma resina líquida sensível a luz, na qual os feixes UV são direcionados através de um sistema de espelhos dinâmicos para pontos e locais específicos da resina, causando a cura do material. Uma plataforma móvel desloca a parte curada para que uma outra camada possa se solidificar produzindo assim, camada por camada, uma estrutura tridimensional. Finalmente a resina que não foi curada é retirada e uma nova cura é realizada para a produção do produto final (ROSETI et al., 2017). A maioria dos materiais usados na estereolitografia tratam-se de resinas, termoplásticos e poli etileno glicol (PEG) à base de hidrogéis. Entretanto esses materiais têm aplicação limitada devido a falta de biodegradabilidade ou resistência mecânica suficiente. O poli (propileno fumarato) (PPF) tem sido usado como um material promissor para superar essas limitações (LEE et al., 2007b). Em 2007, Lee et al. produziram scaffolds porosos com poros interconectados de forma uniforme e regular. Ainda foram observados a bioatividade e o cultivo de células fibroblásticas para verificação da adesão e biocompatibilidade celular. Seus resultados mostraram que as células se aderiram aos scaffolds e ao longo do tempo células adicionais foram observadas (LEE et al., 2007a).

Modelagem por deposição a partir do fundido (“Fused deposition modeling”)

O processo de modelagem por deposição a partir do fundido utiliza materiais termoplásticos fundidos, que a partir de um bico são depositados em uma base móvel. Na base, tem-se o plano xy e através de um sistema CAD/CAM os lugares específicos de deposição são pre-definidos. Quando uma camada é finalizada, a base move para baixo (eixo z) e o processo se repete. Dessa forma, os *scaffolds* são confeccionados tridimensionalmente, com porosidade controlada e a quantidade de material a ser depositado, a geometria definida no plano de deposição xy, e o intervalo de altura entre cada epata, são as variáveis do processo. Detacam-se como vantagens a produção de materiais com alta porosidade e boa resistência mecânica, além do fato de que nenhum solvente tóxico necessita ser usado (ROSETI et al., 2017).

Sinterização seletiva à laser (“Selective laser sintering, SLS”)

Na sinterização seletiva à laser, um pó pouco compactado é submetido a um laser de alta potência que sinteriza partícula por partícula unindo as mesmas de forma controlada, formando camadas finas. As camadas também são unidas umas as outras e o processo segue as informações e dados contidos em CAD pre-definidos. A interação do feixe do laser com o pó aumenta a temperatura do pó acima da temperatura de transição vítrea e abaixo da temperatura de fusão, fazendo com que a fusão e a ligação das partículas formem uma massa sólida (PELTOLA et al., 2008). O processo resulta em estruturas porosas, porém uma fase pós-processamento é necessária para remover o pó que possivelmente fica preso (ROSETI et al., 2017). Além disso, a condução e a difusão do calor do laser podem causar uma ligação indesejada entre partículas próximas do ponto focalizado pelo laser e isso é o que impossibilita a construção de características menores que 400 μm . O uso de um tamanho de ponto de laser menor, tamanho de partícula e espessura de camada mais fina pode melhorar o processo de SLS para permitir a produção do scaffolds com arquitetura mais controlada (YANG et al., 2002).

Impressão 3D, (“3D Printing, 3DP”)

A técnica de impressão 3D consiste no uso de uma impressora que é capaz de imprimir uma solução líquida contendo uma substância aglutinante. Primeiro, o equipamento distribui uma camada de pó sobre uma plataforma e as gotas do líquido impresso agem ligando as partículas do pó. A plataforma se move e outra camada de pó é depositada, e o processo de impressão se repete. Ao final do processo, a remoção do pó não aglutinado revela a peça construída. A possibilidade de processamento em temperatura ambiente da tecnologia 3DP permite o uso de uma ampla gama de materiais em pó e a incorporação de uma variedade de agentes farmacêuticos e biológicos (WU et al., 1996).

O processo pode ser entendido como em duas estratégias diferentes, a impressão 3D direta e a indireta. Na 3DP direta, o produto final é impresso diretamente. A 3DP indireta trata-se da fabricação de um molde na qual posteriormente o produto principal é fabricado. Imprimindo na forma direta, tem-se um maior controle pontual tanto macroscopicamente, como microscopicamente. Entretanto, os tamanhos de poros são limitados, bem como, há uma certa dificuldade

em se fabricar formas altamente complexas. Na fabricação indireta os moldes são impressos com gesso e, dessa forma, polímeros biodegradáveis são usados, sendo também possível a introdução de agentes porogênicos sem limitação de tamanho. As limitações consistem na fabricação de cortes internos ou canais de cruzamento, bem como restrições de forma e design, tendo em vista a dificuldade de desmoldagem. (por exemplo, cortes internos ou canais de cruzamento) e restrições de forma ou design de recursos devido à dificuldade de desmoldagem (CHIA; WU, 2015; SCHUBERT; VAN LANGEVELD; DONOSO, 2014).

Bioimpressão (“Bioprinting”)

A bioimpressão trata-se de uma técnica de fabricação aditiva na qual células e biomateriais são impressas conjuntamente com precisão micrométrica. O processamento permite a construção de estruturas realizadas em condições ambientais com certo controle da distribuição celular (CHIA; WU, 2015). As técnicas de bioimpressão mais conhecidas são: a bioimpressão a base de jato, extrusão e laser (SEOL et al., 2014).

A bioimpressão a base de jato produz estruturas 2D e 3D usando gotículas de bio-tinta em camadas sobre um substrato. O processo é muito semelhante a impressão 3D normal, e agrega baixo custo, alta velocidade de impressão e viabilidade celular relativamente alta (80-90%). As desvantagens residem no entupimento da cabeça de impressão e um gama de materiais estreita para a impressão (GAO et al., 2015). Já na bioimpressão a base de extrusão, uma mistura de células com hidrogel é forçada por uma pressão a passar através de um micro-bico. Após a impressão de uma camada 2D, os hidrogéis são solidificados fisicamente ou quimicamente e as estruturas 3D são fabricadas por empilhamento. Através desse método tem-se uma maior seleção de biomateriais, uso de polímeros sintéticos, produção escalável e maior viabilidade celular (90%). A principal desvantagem da bioimpressão baseada em extrusão trata-se da utilização de resoluções relativamente baixas (SEOL et al., 2014).

A bioimpressão a laser utiliza um laser para transferir o material à ser impresso para um substrato. Um material receptor geralmente constituído de um vidro coberto com uma camada de ouro, absorve o laser com um sistema de foco, e dessa forma é criado uma gota à alta pressão, que, por sua vez, transfere materiais contendo células

para o substrato. Nessa técnica utiliza-se altas resoluções e não há problemas com entupimento, além de poder ser utilizado com uma variedade de biomateriais, uma vez que se trabalha com varias viscosidades (CHIA; WU, 2015; SEOL et al., 2014). Entretanto não é possível trabalhar com viabilidade celular alta, quanto comparada com os outros métodos (ROSETI et al., 2017).

2.3 Vidros bioativos

2.3.1 Conceito e aspectos principais

Todos os anos milhões de pessoas sofrem de defeitos ósseos decorrentes de traumas, tumores ou osseopatologias (HENCH, 2013). Para resolver tais patologias, a segunda geração de biomateriais se utiliza de abordagens terapêuticas mais satisfatórias e livres de complicações aliada a busca de novos materiais para o uso na engenharia de tecidos.

Um novo conceito para a reposição de tecidos foi criado no final da década de 60 quando Larry L. Hench formulou e produziu uma composição especial de vidro de soda-cal-fosfato-silicato. Posteriormente, Ted Greenlee e colegas na Universidade da Flórida (BECKHAM; GREENLEE; CREBO, 1971; HENCH et al., 1971) implantaram com sucesso um vidro em fêmures de ratos cuja formulação consistia de 45% de SiO_2 em peso, com modificadores de rede de 24,5% de Na_2O e 24,5% de CaO . Adicionou-se ainda 6% de P_2O_5 à composição do vidro para simular os constituintes Ca/P da hidroxiapatita (HA). Os resultados iniciais mostraram total integração do vidro com o tecido hospedeiro, de forma que não pôde ser removido do local implantado (BECKHAM; GREENLEE; CREBO, 1971; GREENLEE et al., 1972; HENCH et al., 1971). Essa descoberta levou ao desenvolvimento de uma nova classe de biomateriais, chamados de materiais bioativos, para uso em implantes ou próteses e reparo ou substituição de ossos, articulações e dentes.

Dessa forma, o conceito de "bioatividade" tornou possível expandir consideravelmente as abordagens tomadas na reposição de tecidos. As cerâmicas bioativas são materiais que promovem a formação de uma camada ativa de hidroxiapatita carbonatada (HCA), promovendo a ligação entre o material e o tecido ósseo, pois a fase HCA formada em implantes é equivalente, estrutural e quimicamente, a encontrada na fase mineral do osso (HENCH, 1998).

Os vidros bioativos apresentam adequada biocompatibilidade e capacidade de se ligar a ossos, agregando as características de osteoindução e osteocondução. Quando em contato com fluidos biológicos, esse material é capaz de desenvolver uma camada de fosfato carbonatado deficiente em cálcio, a qual promove uma ligação química com o osso hospedeiro. A capacidade bioativa desses vidros está diretamente relacionada à capacidade biológica de formação da camada ativa de HCA (HENCH, 1998, 2011; JONES, 2013). Além disso, muitas pesquisas mostram que os vidros bioativos promovem atividade enzimática (LOBEL; HENCH, 1998; OHGUSHI et al., 1996), vascularização (DAY et al., 2004; KESHAW; FORBES; DAY, 2005), mantêm a adesão osteoblástica, além de regular o crescimento e diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos (ROETHER et al., 2002; ZHAO et al., 2012).

Hench et al., em 1991 estudaram várias composições dos vidros bioativos e os classificaram de acordo com sua composição e bioatividade em três regiões principais, como pode ser observado na Figura 3. As cerâmicas que podem ser obtidas da região A (região branca) exibem alta bioatividade, capacidade de se ligar a ambos os tecidos, moles e duros, são osteoprodutivas (o osso cresce na superfície do material devido a associada atividade osteoblástica) e osteocondutivas. As composições de vidros relacionadas a região B exibem apenas osteocondutividade, e referente a região C, são reabsorvíveis em até 30 dias *in vivo* (HENCH, 1991, 2006). Dessa forma, vidros bioativos com composição no sistema $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$, tendo concentrações < 55% de SiO_2 , são encontrados na região A. Assim a composição química do biovidro é um dos fatores que possivelmente definirá seu comportamento de interação e de regeneração com os ossos (HENCH, 1991, 1998).

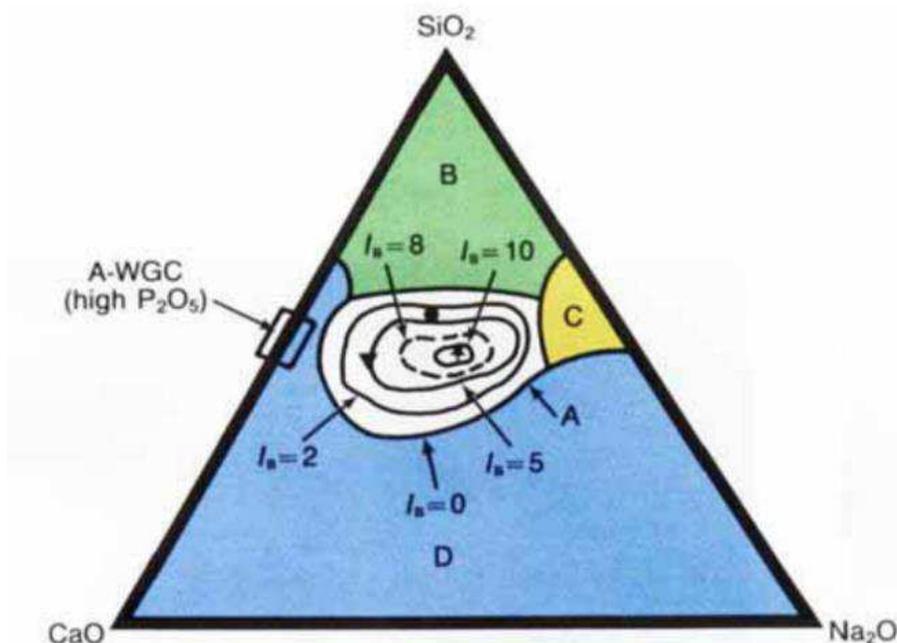


Figura 3 - Diagrama de composição mostrando as classificações para as cerâmicas bioativas (HENCH, 1998)

2.3.2 Métodos de Fabricação e Evolução das Composições

O método mais comumente utilizado para a produção dos vidros bioativos consiste na fusão de uma mistura de óxidos, carbonatos e fosfatos, seguida de uma têmpera do fundido para formar o vidro, o qual é então triturado quando o objetivo é obter um material particulado. Sendo assim, sabendo que a formação da camada de HA tem relação direta com a razão Ca/P, a bioatividade de um vidro bioativo são devidas à presença de fósforo e cálcio. Ademais, os íons de sódio na composição Bioglass® contribuem para dois efeitos. Primeiro, Na₂O é um fundente eficaz no processo de fusão do vidro, tornando mais fácil para homogeneizar e diminuindo a temperatura de fusão do sistema. Em segundo lugar, a dissolução do Na⁺ e do Ca²⁺ a partir do vidro resultará na formação de uma bicamada rica em sílica e rica em CaO-P₂O₅ e finalmente na formação de HA. Os íons Na⁺ e Ca²⁺ liberados também afetam o equilíbrio fisiológico da solução na interface vidro/cerâmica e modificam o pH local (HENCH et al., 1971). Desse modo, no ambiente fisiológico, a alcalinização ainda pode promover a síntese e reticulação do colágeno juntamente à formação de HA. A presença de SiO₂ (formador de rede) também ajuda a precipitação ou reconstrução de superfície da camada solta, rica em sílica e, portanto, aumenta a formação da camada de hidroxiapatita. Além disso, do ponto de vista da produção, a sílica é

responsável por manter a estrutura de vidro não periódica tridimensional durante a dissolução seletiva dos cátions (HENCH, 1991; LIN; HUANG; SHEN, 2005; OLIVEIRA; CORREIA; FERNANDES, 2002).

Nos últimos anos, diferentes composições e bioatividades correspondentes foram desenvolvidas, entretanto, os vidros mais bioativos basicamente são constituídos de SiO_2 , Na_2O , CaO , e P_2O_5 , tendo como principal composição a primeira desenvolvida, já mencionada, a do *45S5 Bioglass®* que contém 45% SiO_2 , 24,5% Na_2O , 24,5% CaO e 6,0% P_2O_5 em massa. Essa composição específica para o *45S5 Bioglass®* supra-regula a expressão genética que controla a osteogênese e a produção de fatores de crescimento (HENCH, 2006; XYNOS et al., 2000). A Figura 4, ilustra a formação da HA na superfície do *45S5 Bioglass®* após ensaio na solução que simula o fluido corporal (“*Simulated blood fluid*” – SBF).

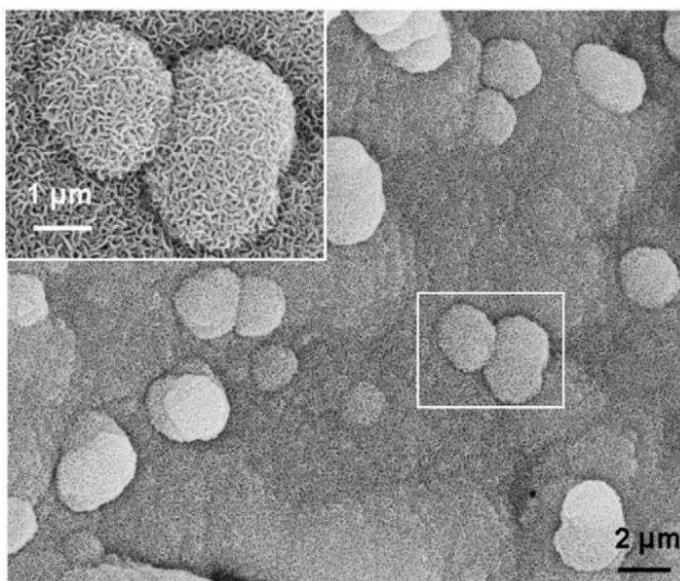


Figura 4 - Micrografia que ilustra a morfologia “couve-flor”, típica da hidroxiapatita formada sobre a superfície do *Bioglass® 45S5* após imersão em simulador de fluido corporal (SBF) durante 28 dias.

A respeito da composição, os vidros bioativos podem ser basicamente divididos em três grupos, nos quais dependem do óxido formador da rede, isto é, sistemas baseados em SiO_2 (silicato), B_2O_3 (borato) e P_2O_5 (fosfato). O primeiro grupo compreende uma ampla gama de formulações de vidro, incluindo *45S5 Bioglass®* e outras composições típicas, tais como 13-93 BG (% em peso: 53% SiO_2 -6% Na_2O -12% K_2O -5% MgO -20% CaO -4% P_2O_5) e S53P4 (53% SiO_2 -23% Na_2O -20% CaO -4% P_2O_5) comercialmente designado como *BonAlive®* (BonAlive Biomaterials, Turku,

Finlândia). Os vidros de borato são caracterizados por sua maior reatividade em relação aos vidros à base de sílica, o que resulta em cinética bioativa mais rápida. Os vidros fosfatados são materiais reabsorvíveis e a sua taxa de dissolução pode ser ajustada de acordo com a sua composição (KAYA; CRESSWELL; BOCCACCINI, 2018).

O método padrão de fusão seguido da solidificação do líquido fundido para formar o vidro bioativo (especificamente da série Bioglass®) acompanha uma série de desvantagens, tais como: alto custo devido a altas temperaturas envolvidas e ao uso de recipientes especiais para sinterização; a utilização de muitas etapas, que podem influenciar na bioatividade e ser passível de contaminação; a limitação de composição devido a altíssima temperatura de equilíbrio-liquidus do SiO₂ (1713°C) e a alta viscosidade do sistema fundido com alta porcentagem de SiO₂. Além disso, esse método de produção produz frequentemente materiais quimicamente heterogêneos. Dessa forma, objetivou-se por um longo tempo a procura por uma nova rota de fabricação desses materiais. Assim, em 1991, Li et al. propuseram uma síntese de vidros bioativos semelhantes, pelo método sol-gel, o qual permitiu a produção de vidros bioativos com maior pureza e homogeneidade e também expandiu significativamente as gamas de composições que apresentam bioatividade, em comparação com vidros bioativos preparados pelo método tradicional de fusão (LI; CLARK; HENCH, 1991).

Em contrapartida ao método via fusão, o sol-gel utiliza baixas temperaturas, e sendo assim, não há mais a necessidade de componentes que sirvam como fundentes e que ajudem na homogeneização do sistema, tal como Na₂O. Dessa forma, esse fato levou a simplificação do sistema, dando origem aos primeiros vidros do sistema ternário SiO₂-CaO-P₂O₅ (LI; CLARK; HENCH, 1991; SEPULVEDA; JONES; HENCH, 2002). Além desse fato, outra consideração deve ser salientada, a adição desses componentes torna o vidro em questão mais solúvel em meio aquoso, fato esse, de suma importância para a formação da HCA e para a proliferação e diferenciação celular (FILGUEIRAS; LA TORRE; HENCH, 1993; LOBEL; HENCH, 1998; SEPULVEDA; JONES; HENCH, 2002). Por outro lado, o método de produção via sol-gel é capaz de produzir materiais com elevada área específica, e assim, esse fato é contrabalançado pela elevada área superficial dos vidros bioativos obtidos por essa

rota (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010; SEPULVEDA; JONES; HENCH, 2002; VALLET-REGÍ; SALINAS; ARCOS, 2016).

O método sol-gel tem sido vastamente explorado em função de suas inúmeras vantagens. A possibilidade de introdução de novos elementos, como Zn (LÁZARO et al., 2014), Mg (LEE et al., 2015), Ag (BALAMURUGAN et al., 2008), Sr (LAO; JALLOT; NEDELEC, 2008), Sn (VALENTE; CUPERSCHMID; CAMPOS, 2011), Ti (JURCZYK et al., 2011), e Ce (DELIORMANLI et al., 2016) e outros, visando aplicações específicas, foi objeto de estudo de várias pesquisas. No entanto, apesar destes desenvolvimentos em relação aos processos de síntese, o estudo dos vidros bioativos originais de sol-gel quaternário, contendo Na, foi largamente inexplorado. Laczka et al. em 2000 (LACZKA et al., 2000) sintetizaram materiais do sistema ternário CaO-P₂O₅-SiO₂ com adição de vários outros elementos incluindo o Na₂O, e Carta et al. em 2005 (CARTA et al., 2005) desenvolveu uma nova formulação no sistema quaternário, porém sua composição diferiu bastante da composição original do Bioglass® 45S5.

Ao mesmo tempo em que a cristalização de alguns sistemas vítreos diminui significativamente a sua bioatividade, os vidros bioativos geralmente apresentam alta bioatividade e baixas propriedades mecânicas, enquanto que os vidros-cerâmicos bioativos têm boas propriedades mecânicas, mas baixa bioatividade (MOURA et al., 2007; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Em virtude desse fato, alguns grupos de pesquisadores têm direcionado sua atenção a produção de vitro-cerâmicas altamente cristalinas, porém com uma bioatividade considerável.

A primeira vitro-cerâmica bioativa mostrando boas propriedades mecânicas e alta bioatividade foi desenvolvida em meados dos anos 90 por Peitl et al. (PEITL; DUTRA ZANOTTO; HENCH, 2001). Esta vitro-cerâmica bioativa monolítica do sistema SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ é cerca de 30 a 65% cristalina, e a sua fase principal é Na₂Ca₂Si₃O₉ com algum fósforo em solução sólida e/ou na fase vítrea residual.

A mais recente vitro-cerâmica altamente bioativa do mesmo sistema quaternário, SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅, embora com algumas modificações de composição e cerca de 99,5% cristalina, foi desenvolvida por Ravagnani et al. Esta vitro-cerâmica quase totalmente cristalina foi patenteada e registrada como Biosilicate® em 2003 (MOURA et al., 2007; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011). Chen et al. em 2010 (CHEN et al., 2010) propuseram a mesma composição, mas com

modificações no processo sol-gel e o comparou com uma biocerâmica isenta de Na₂O (Composição 70% SiO₂ e 30% CaO em peso) para os seguintes aspectos: fases cristalinas, cinética de degradação e formação de HA. Em seus estudos, ele concluiu que os materiais cerâmicos derivados de sol-gel com composições próximas a do 45S5 e sinterizados, resultando na formação de fase cristalina Na₂Ca₂Si₃O₉, possuem as características essenciais de materiais bioativos contendo Na₂O. A comparação indicou que o Na₂O (ou óxidos de outros elementos ativos, tais como o K₂O) poderia ser um constituinte importante permitindo a obtenção de uma combinação ótima de propriedades mecânicas e biodegradabilidade em um material bioativo.

Após Peitl et al. (PEITL; DUTRA ZANOTTO; HENCH, 2001) demonstrarem a formação da fase cristalina bioativa Na₂Ca₂Si₃O₉ em algumas composições vitro-cerâmicas bioativas, vários estudos têm objetivado a formação dessa fase, inclusive do próprio Bioglass® 45S5, mostrando assim seu comportamento de sinterização e cristalização para a obtenção de vitro-cerâmica bioativa em diferentes formas (pós, monólitos e *scaffolds* para engenharia de tecido ósseo) (CHEN; THOMPSON; BOCCACCINI, 2006; HUANG et al., 2008; LEFEBVRE et al., 2008; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011; XIE et al., 2015).

A técnica sol-gel ainda não foi aplicada com sucesso à produção de vidros bioativos ou cerâmicas de vidro contendo Na₂O, isto é, ainda não foi possível a produção de vidros via sol-gel com a mesma composição do Bioglass® 45S5, por exemplo. Todos os membros da série 49-86S (Tabela 1) de vidros bioativos derivados de sol-gel, por exemplo, contêm SiO₂, CaO e P₂O₅, mas nenhum contém Na₂O (HENCH, 1997; RÂMILA; BALAS; VALLET-REGÍ, 2002). A inclusão de Na₂O em um vidro bioativo via sol-gel representa um desafio técnico devido à elevada reatividade hidrolítica do alcoxido de sódio na água (RÂMILA; BALAS; VALLET-REGÍ, 2002).

Tabela 1 - Todas as composições nomeadamente 49-86S e da serie Bioglass® (KRISHNAN; LAKSHMI, 2013b; LI; CLARK; HENCH, 1991)

Nome	SiO ₂	P ₂ O ₅	CaO	Na ₂ O	Ca/P
49S	50,0	4,0	46,0	-	5,75
54S	55,0	4,0	41,0	-	5,12
58S	60,0	4,0	36,0	-	4,50
63S	65,0	4,0	31,0	-	3,87

68S	70,0	4,0	26,0	-	3,25
72S	75,0	4,0	21,0	-	2,62
77S	80,0	4,0	16,0	-	2,00
81S	85,0	4,0	11,0	-	1,37
86S	90,0	4,0	6,0	-	0,75
45S5	46,1	2,6	26,9	24,4	5,17
49S4,9	49,1	2,6	25,3	23,0	4,86
52S4,6	52,1	2,6	23,8	21,5	4,57
55S4,3	55,1	2,6	22,2	20,1	4,26
60S3,8	60,1	2,6	19,6	17,7	3,76

2.4. Micro e nanofibras

Um dos aspectos fundamentais no desenvolvimento de um *scaffold* é que a estrutura 3D desenvolvida mimetize a matriz extracelular natural (MEC) presente no tecido ósseo. A MEC é composta por uma estrutura proteica de colágeno, que se organiza em nanofibras com diâmetro de 50 a 500 nm e controla o comportamento celular com sua arquitetura. No osso, o bloco de construção básico da MEC é o colágeno mineralizado/fibrilas. E dessa forma, compreende-se a importância das estruturas fibrilares para a produção de *scaffolds* utilizados na engenharia de tecidos ósseos (QUE et al., 2015).

As diferentes propriedades físicas e químicas obtidas a partir da produção de materiais com alta área de superfície tem levado ao desenvolvimento técnicas de fabricação fibras cerâmicas em escalas nanométricas. Assim, novas aplicações têm surgido na áreas da biomedicina como na engenharia de tecidos e na liberação controlada de fármacos (JIANG et al., 2014). Sendo assim, combinando as necessidades de um *scaffolds*, (de ser poroso, biodegradável e de apresentar uma determinada estrutura tridimensional) uma alta porosidade combinada com a estrutura morfológica das fibras promove um aumento ainda maior na área de superfície. Esse fato aumenta ainda mais a importância do uso de fibras para este tipo de aplicação (TUTAK et al., 2013).

Conseqüentemente, o avanço nanotecnológico de materiais cerâmicos, incluindo os biovidros, vem enfocando, em muito, o desenvolvimento de nanofibras e

de fibras submicrométricas, de modo a se ter os benefícios da elevada área superficial desses materiais, sem as dificuldades e desvantagens da síntese e processamento dos nanopós.

Kim et al, foram os primeiros pesquisadores a fabricarem nanofibras de vidros bioativos utilizando a eletrofiação segundo a composição $70\text{SiO}_2 \cdot 25\text{CaO} \cdot 5\text{P}_2\text{O}_5$. As fibras apresentaram excelente bioatividade e potencial osteogênico *in vitro* das nanofibras. Os diâmetros das nanofibras reduziram com a diminuição da concentração do sol também com os parâmetros de processo tais como a concentração polimérica, massa molar menor do polímero e com o aumento do campo elétrico aplicado. Adicionalmente, Kim examinou a biomineralização das nanofibras de biovidro no fluido corpóreo simulado (SBF) por 7 dias e os resultados mostraram que a habilidade de formação da hidroxiapatita nas nanofibras foi muito maior quando comparada ao nano biovidro convencional (KIM; KIM; KNOWLES, 2006).

Xia et al em 2007 investigaram o efeito dos parâmetros da eletrofiação em relação ao diâmetro e morfologia de fibras bioativas, obtendo como resultado um controle do diâmetro fibrilar em função da concentração polimérica, do tipo de polímero, e da intensidade do campo elétrico aplicado (XIA; ZHANG; CHANG, 2007). Porém da mesma forma que o trabalho citado anteriormente, esses pesquisadores não utilizaram Na em suas composições.

Deliormanlı (2015) produziu nanofibras bioativas objetivando a composição do bioglass 45S5, usando a eletrofiação. Um tratamento térmico a $700\text{ }^\circ\text{C}$ levou à formação de combeita como a principal fase cristalina. Abaixo de $700\text{ }^\circ\text{C}$, os nitratos não puderam ser removidos da estrutura, fato esse evidenciado por DRX e por MEV, mostrando pedaços de cristais de nitrato de sódio na estrutura. Apesar da natureza cristalina, as supostas nanofibras 45S5 fabricadas apresentaram alta bioatividade no SBF (DELIORMANLI, 2015a).

No mesmo ano, esse mesmo pesquisador e colaboradores, produziram fibras bioativas segundo a composição conhecida como 13-93 (53SiO_2 , $6\text{Na}_2\text{O}$, $12\text{K}_2\text{O}$, 5MgO , 20CaO , e $4\text{P}_2\text{O}_5$ em massa). Fibras de vidro bioativas com um diâmetro médio de $680 \pm 142\text{ nm}$ foram fabricadas por eletrofiação. Os resultados mostraram que as fibras mantiveram sua natureza amorfa após um tratamento térmico a $625\text{ }^\circ\text{C}$ com redução de diâmetro para $464 \pm 95\text{ nm}$ após o tratamento térmico. Suas análises mostraram que a $625\text{ }^\circ\text{C}$ todos os nitratos foram retirados da estrutura. As nanofibras fabricadas apresentaram alta bioatividade no SBF. Também foi avaliada a

biocompatibilidade em células pré-osteoblásticas MC3T3-E1, utilizando o ensaio XTT (avaliação por métodos colorimétricos), que não revelou citotoxicidade das fibras (DELIORMANLI, 2015b).

Apesar das possibilidades de processamento, a eletrofiação em si possui uma série de limitações, como necessidade de utilização de altos campos elétricos, apresentando ainda, baixa produtividade (AGARWAL; GREINER; WENDORFF, 2013; HU et al., 2014; JIANG et al., 2014; WADE; BURDICK, 2014).

No entanto, novas técnicas de produção de nanofibras têm chamado a atenção da comunidade científica, e dentre estas, destaca-se a fiação por sopro em solução, do inglês, *Solution Blow Spinning* (SBS), o qual utiliza um sistema de tubos concêntricos, com uma geometria especial na qual uma solução polimérica é soprada para formar micro e nano fibras, bem como, micro e nano esferas, usando gás pressurizado. Variáveis como: taxa de injeção e concentração polimérica, pressão do gás e geometria dos tubos são a chave para o controle das dimensões e morfologias das fibras e esferas (MEDEIROS et al., 2009; ZHUANG et al., 2012).

O *Solution Blow Spinning*, tem surgido como uma nova rota de fabricação de fibras de forma a perfazer taxas de produção muito superiores às da eletrofiação e ainda sem a inconveniência do uso de altos campos elétricos. Muitos trabalhos têm mostrado que o SBS pode produzir fibras na mesma faixa de diâmetro que a eletrofiação (MEDEIROS et al., 2009), e além disso, fibras cerâmicas via SBS têm sido objeto de estudo de vários grupos de pesquisa. Cheng et al (CHENG et al., 2014), recentemente produziram fibras de ZrO via SBS através da fiação de poli(vinilpirrolidona) (PVP), incorporadas com cloreto de zircônio ($ZrOCl_3$). Uma subsequente calcinação em ar a 800°C converteram as fibras iniciais de PVP/ $ZrOCl_3$ em fibras de ZrO. Fibras flexíveis e ultra-finas de Al_2O_3 também foram produzidas usando o mesmo processo, Li et al (LI et al., 2015) usaram o poli(vinil alcoólico) (PVA) e o cloreto de alumínio ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) e estudaram o efeitos dos parâmetros de fiação, empregando diversas temperaturas de queima. Costa Farias et al (DA COSTA FARIAS et al., 2015) também reportaram a fabricação de fibras cerâmicas de mulita via SBS, produzindo fibras na faixa de 200-900nm.

2.5 Scaffolds nanoestruturados de vidros bioativos

Nesse contexto da produção de fibras de vidros bioativos, o avanço dos estudos e o estado da arte no campo das nanofibras tem se devotado a utilização para

a confecção de *scaffolds* fibrosos (VALLET-REGÍ; SALINAS; ARCOS, 2016). Muito tem sido produzido com a eletrofição, desde *scaffolds* como estruturas hierárquicas a partir de compósitos nanofibrilares de colágeno e vidro bioativo (HSU et al., 2015), bem como gelatina e vidro bioativo (SHARIFI et al., 2016) à fibras de biovidro para aplicação como guia de nervos na engenharia de tecidos (SOUZA et al., 2016).

Por outro lado, os *scaffolds* eletrofiados de nanofibras apesar de muito estudados para uso na engenharia de tecidos, pecam por proporcionar uma inerentemente inadequada infiltração celular (WANG et al., 2013; ZHONG et al., 2012), pois a arquitetura fibrilar eletrofiada, e ainda assim, os espaços vazios entre as fibras dificulta a integração tridimensional com o tecido hospedeiro, e este fato, representa um desafio significativo para a transição entre a ciência e a clínica. Várias abordagens têm sido utilizadas para melhorar o espaçamento entre as fibras de *scaffolds* eletrofiados (SUN et al., 2014; ZHONG et al., 2012), incluindo o uso de porosificadores *in situ*, tais como a introdução de sais (KIM; CHUNG; PARK, 2008), gelo (SIMONET et al., 2007), uma fase polimérica solúvel (WANG et al., 2013). Fotopadronização também foi aplicada utilizando máscaras litográficas (SUNDARARAGHAVAN; METTER; BURDICK, 2010).

A literatura tem reportado o desenvolvimento de inúmeros trabalhos envolvendo a fabricação de *scaffolds* produzidos a partir de biocerâmicas (RAMAY; ZHANG, 2003). E dessa forma, observa-se o quanto é importante a combinação de propriedades mecânicas e bioatividade, pois para aplicações voltadas para a engenharia de tecidos, os *scaffolds* de vidros bioativos amorfos são muito frágeis. Para se obter boa resistência mecânica, os *scaffolds* de vidro bioativos têm de ser sinterizados para formar fases cristalinas e assim adquirir boa estabilidade mecânica. Entretanto, outras estratégias estão sendo elaboradas para resolver esse problema (CHEN; THOMPSON; BOCCACCINI, 2006).

Em 2014, Poologasundarampillai et al produziram as primeiras formas bioativas tridimensionais (3D) para regeneração de tecido ósseo com uma estrutura semelhante ao algodão-lã (ou algodão doce). Esta estrutura fibrosa 3D é amorfa e flexível, ideal para o englobamento de defeitos complexos. Além disso, apresenta grandes espaços inter-fibrilares para promover a vascularização, penetração de células e transporte de nutrientes em todo o *scaffold*. A estrutura fibrosa 3D foi obtida por *electrospinning*, onde o campo elétrico aplicado e as instabilidades exercem uma força sobre o jato de

fiação, que é necessário ser viscoelástico para evitar a quebra do mesmo. Nesse trabalho foi observado que estruturas tridimensionais semelhantes ao algodão só foram produzidas quando foram utilizadas soluções contendo nitrato de cálcio, sugerindo que a carga dos íons Ca^{2+} teve um efeito significativo, visto que, nesse processo de fiação altos campos elétricos são utilizados. As fibras de sílica resultantes apresentaram diâmetros da ordem de 0,5-2,0 μm e eram nanoporosas, bem como bioativas (POOLOGASUNDARAMPILLAI et al., 2014).

Embora os implantes feitos com vidro bioativo tenham mostrado resultados promissores para o reparo ósseo, sua aplicação na reparação de ossos que necessitem ou sejam solicitados mecanicamente durante o tratamento é limitada. Esse fato se justifica devido a diferença entre suas propriedades mecânicas. Dessa forma, Thomas et al. em 2017, produziram *scaffolds* feitos de vidro bioativo com a composição 13-93 (mencionada anteriormente) reforçados com fibras de Ti, preparados por impressão por extrusão. Os *scaffolds* reforçados com 0,4% em volume de fibras apresentaram um aumento de 70% na dureza e 40% na resistência à flexão, em comparação com os fabricados sem fibras. Além disso, a avaliação *in vitro* revelou que a adição de fibras de Ti ao vidro 13-93 reforçou os *scaffolds* de forma mecânica sem inibir suas propriedades bioativas, referente a formação de hidroxiapatita (THOMAS et al., 2017).

Uma outra abordagem a ser utilizada trata-se da introdução de partículas de vidros bioativos em fibras poliméricas. Em um estudo recente, dois tamanhos diferentes de partículas (composição 45S5 Bioglass®) foram incorporados com sucesso em fibras de PCL/quitosana. As propriedades morfológicas, químicas e mecânicas, bem como a bioatividade celular das fibras obtidas foram investigadas. As nanofibras apresentaram formação de precipitados de HCA após um dia de imersão na solução de SBF, confirmando que as partículas incorporadas nas malhas poliméricas preservaram sua bioatividade (LIVERANI et al., 2017).

Em 2016, Medeiros et al. desenvolveram um procedimento para produzir rapidamente nanofibras bioativas porosas combinando SBS (Solution Blow Spinning) e TIPS. Além disso foram produzidos *scaffolds* com macroporos interligados formados a partir dessas nanofibras porosas. Os resultados mostraram a formação de hidroxiapatita, e de acordo com os parâmetros do SBS, foi possível controlar a macroporosidade do *scaffolds* (MEDEIROS et al., 2016).

Diante do exposto, observa-se que, da forma como a engenharia de tecidos cresceu, desde seu surgimento aos dias atuais, um vasto leque de técnicas e procedimentos tem sido desenvolvidos. Com o intuito de aprimorar as exigências biológicas, químicas, estruturais e mecânicas, o desenvolvimento dos *scaffolds*, no que diz respeito às propriedades ótimas para sua aplicação na engenharia de tecidos ósseos necessitou de abordagens que cada vez mais aproximassem as características e necessidades do tecido ósseo às dessa estrutura. Visando a transição entre a ciência e a clínica, um dos principais desafios trata-se da indução de vascularização suficiente, otimizando a taxa de degradação para uma aplicação específica e fabricando estruturas com propriedades biomiméticas mecânicas e estruturais. A descoberta de ligação de osso a composições específicas de vidros levou a uma nova geração de materiais bioativos para a substituição de tecidos. Dessa forma, a funcionalização e a nanoestruturação de *scaffolds* de vidros bioativos provocou um enorme avanço nesse campo do conhecimento. Além disso, interações dessas estruturas com biomoléculas são essenciais para afetar os resultados *in vivo*.

As características de sistemas vítreos contendo Na associado com a elevada área de superfície intrínseca de vidros obtidos via sol-gel, associado a forma fibrilar, podem resultar em uma propriedade muito interessante que deve ser explorada, uma vez que a taxa de dissolução de materiais projetados para *scaffolds* e implantados, é um fator fundamental para sua interação com os tecidos vivos. Sobre este assunto, esta é uma questão aberta que é susceptível de investigação. E assim, observa-se a relevância das cerâmicas bioativas preparadas via sol-gel para a engenharia de tecidos. Verifica-se também o enorme potencial de produção de nanofibras, da fiação por sopro em solução, que vêm se destacando na produção de fibras cerâmicas com elevada produtividade.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

Para o desenvolvimento desse trabalho foram utilizados os reagentes apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Reagentes utilizados no trabalho.

Utilização	Material	Empresa/marca
Precursor do Silício (Si)	Tetraetil ortosilicato (TEOS, 99%)	SIGMA ALDRICH
Precursor do Fósforo (P)	Trietil Fosfato (TEP, ≥99.8%)	SIGMA ALDRICH
Precursor de Cálcio (Ca)	Nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 99%)	SIGMA ALDRICH
Precursor de Sódio (Na)	Nitrato de Sódio ($\text{Na}(\text{NO}_3)$ 99%)	SIGMA ALDRICH
PVA 110	PVA POVAL 110 (Maior massa molar)	KURARAY
PVA 105	PVA POVAL 105 (Menor massa molar)	KURARAY
Ácido Acético (AcA)	NH_4OH (30-32%), PA	VETEC
Ácido Clorídrico (HCl)	HCl (36,5-40%), PA	ACS - NUCLEAR
Álcool Cítrico (AC)	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ anidro, PA	CINÉTICA
Etilenodiamino tetra-acético (EDTA)	EDTA-2Na	SIGMA ALDRICH

3.2. Metodologia

3.2.1. Preparação das Amostras

3.2.1.1 Preparação dos pós

Para a preparação da solução e dos pós, usou-se o Tetraetil ortosilicato (TEOS, 99%) como precursor do Silício (Si), o trietil fosfato (TEP) como precursor do Fósforo (P), nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) como precursor do Cálcio (Ca) e nitrato de sódio ($\text{Na}(\text{NO}_3)$) como precursor do Sódio (Na). As composições estudadas são mostradas na Tabela 3. Foram utilizados três ácidos como catalizadores, o HCl, o ácido cítrico (AC) e o EDTA. Primeiramente, o TEOS foi adicionado aos ácidos diluídos para

molaridades de 0,1, 0,5 e 1,0 mol/L. Após 1h sob vigorosa agitação através de um agitador magnético, os outros reagentes foram adicionados na seguinte ordem: TEP, nitrato de sódio e nitrato de cálcio, com intervalo entre as adições de 1h. A quantidade de água foi determinada de acordo com o número de mols de água em relação ao TEOS ($n = \text{Água}/\text{TEOS}$). Esse valor foi variado em 25, 30 e 35. Essas soluções foram denominadas neste trabalho por SolPre. Para as soluções contendo os polímeros, uma quantidade de polímero (Poli vinil Alcoólico, PVA 110) dissolvida em água, convenientemente calculada para concentração de 12% (massa/volume total de líquidos) foi adicionada às soluções SolPre agitadas por mais 1h. As soluções ainda foram levadas a estufa a 110°C por aproximadamente 16h para a gelificação e secagem. Após esses processos, os materiais finais foram queimados em 600, 700, e 800 °C, com taxa de aquecimento de 3°C/min e patamar de queima de 5h.

Tabela 3 - Composições estudadas no presente trabalho, em mol. ® (KRISHNAN; LAKSHMI, 2013b; LI; CLARK; HENCH, 1991)

Nomenclatura	Si	P₂O₅	CaO	Na	Ca/P
PÓS					
70S30	70	0	30	0	-
45S5	46,1	2,6	26,9	24,4	5,2
FIBRAS					
58S	60	4	36	0	4,5
63S	65	4	31	0	3,9
45S5	46,1	2,6	26,9	24,4	5,2

3.2.1.2 Preparação das fibras via SBS

Para a preparação das fibras, apenas as soluções com polímero e o ácido acético (AcA) foram utilizadas. Além disso, usou-se um tempo de hidrólise do TEOS de 12h, antes da adição de cada outro componente. Uma quantidade de polímero (Poli vinil Alcoólico, PVA 110) dissolvida em água, convenientemente calculada para concentração de 8% (massa/volume total de líquidos) foi adicionada às soluções SolPre e agitadas por mais 15 min antes de serem fiadas. Os parâmetros de fiação foram: taxa de injeção de 6 ml/h; pressão do ar de 40, 50 e 60 psi; distância de trabalho

de 50 cm. O aparato de fiação foi modificado para a apropriada fiação com a água através da introdução de uma protrusão no bico, como mostra a referência (SANTOS et al., 2016b). As fibras foram fiadas dentro de uma câmara de vidro com temperatura em torno de 45°C. Foi utilizado um coletor rotatório (Figura 5) e outro em formato de uma gaiola aproximadamente esférica para o aprisionamento das fibras (Figura 7). Para a calcinação, os materiais finais foram queimados em 600, 700, e 800 °C, com taxa de aquecimento de 3 e 30°C/min e patamar de queima de 5h. A Figura 6 e 7, ilustra o aparato de fiação e resume os parâmetros que foram utilizados, bem como a mudança realizada para a fiação aquosa.

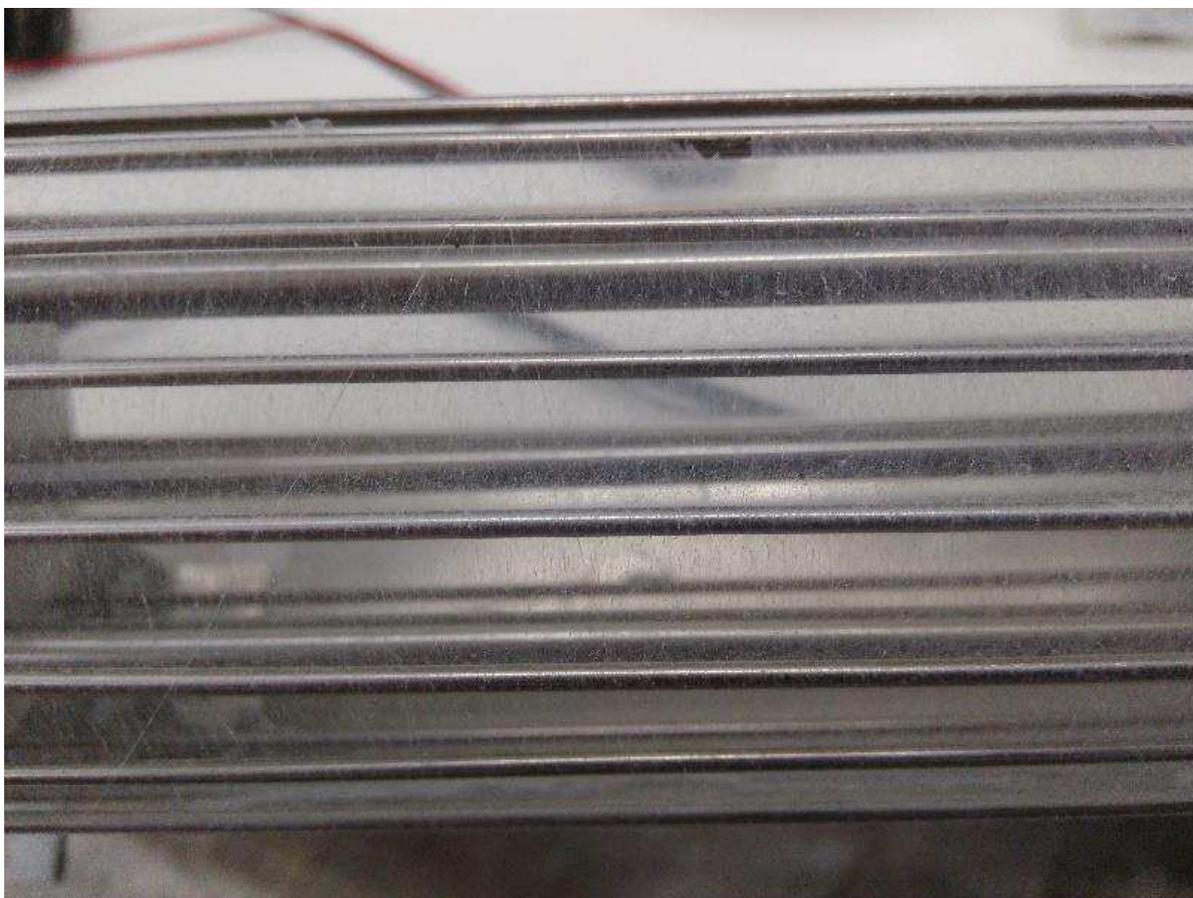


Figura 5 - Estrutura do Coletor utilizado na fiação por SBS

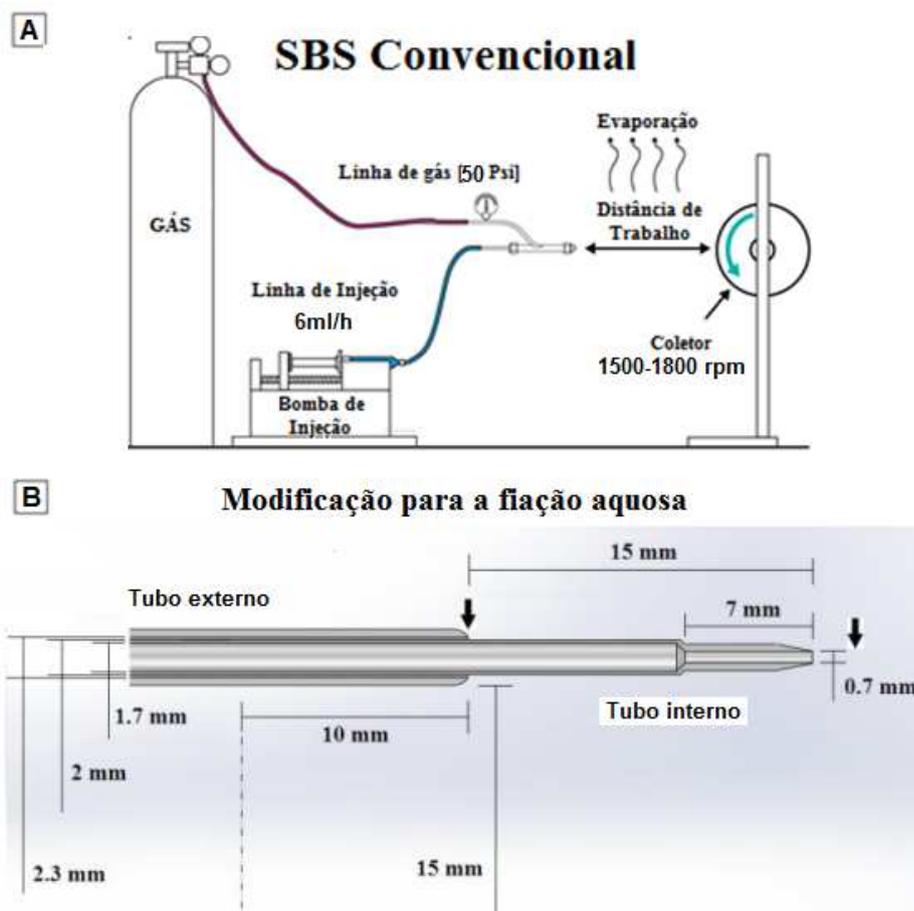


Figura 6 - (A) Aparato e variáveis para a fiação por SBS das fibras e scaffolds e (B) modificação da geometria dos bicos para a fiação aquosa (SANTOS et al., 2016a).

3.2.1.3 Preparação dos *Scaffolds* nano estruturados

As fibras produzidas foram coletadas de duas formas diferentes: na gaiola, de forma a produzir uma estrutura semelhante ao algodão, e no coletor rotatório de forma a produzir fibras alinhadas. Todos os coletores (rotatório e gaiola) foram colocados dentro de uma câmara de fiação com temperatura controlada de cerca de 45 °C, proporcionada através da introdução de lâmpadas incandescentes, como mostrado na Figura 7. O coletor rotatório foi produzido no Laboratório de Tecnologia dos Materiais (LTM – UFCG) com tiras vazadas distanciadas de 1 cm para proporcionar um alinhamento fibrilar. O coletor em formato de gaiola esférica possui diâmetro de cerca de 20 cm e orifício da grade de cerca de 0,8 cm de diâmetro.



Figura 7 - Aparato de fiação evidenciando a caixa e a gaiola de fiação

Para as fibras na forma de chumaço, após sua fabricação, ainda dentro da câmara de fiação a quente, as mesmas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 8x4 cm e foram aprisionadas em moldes (Figura 8) para a fabricação de scaffolds no formato cilíndrico. Foram usados dois moldes: um molde maior com diâmetro de porta amostra de 10 mm e peso do apoio de 75 g (Figura 8A), e um molde menor com diâmetro de porta amostra de 7 mm e peso de apoio de 40g (Figura 8B). Os moldes foram fabricados com peso e diâmetros de porta amostra de forma que proporcionassem pressões similares nas amostras, de forma que sua diferença seja apenas em caráter de tamanho dos *scaffolds* finais.



Figura 8 - Moldes utilizados para a preparação dos scaffolds cilíndricos

A metodologia do trabalho pode ser visualizada através do seguinte fluxograma, (Figura 9)

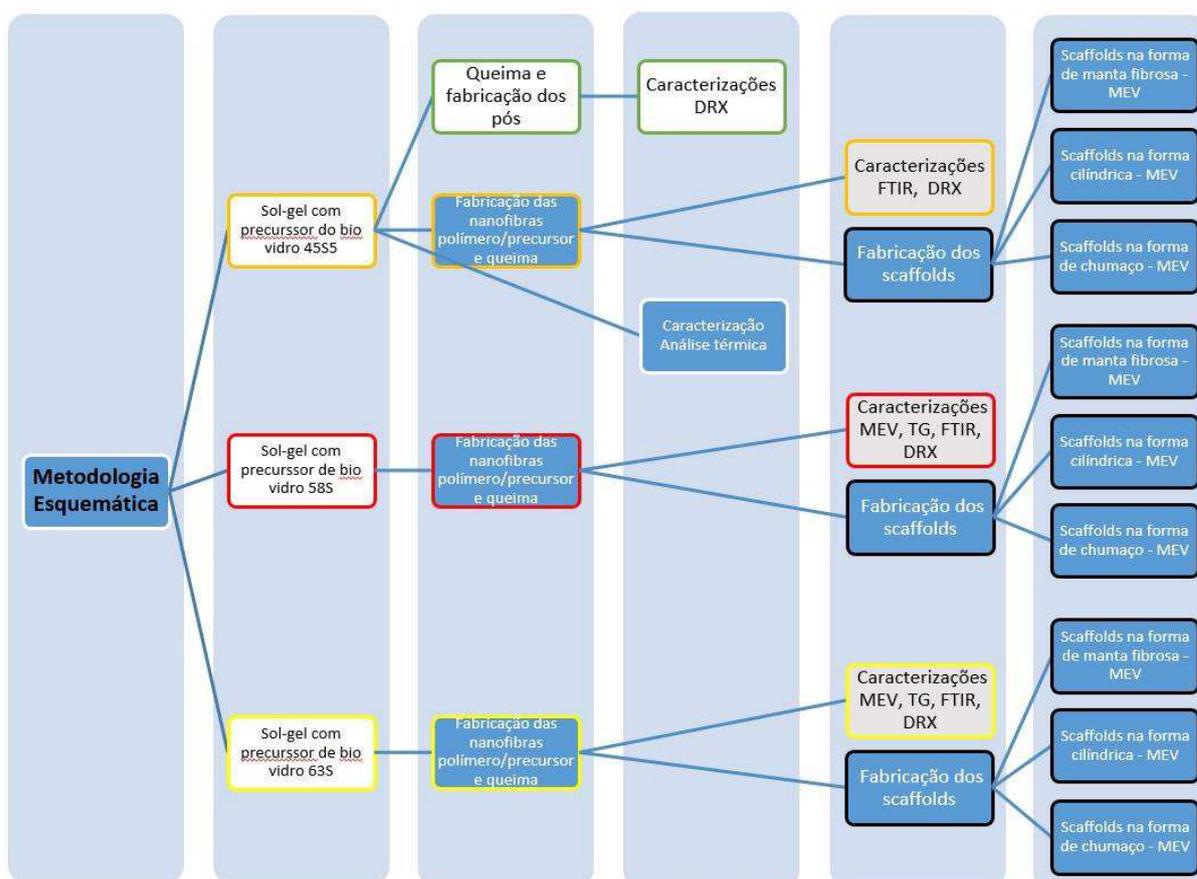


Figura 9 - Metodologia esquemática

3.2.2 Caracterização das Amostras

3.2.2.1 Caracterizações físicas e químicas

Análise Térmica (Tg-DTA)

Os pós foram caracterizados via análise térmica através de um equipamento da marca Shimadzu, modelo DTG-60H, com taxa de aquecimento de 3 °C/min

Microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG)

Os pós, as fibras e os *scaffolds* obtidos foram observados via microscopia eletrônica de varredura, com o intuito de caracterizar as morfologias e os diâmetros das fibras/pós. As aferições dessas medidas serão realizadas com o auxílio do software de análise de imagens ImageJ. O equipamento utilizado foi um Quanta 200 da marca FEI.

Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi empregada com o intuito de observar e comparar as bandas de absorção presentes nas fibras antes e depois da queima. Os espectros por FTIR foram obtidos com 64 varreduras na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} com a resolução de 2 cm^{-1} em um equipamento FTIR IRAffinity-1 da marca Shimadzu.

Difração de raios X (DRX)

A técnica de difração de raios X (Shimadzu, XRD 6000) foi usada para investigar a estrutura cristalina dos pós e fibras obtidos. Os dados XRD foram recolhidos na faixa de 20-80° com passo de 0,02° em 2s utilizando radiação monocromática $\text{K}\alpha$ de cobre ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) com voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA.

3.2.2.2 Avaliação da bioatividade

Para os testes de avaliação da bioatividade, o material analisado foi imerso em uma solução de fluido corpóreo simulado (SBF), produzida segundo a referência (KOKUBO; TAKADAMA, 2006), por períodos de tempo de 2, 12, 24, 36 e 168 h. Foi utilizado uma razão de 0,5 mg de amostra por ml de SBF. Posteriormente foi verificado se houve formação de HA na superfície do material. A microscopia eletrônica de varredura (MEV), a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

(FTIR) e a Difração de raios X foram utilizados para a comprovação da formação da Hidroxiapatita.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sol-gel do biovidro puro e com polímero e análise dos pós

As amostras denominadas com a nomenclatura SolPre se tratam dos sois géis obtidos após a secagem para cada composição estudada. A Figura 10A apresenta a imagem dos SolPre 45S5 produzidas a partir dos três ácidos estudados para a composição 45S5 dos pós após a secagem. A amostra com HCl apresentou grau de transparência elevado tal como ao de um vidro comum, quando comparada com as demais. As amostras obtidas com AC e com EDTA apresentaram opacidade. Esse aspecto pode ser explicado devido a formação de uma rede polimérica mesclada de carbono e silício. Isso indica que o TEOS parcialmente hidrolisado está se ligando ao AC e ao EDTA para formar essa rede, de forma que amostras opacas e heterogêneas são obtidas. Desde que o AC e o EDTA se tratam de agentes quelantes poderosos (LOBEL; HENCH, 1998), os íons metálicos podem estar presos devido a atrações iônicas, com possíveis ligações covalentes se formando entre as cadeias de Si e C (KAKIHANA, 1996).

Este mesmo fato também pode ser observado para as amostras obtidas com a adição de 12% de PVA110, produzido tal como descrito na metodologia (Figura 10B). A amostra obtida com HCl apresentou uma leve coloração amarelada, porém transparente. É importante notar que o HCl não é um agente quelante, e assim a transparência das amostras com esse ácido é mantida, desde que não há ligações que envolvam modificações estruturais nas cadeias de silício. Observa-se também para essa amostra uma leve coloração amarela, explicado pela degradação inicial do polímero (PVA110). Já para as amostras com AC e com EDTA, a opacidade é novamente observada. É possível observar também uma coloração amarela intensa da amostra obtida com AC, fato esse possivelmente explicado pela degradação já ocorrida na temperatura de secagem para esse ácido e para o polímero. Todos os materiais obtidos após a queima a 700°C dessas amostras resultaram em pós brancos.



Figura 10 - Imagens dos sois géis para a composição 45S5 depois da secagem. (A) Sois géis sem adição de polímero e (B) sois géis com adição de polímero.

Para as amostras com adição de 12% PVA e com composição 70S30, uma coloração marrom intensa foi observada após a secagem, como mostrado na Figura 11A. Essa coloração é semelhante ao aspecto de um sol gel mostrado por Manzano et al., 2006. Nesse estudo, esses autores confeccionaram um tipo de sol gel chamado de ‘*Bioactive Star Gels*’ que se tratam de sois géis orgânicos-inorgânicos, materiais híbridos resultantes da hidrólise e policondensação dos grupos alcoxissilanos, localizados nas extremidades dos braços dos precursores. Foi observado que a medida que a quantidade de Ca^{2+} aumenta há uma redução da reticulação e, por conseguinte, é reduzida a quantidade de estruturas Si-O-Si totalmente condensadas. Seus resultados evidenciaram também que a agregação de fase cristalina (cristalização) não ocorre quando Ca^{2+} é incorporado na rede de gel em estrela. Ademais, esses pesquisadores utilizaram precursores específicos e catalizadores de platina para a formação da estrutura estrela. Porém, neste trabalho foi utilizado apenas os precursores usuais do método sol gel, e dessa forma acredita-se que outros fatores estejam auxiliando na formação de uma estrutura semelhante a formação estrela. Possivelmente a hidrólise em meio muito ácido, o qual dificulta a

condensação, esteja favorecendo a entrada do íon Ca^{2+} nos sítios reacionais (Si-OH) da rede de Si-O-Si , muito pouco formada. Outro fator, é que o uso do AC como catalizador tem sido observado como facilitador dessa suposta nova formação, verificado em experimentos prévios. Além disso, observou-se que a temperatura da câmara de fiação também teve relação direta com a formação da estrutura estrela (fato observado e discutido no próximo tópico).

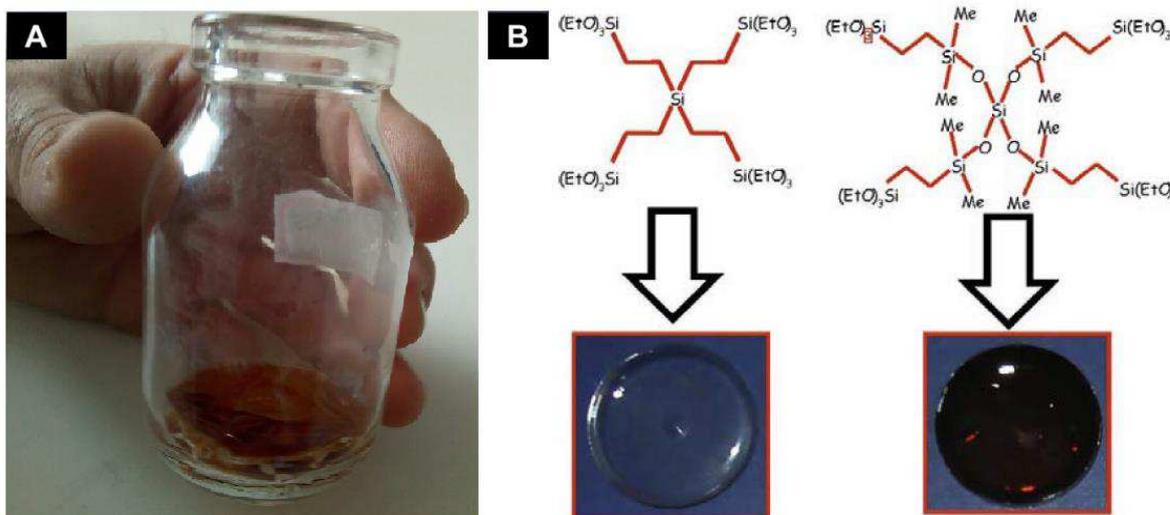


Figura 11 - (A) imagen do sol gel 70S30 e (B) estrutura explicativa da cor obtida (SHARP, 2005).

Diante das evidências mostradas, compreende-se que a formação da rede de Si-O-Si está sendo dificultada pela entrada do cálcio. Sendo assim, como pode ser visto na Figura 12, através das análises termogravimétricas para as amostras sem polímero (SolPre 45S5) com os três ácidos utilizados nesse trabalho, observa-se picos de cristalização para as amostras com AC e com EDTA, porém nenhum para as amostras com HCl. Esse fato, também é explicado pelo efeito quelador desses ácidos. A quantidade em mol utilizada para catalisar as reações de hidrólise nos presentes experimentos não é estequiometricamente a mesma que seria utilizada para quelar a totalidade dos íons disponíveis. Dessa forma, para as amostras com composição 45S5, parte dos íons impedem a formação da rede de Si-O-Si e parte é quelada. A medida que a temperatura aumenta e o ácido quelador é degradado, as cristalizações em novas fases acontecem. Desse modo, como o HCl não tem função queladora, os íons podem se arranjar de forma a facilitar a cristalização desde a formação das micelas durante a confecção da solução.

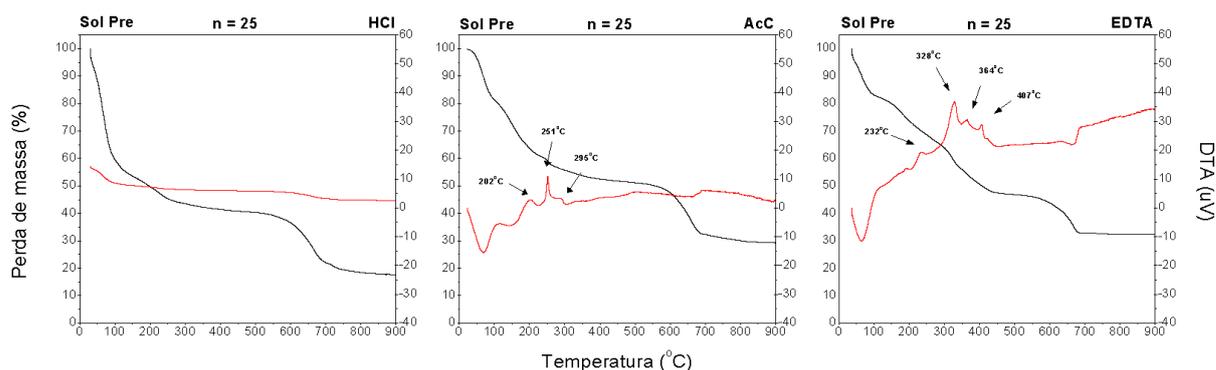


Figura 12 - Análises termogravimétricas das amostras SolPre 45S5 com os diferentes ácidos com $n=25$. Linha preta referente a perda de massa, e linha vermelha referente a DTA.

Lin et al., 2009, estudaram a evolução da nanoestrutura e distribuição de cálcio no vidro bioativo 70S30 derivado do sol-gel e mostraram que durante a gelificação os íons provenientes da dissolução do $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ficam dissolvidos no solvente em volta dos aglomerados formados pela rede de Si-O-Si. Durante a secagem a aproximação dos íons NO_3^- e o Ca^{2+} é observada, e o precursor inicial é formado novamente na superfície dos poros-líquidos dos aglomerados de Si-O-Si (Figura 13). Após a queima o íon NO_3^- é reduzido e degradado, deixando o cálcio livre para atacar a rede se ligando ao O ou até mesmo ao Si, como na estrutura estrela. O mesmo fato pode ser entendido quando se trata da composição 45S5 que contém Na, porém nesse caso, o nitrato de sódio tem uma estabilidade térmica muito alta e apenas em temperaturas superiores a 600°C é possível observar sua decomposição (YUVARAJ et al., 2003). Esse fato pode ser observado, novamente, através das análises termogravimétricas mostradas na Figura 12. Os patamares finais para todas as amostras diferem dos valores calculados estequiometricamente para as composições estudadas, no que diz respeito a quantidade de óxidos finais. Isso é possivelmente decorrente da quantidade de NaNO_3 que não se decompôs completamente (fato este, também visto nos padrões de DRX que serão apresentados na Figura 14,15 e 16).

Ainda, a respeito dos resultados das análises térmicas (Figura 12), observa-se que para os três ácidos utilizados no presente trabalho, os patamares finais são obtidos em temperaturas de aproximadamente 700°C , porém para essas amostras sem adição de polímero, uma calcinação a 400°C (evidenciada através dos padrões de DRX apresentados na Figura 16) resultou em pós brancos. Dessa forma, é razoável

entender que toda matéria orgânica já se decompôs nessa temperatura e a maior parte da perda de massa observada na faixa de 600 - 700 °C, possivelmente esteja associada a decomposição do NaNO_3 .

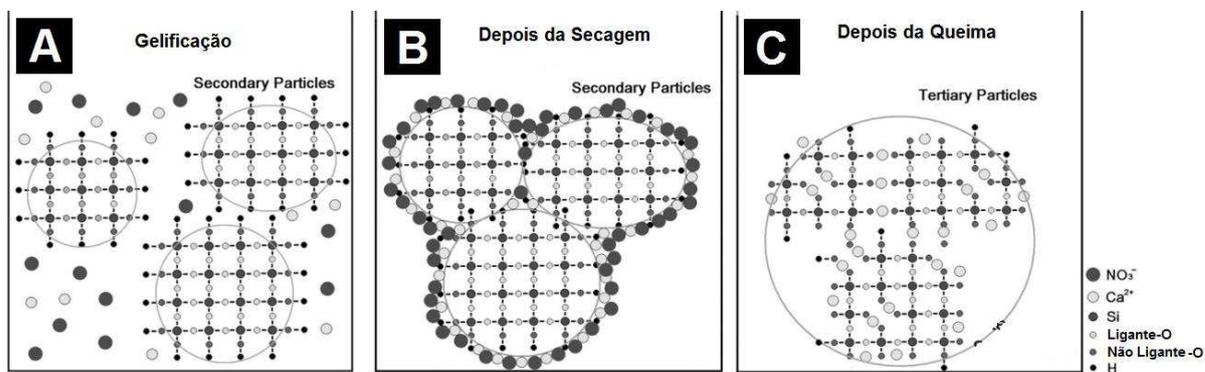


Figura 13 - Uma ilustração esquemática da evolução da distribuição do cálcio durante o estado de (A) gelificação (B) secagem e (C) queima (LIN et al., 2009).

A Figura 14 apresenta o comportamento térmico das amostras com polímero. Pode-se observar características diferentes quando comparados com as amostras sem polímeros. Os patamares finais foram observados entre 400-600°C para as amostras produzidas com os três ácidos. Verifica-se que, os inícios desses patamares ocorrem em 580, 450 e 400 °C para as amostras com HCl, AcC e EDTA, respectivamente. Esses resultados parecem indicar que o polímero está favorecendo a degradação do NaNO_3 . De fato, Yuvaraj et al., em 2003, estudaram a decomposição de nitratos e mostraram que essa decomposição em atmosfera de H_2 acontece através da quebra heterolítica entre o H-H e da redução do N com o enfraquecimento da ligação iônica entre o íon Na^+ e o NO_3^- , por exemplo, e a formação do respectivo óxido, gás nitrogênio e água. Dessa forma, acredita-se que o OH presente nas cadeias poliméricas também enfraqueça a ligação entre os íons nitrato-metal, de forma que essa separação favoreça a decomposição do íon nitrato em temperaturas bem mais baixas do que a de decomposição do NaNO_3 , e assim observa-se uma intensa diminuição na quantidade de NaNO_3 já a 600°C para as amostras com polímero. Esses fatos também podem ser observados através dos padrões de DRX mostrados nas Figuras 15, 16 e 17.

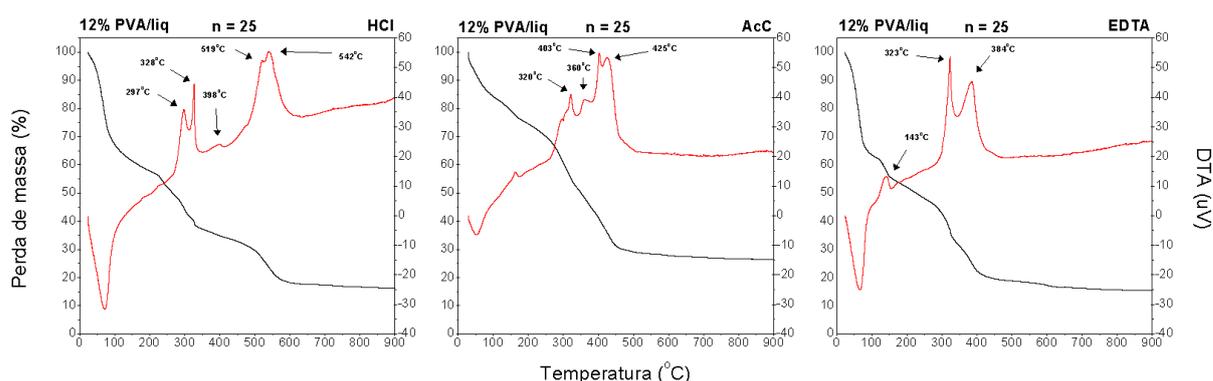


Figura 14 - Análises termogravimétricas das amostras SolPre 45S5 com os diferentes ácidos com $n=25$ e com polímero. Linha preta referente a perda de massa, e linha vermelha referente a DTA.

A Figura 5 mostra os padrões de DRX para as soluções dos precursores (SolPre 45S5) produzidas com HCl e sem polímero em queimas ocorridas em 600, 700 e 800°C. É possível observar que a 600°C, as amostras produzidas com HCl para $n=25$ apresentam picos referentes ao NaNO_3 (JCPDS 36-1474) e a fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ (JCPDS 78-1650), comportamento este também reportado por Deliormanli, em 2015 e Peitl et al., em 2001. Com o aumento da temperatura para 700 e 800°C, os picos referentes ao NaNO_3 diminuem consideravelmente, em concordância com as análises discutidas anteriormente. Para esse mesmo ácido, as amostras com $n=25$ e 30, foi observado aumento da intensidade dos picos referentes ao NaNO_3 e diminuição dos picos referentes a fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$. Isso quer dizer que, para n maiores tem-se maior quantidade de água no sistema, o que aumenta a quantidade de moléculas de água, possivelmente solvatando os íons Na^+ e os distanciando. Ao acontecer a secagem, estes íons são postos novamente em contato com o íon NO_3^- , favorecendo a formação voltando a forma original de NaNO_3 , em maior quantidade para n maiores. Como para n maiores a quantidade de água no sistema é mais elevada, um tempo maior é necessário para que toda a secagem seja realizada efetivamente, de forma que a maior quantidade de íons possam voltar a forma original do NaNO_3 . Além disso, observa-se também a formação de uma fase de fosfato-silicato de sódio e cálcio (JCPDS 84-0151) (DELIORMANLI, 2015a), com preferência de formação para n maiores. Sabe-se também que a quantidade de água tem relação direta com as reações de hidrólise e condensação, acelerando os dois processos, e assim, como o precursor do P (TEP) se trata de um alcóxido, tal como o precursor do Si (TEOS), espera-se que uma maior quantidade de água promova a formação de uma rede de

Si e P mais bem formada, facilitando a formação dessa fase (POUXVIEL et al., 1987; TURNER; FRANKLIN, 1987).

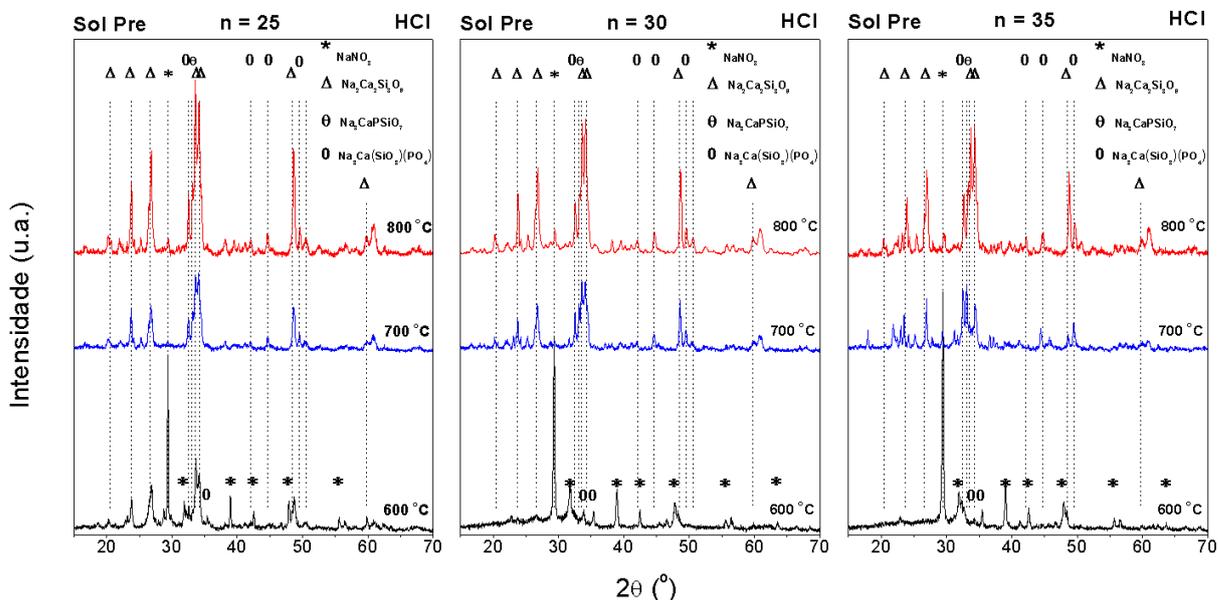


Figura 15 - DRX das amostras dos sois géis (45S5) produzidos com HCl.

Os fatos discutidos também são observados nos padrões de DRX das amostras obtidas com AC representados na Figura 16. Porém nesse caso, os picos referentes ao NaNO_3 aparecem com intensidades semelhantes para todos os n . Esse fato decorre do poder quelador do AC, de forma que a mesma quantidade de íons Na^+ , bem como Ca^{2+} , é quelada por esse ácido. Assim a disponibilidade dos íons metálicos para voltar a forma de nitrato metálico após a secagem diminui e é a mesma para todos os n em questão. Além disso, para essas amostras produzidas com AC, há uma preferência na formação da fase fosfato-silicato de sódio e cálcio, em relação as amostras produzidas com HCl. Acredita-se que, como discutido anteriormente, o AC possivelmente estar favorecendo a formação de uma estrutura semelhante a da morfologia estrela, e esse dado condiz com o fato de que os íons metálicos se liguem diretamente ao formador da rede Si. Assim, ao quelar certa quantidade de íons, após a queima e a degradação do AC, o mesmo pode estar favorecendo a entrada do cálcio e sódio na rede, de tal forma que prefencie a formação da fase fosfato-silicato de sódio e cálcio.

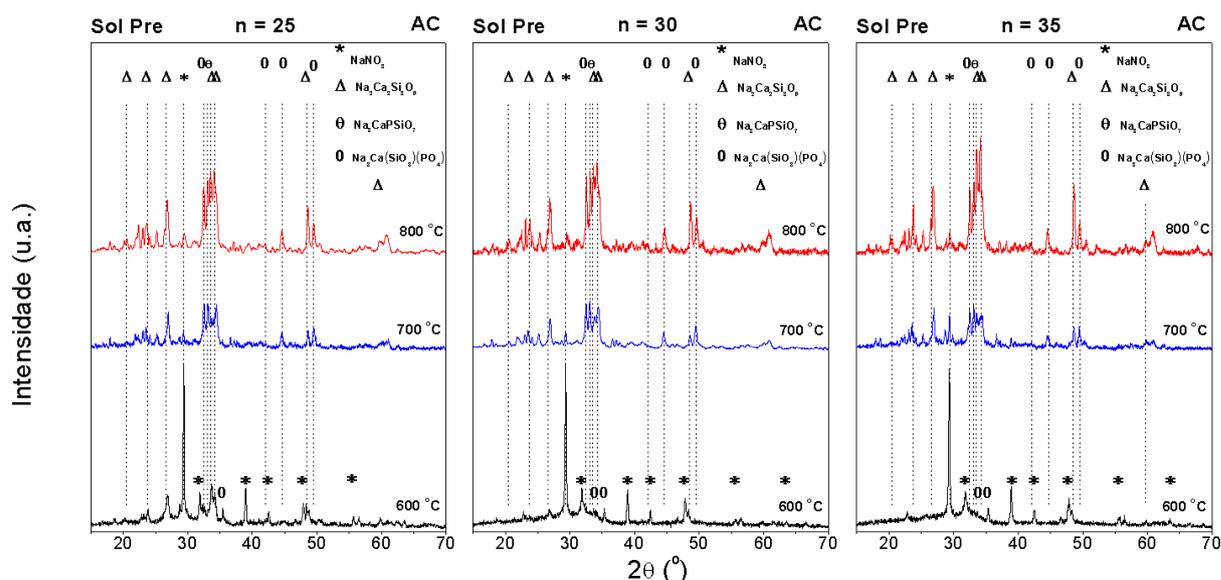


Figura 16 - DRX das amostras dos sois géis (45S5) produzidos com AC.

Uma queima a 400°C das soluções SolPre 45S5 foi realizada para a verificação da formação de fases nessa temperatura. Observou-se que a formação da fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ só ocorreu para as amostras produzidas com EDTA (Figura 17). Para os outros ácidos apenas a fase do NaNO_3 e a do fosfato-silicato de sódio e cálcio foram observadas. Esses resultados corroboram com os apresentados pelas análises térmicas (Figura 12), pois os picos de cristalização mostrados para o HCl e para o AC são inferiores a 400°C. Contudo nessa temperatura, o NaNO_3 não se decompõe. No entanto, observa-se um pico de cristalização a 407°C para as amostras produzidas com EDTA. Para os padrões de DRX das amostras com EDTA mostrados na Figura 17, pode-se verificar uma redução considerável nos picos referentes ao NaNO_3 , indicando que o mesmo está agindo como quelador do íon Na^+ , de forma que o íon NO_3^- fica livre para ser decomposto em temperaturas inferiores, deixando o Na^+ livre para reagir com a rede de Si-O-Si e favorecer a formação do $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ já a 400°C.

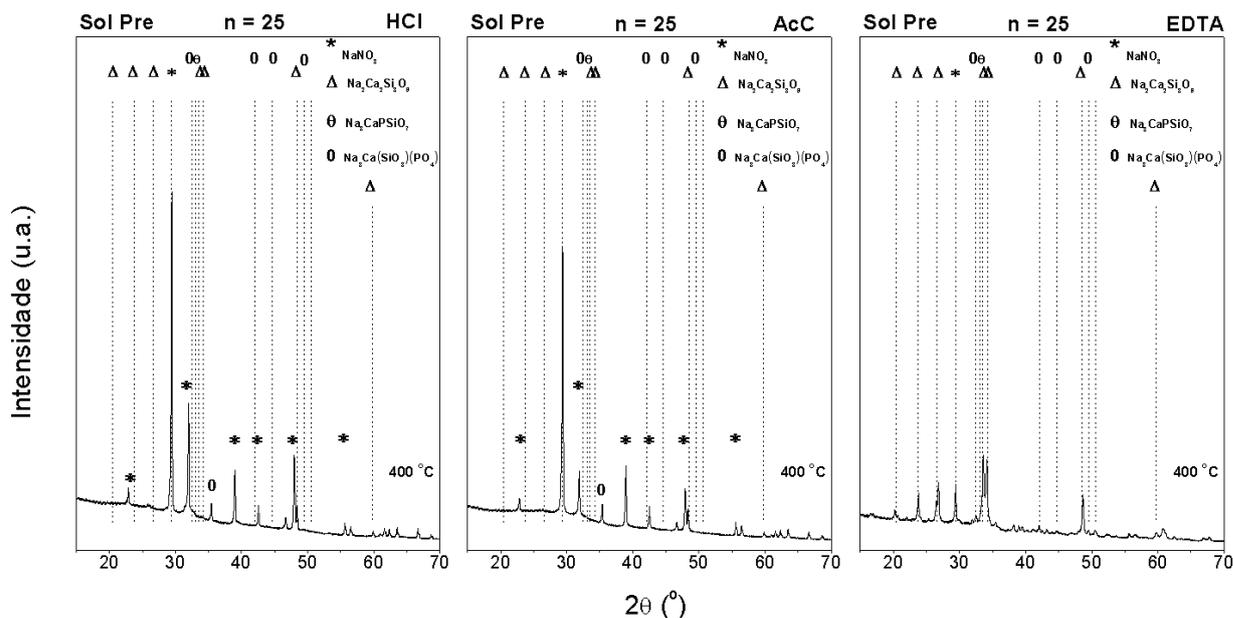


Figura 17 - Comparação dos DRX das amostras dos sois géis 45S5 com todos os ácidos e com $n=25$.

A Figura 18 apresenta os padrões de DRX comparativos das amostras com polímero e sem polímero. Analisando as amostras com o polímero 12% PVA (45S5), tendo em vista os dois polímeros utilizados (PVA 105 e PVA 110), observa-se pouca diferença entre a utilização dos dois polímeros. Entretanto, quando se compara as amostras com polímero e sem polímero, observa-se uma diferença nítida entre os padrões de DRX. Esses resultados indicam que a adição de polímero diminui a temperatura de cristalização do NaNO_3 para 600°C . Já para temperaturas superiores, foi observado cristalização contínua da fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ com o aumento da temperatura, fato este também reportado na literatura (CHEN et al., 2010; LEFEBVRE et al., 2007; SIQUEIRA; PEITL; ZANOTTO, 2011; SIQUEIRA; ZANOTTO, 2011).

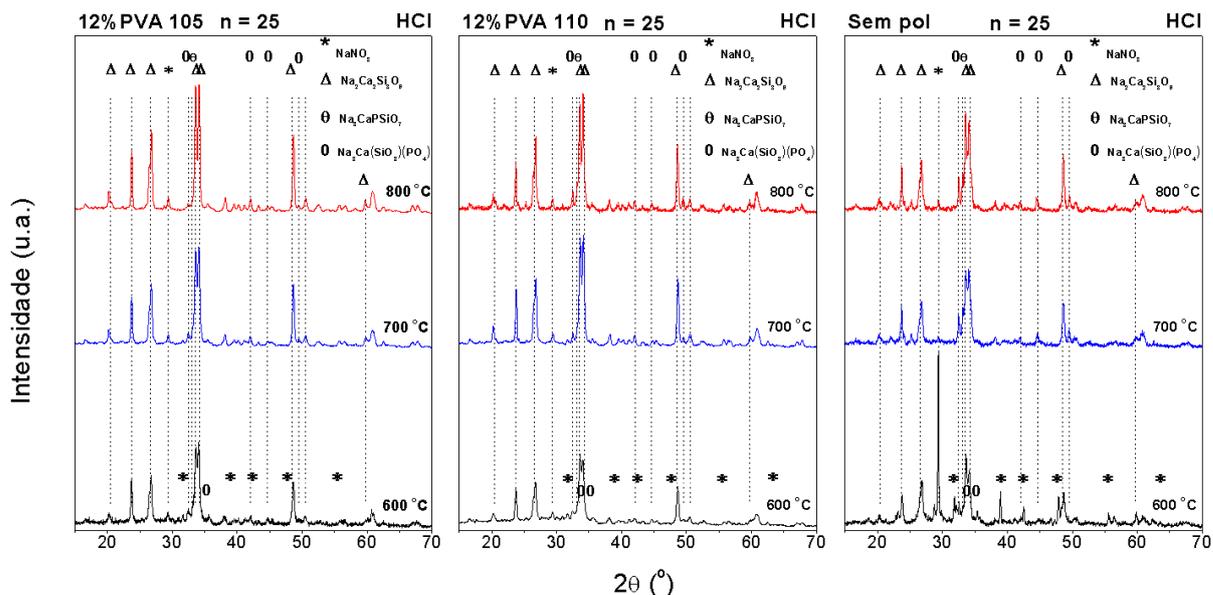


Figura 18 - Comparação dos DRX das amostras dos sois géis 45S5 com adição dos polímeros com utilização do HCL e com n=25.

4.2 Fibras produzidas pelo SBS

A Figura 19 apresenta as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das fibras 45S5 antes e depois da queima. Pode-se observar que as fibras da composição 45S5 antes da queima apresentaram ótima formação fibrilar, porém com o aparecimento de aglomerados de formas retangulares e cúbicas, o qual possivelmente está relacionado à cristalização do NaNO_3 na saída do bico de fiação, em virtude da rápida evaporação do solvente no processo de formação fibrilar pelo SBS. Este caso também foi evidenciado em outros trabalhos utilizando a eletrofiação (OLIVEIRA et al., 2011, 2013a, 2013b), condizendo com a mesma situação observada durante a secagem das soluções preparadas para as análises dos pós, já discutidas anteriormente. É razoável inferir que minúsculas partículas de NaNO_3 também podem estar dispostas internamente na estrutura das fibras e desse modo, após a queima, (Figura 18B) as fibras referentes a esta composição se apresentaram muito frágeis e de difícil manuseio para serem utilizadas como scaffolds ou para serem analisadas quanto a bioatividade. Durante a queima, o NaNO_3 se converte a fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ proporcionando fragilidade e causando a quebra da fibra. Além disso, a realização do teste de bioatividade tornou-se incoerente, pois, ao entrar em contato com a solução SBF a estrutura fibrilar se desfez fazendo com que a amostra se transformasse em um pó. Este fato pode está associado a dissolução parcial da fibra, desde que essa,

ainda apresentava quantidades relevantes de NaNO_3 evidenciado também pelos FTIR e DRX (Figura 19 e 20) discutidos posteriormente.

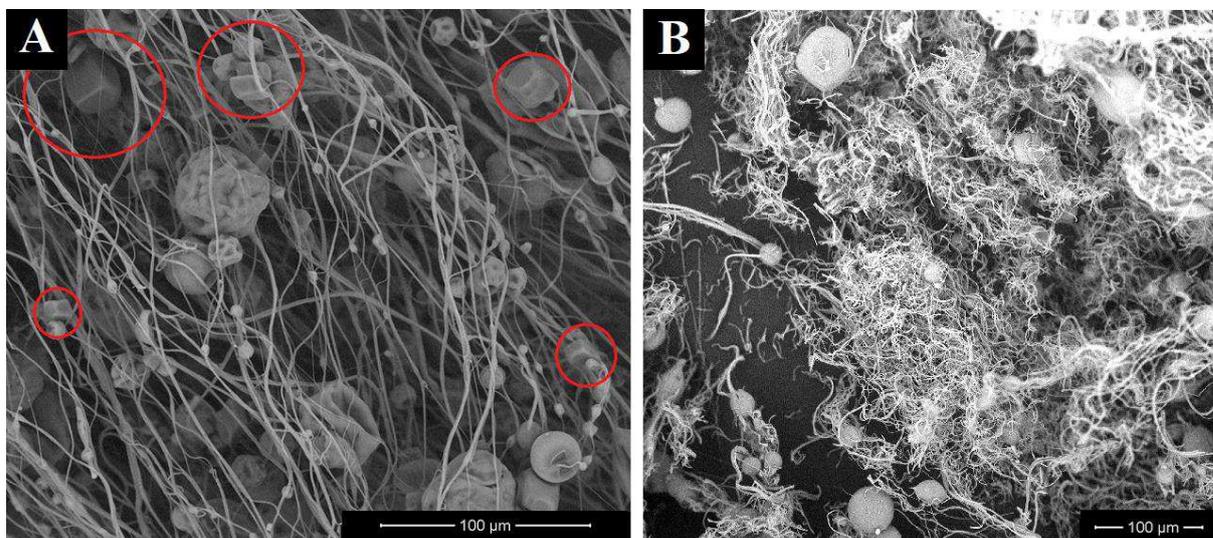


Figura 19 - MEV das fibras 12%PVA 45S5 (A) antes da queima e (B) depois da queima.

Os espectros obtidos por FTIR dessas fibras estão mostradas na Figura 20. De acordo com a literatura, as principais bandas de absorção do vidro bioativo 45S5 amorfo são o pico de flexão da ligação Si-O a 460 cm^{-1} e o alongamento da ligação Si-O em torno de 926 e 1024 cm^{-1} , de forma muito próxima ao que pode ser observado no gráfico. No presente estudo, a ampla ressonância na faixa de $925\text{-}950\text{ cm}^{-1}$ corresponde aos modos de vibração Si-O-2NBO (oxigênio nos finais de cadeia) associados aos íons Ca^{2+} e Na^+ . Isto implica a ocorrência de cristalização, uma vez que a fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ tem mais ligação NBO do que quando comparada com o vidro amorfo, ou seja, estes picos confirmam que há a cristalização do material com o aumento da temperatura de queima, coerentemente com o que é mostrado no gráfico. O pico em torno de 1010 cm^{-1} refere-se ao estiramento da ligação Si-O que é atribuído à ligação de silício da fase rica em fósforo (LIU; RAHAMAN; DAY, 2013).

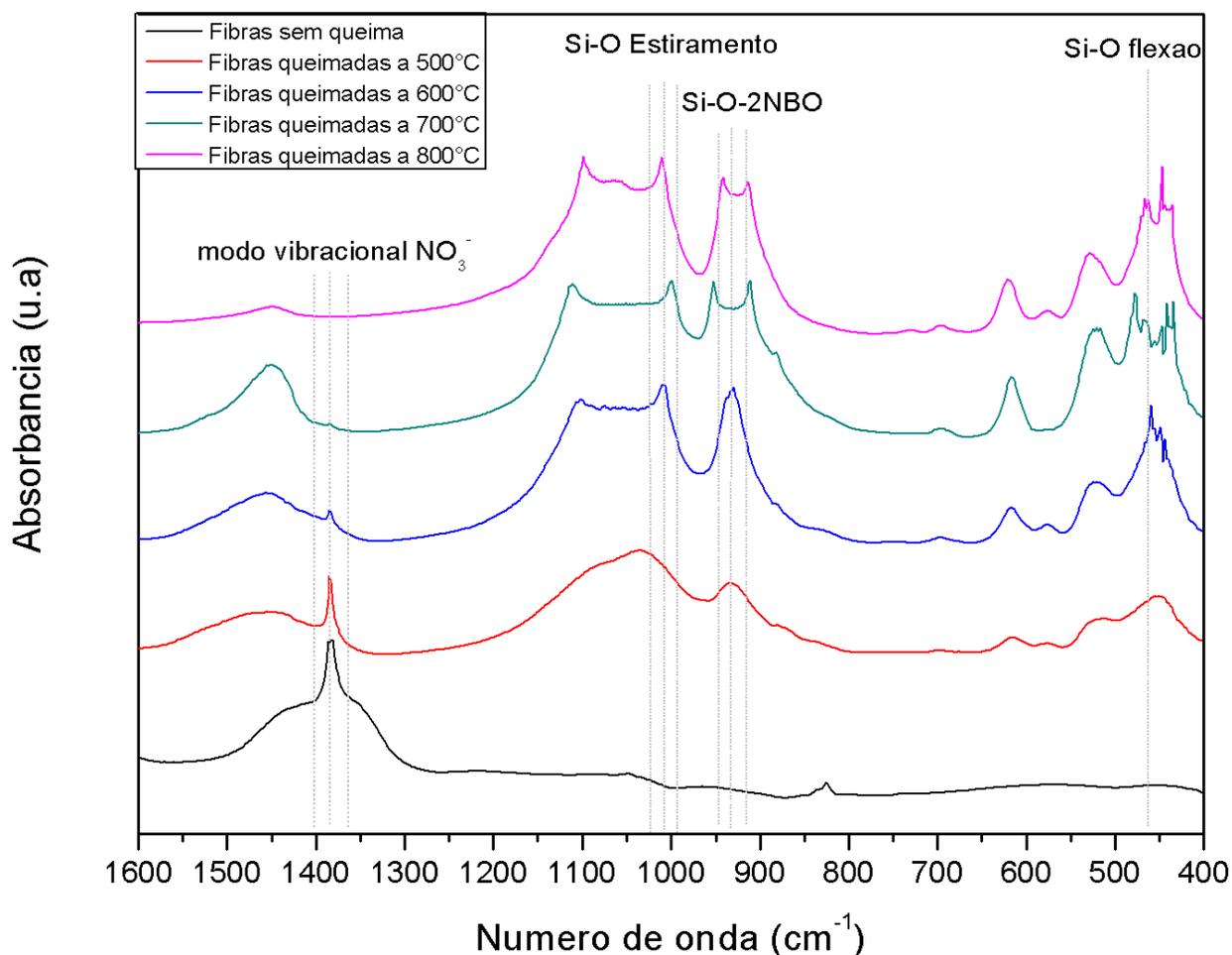


Figura 20 - Análise por FTIR das fibras obtidas com 12%PVA para a composição 45S5

A análise dos padrões de DRX para estas mesmas fibras nas diferentes temperaturas de queima é mostrado da Figura 21. De forma semelhante aos pós obtidos e já discutidos no presente texto, observa-se a formação da fase cristalina $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ em 500°C , e o consequente aumento da cristalinidade com o aumento da temperatura. Os dois gráficos (FTIR e DRX, Figura 20 e Figura 21, respectivamente) condizem também quanto a presença do NaNO_3 .

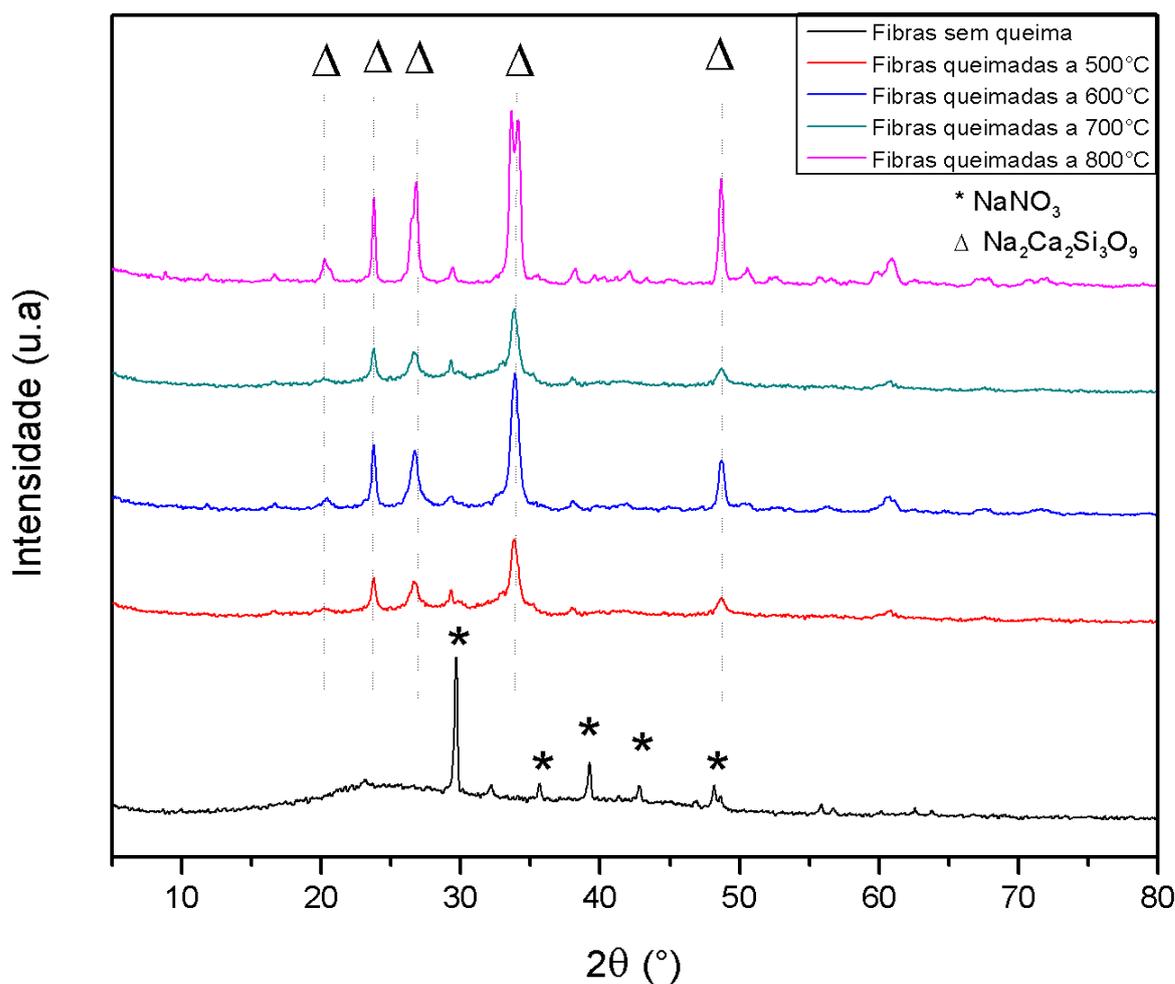


Figura 21 - Análise DRX das fibras obtidas com 12%PVA para a composição 45S5 queimadas em diferentes temperaturas.

Na Figura 22 observa-se as fibras obtidas sem sódio das composições 58S e 70S30. As fibras obtidas para a composição 70S30 e 58S apresentaram coloração preta. Através de uma série de experimentos foi detectado que esse fato é proveniente da combinação de uma série de condições: temperatura ambiente interna da câmara de fiação, do tipo e da molaridade utilizada para o ácido em questão. As fibras da composição 70S30 que receberam aquecimento intenso devido as lâmpadas de aquecimento, após a queima apresentaram coloração preta. Já para as fibras 58S que não receberam o calor das lâmpadas de forma intensa apresentaram coloração branca. Esse fato parece ter relação direta com a formação de uma estrutura semelhante a formação estrela, já mencionada no tópico anterior. Além disso, alguns testes preliminares mostram que as amostras confeccionadas com qualquer dos quatro ácidos utilizados nesse trabalho, com molaridade superior a 0,5M, resultaram também em amostras com a coloração preta, e esse fato está relacionado às

características das reações que envolvem o processo sol-gel, as reações de hidrólise e condensação. Tais reações são regidas pelo tipo de ácido ou base, pela sua molaridade e pela sua força. Meios muito ácidos favorecem as reações de hidrólise e atrasam as reações de condensação criando estruturas em redes em maiores tempos de reação. (ARTAKI; ZERDA; JONAS, 1986) Além disso, supõe-se que, como a quantidade de Ca dessas amostras é muito alta, o calor intenso ativa a gelificação de forma que o Ca^{2+} muito próximo dos Si, devido a fraca condensação da rede, reaja com o Si para formar essa tal estrutura. No presente trabalho as fibras pretas não foram estudadas.

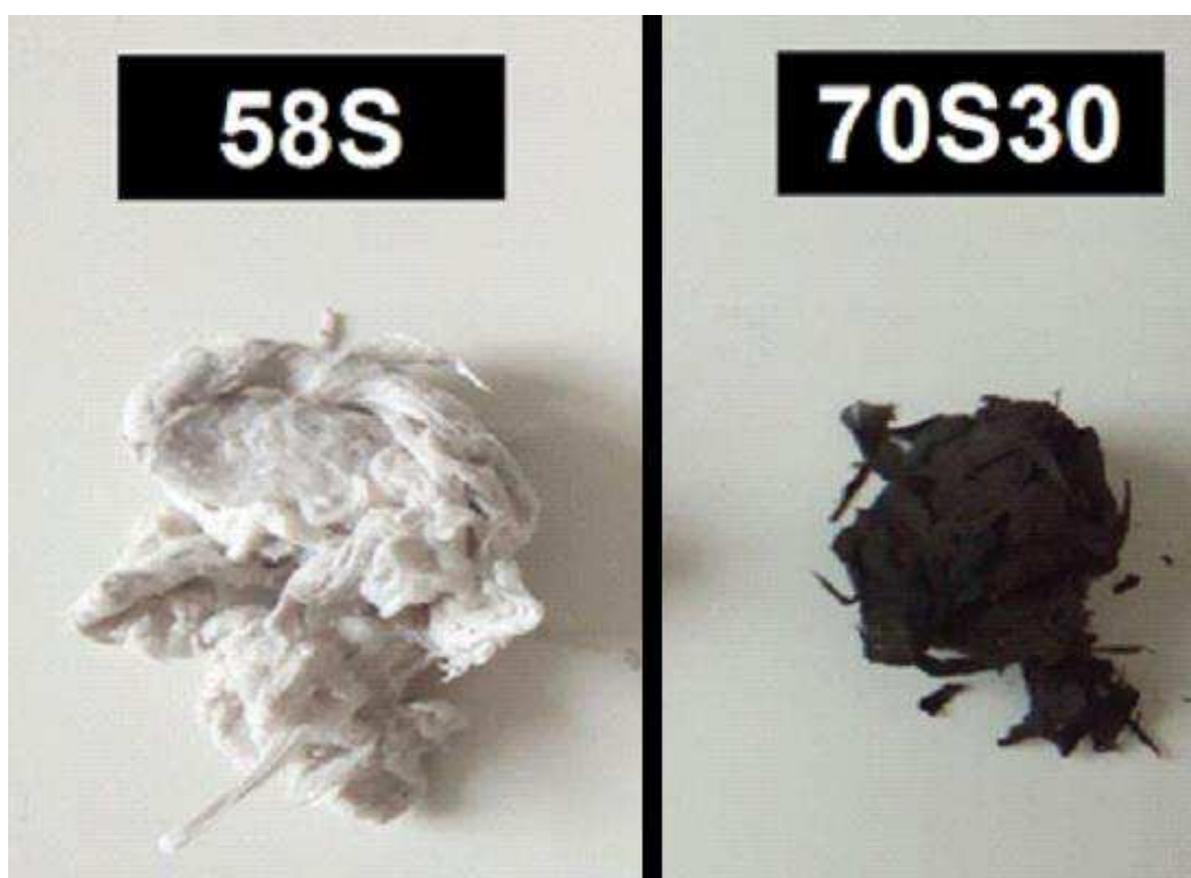


Figura 22 - Fibras queimadas a 700°C fabricadas com HCl para as composições sem Na.

A Figura 23 mostra os padrões de DRX das amostras apresentadas anteriormente. Analisando esses gráficos, é possível observar a característica amorfa das fibras referente a essa composição. Como já mencionado anteriormente, o Ca^{2+} impede a cristalização, concordando assim com os resultados mostrado no presente trabalho.

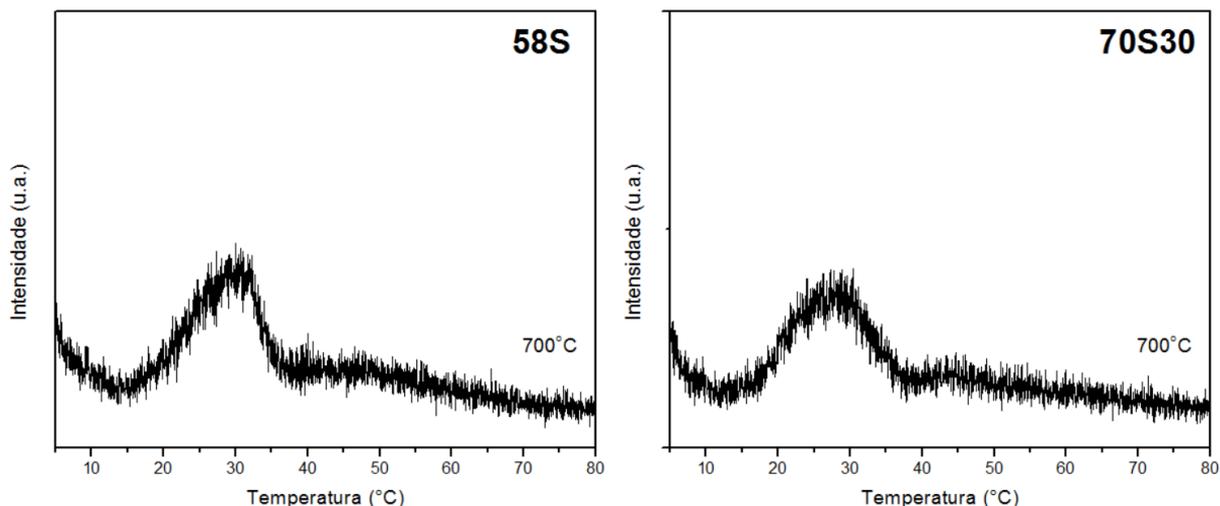


Figura 23 - Análise de DRX para as amostras com composição 58S e 70S30.

Para as composições 58S e 63S, fibras brancas foram produzidas com 12h de reação utilizando o ácido acético, com molaridade de 0,1M. Essas fibras apresentaram resistência suficiente para o manuseio e o prosseguimento de outras análises.

Para as fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 40 psi, as fibras obtidas antes da queima apresentaram diâmetros médios de 345 ± 98 nm com predominância na faixa de 200 a 400 nm (Figura 24B) e as fibras obtidas após a queima resultaram em diâmetros na ordem de 459 ± 123 com predominância na faixa de 300 a 500 nm (Figura 25B). É possível observar também a presença de estruturas não fibrosas nas amostras antes e após a queima.

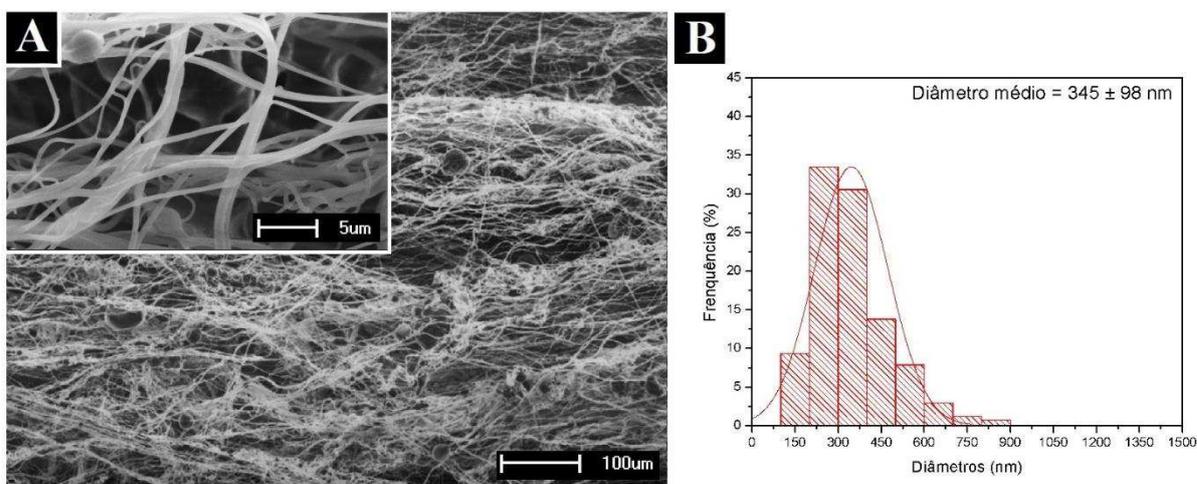


Figura 24 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 40 psi antes da queima.

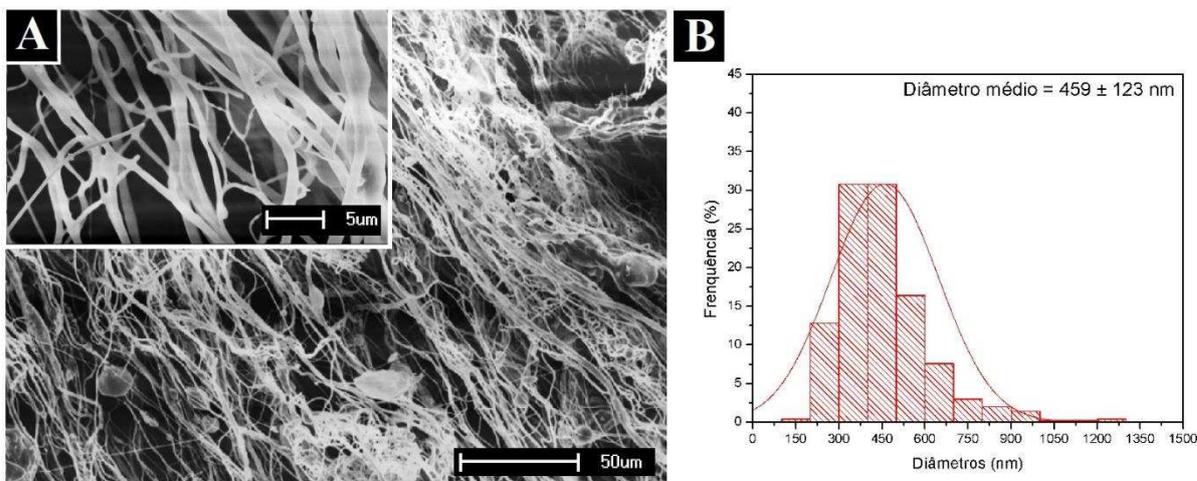


Figura 25 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 40 psi após a queima.

Para as fibras da composição 58S com pressão de fiação de 50 psi, as fibras produzidas antes da queima apresentaram diâmetros médios de 340 ± 104 nm com predominância na faixa de 200 a 400 nm (Figura 26B) e as fibras produzidas após a queima resultaram em diâmetros na ordem de 415 ± 103 com predominância na faixa de 300 a 500 nm (Figura 27B). É possível observar também a presença de estruturas não fibrosas nas amostras antes e após a queima, porém em quantidade menor que a amostra obtida para a pressão anterior, de 40 psi (fato observado através de outras micrografias de MEV).

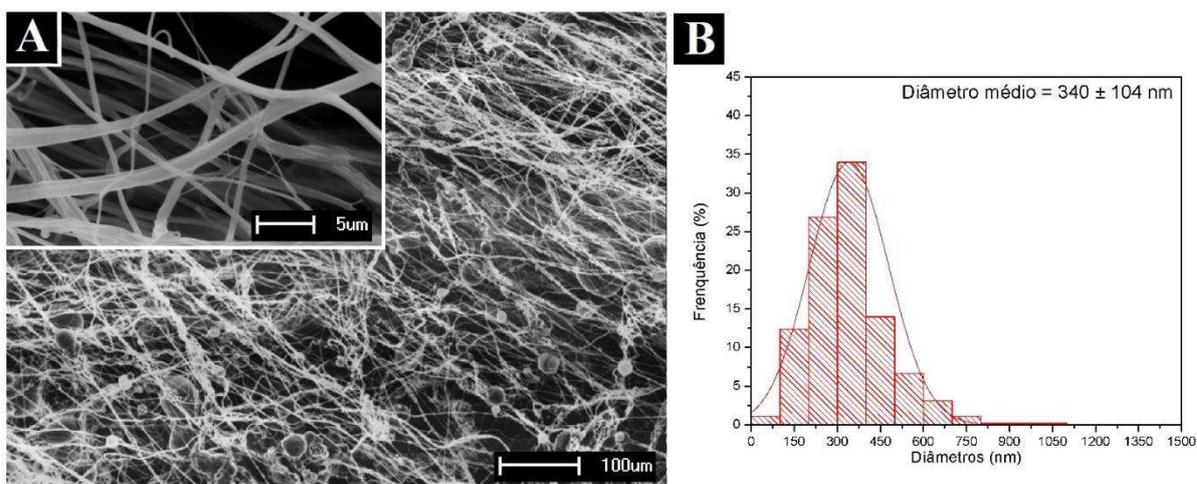


Figura 26 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 50 psi antes da queima.

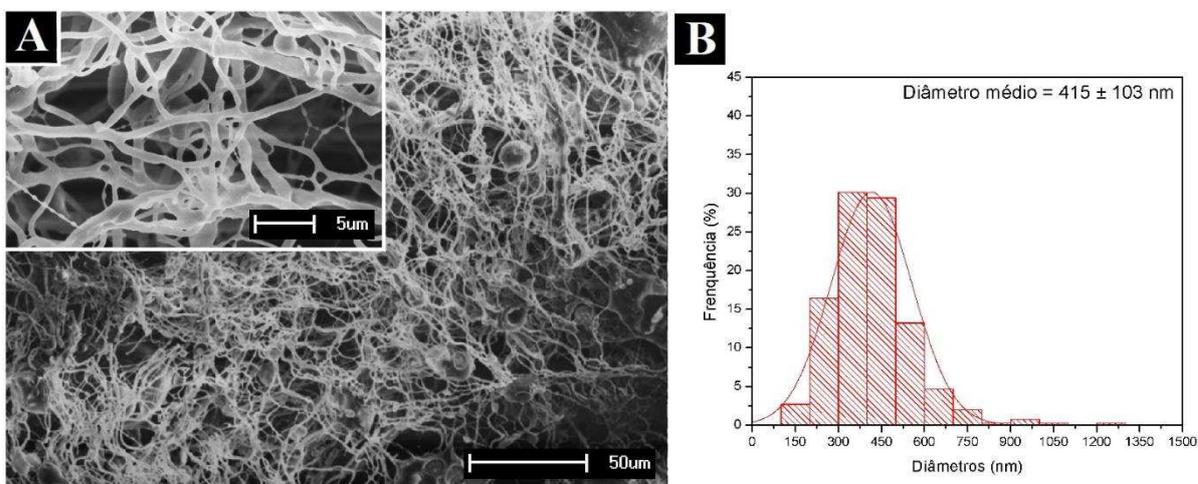


Figura 27 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 50 psi após a queima.

Ainda a respeito da composição 58S, com pressão de fiação de 60 psi, as fibras produzidas antes da queima apresentaram diâmetros médios de 302 ± 81 nm com predominância na faixa de 200 a 300 nm (Figura 28B) e as fibras obtidas após queima resultaram em diâmetros na ordem de 344 ± 95 com predominância na faixa de 200 a 400 nm (Figura 29B). Para essa amostra é possível observar fibras mais uniformes e alongadas, bem como uma diminuição da quantidade de estruturas não fibrosas nas amostras antes e após a da queima.

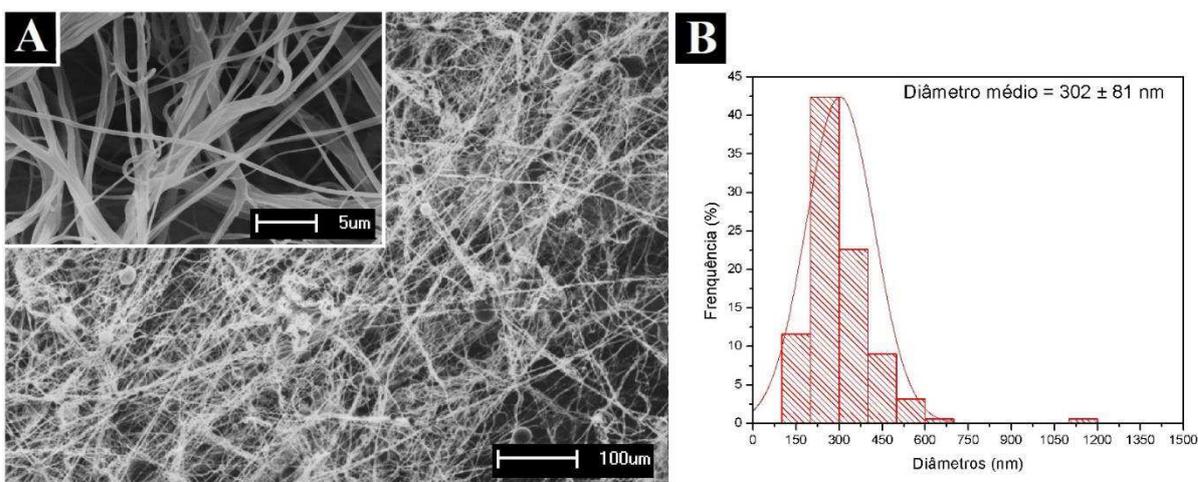


Figura 28 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S com produzidas com pressão de fiação de 60 psi antes da queima.

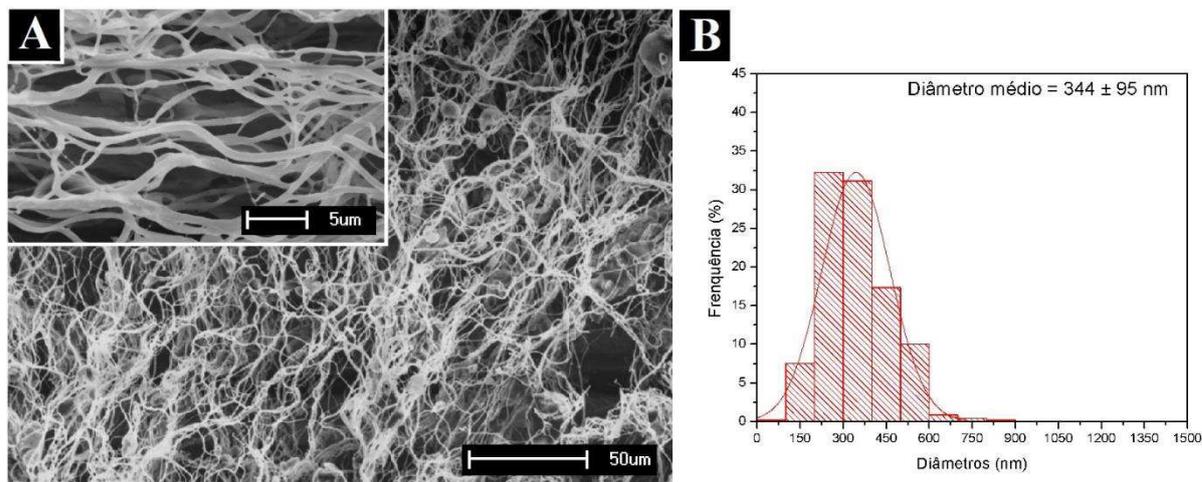


Figura 29 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 58S produzidas com pressão de fiação de 60 psi após a queima.

As fibras da composição 63S produzidas com pressão de fiação de 40 psi antes da queima apresentaram diâmetros médios de 481 ± 144 nm com predominância na faixa de 200 a 700 nm (Figura 30B) e as fibras obtidas após a queima resultaram em diâmetros na ordem de 494 ± 116 com predominância na faixa de 300 a 600 nm (Figura 31B). Da mesma forma que para a composição 58S, é possível observar que há a presença de estruturas não fibrosas nas amostras antes e após a queima.

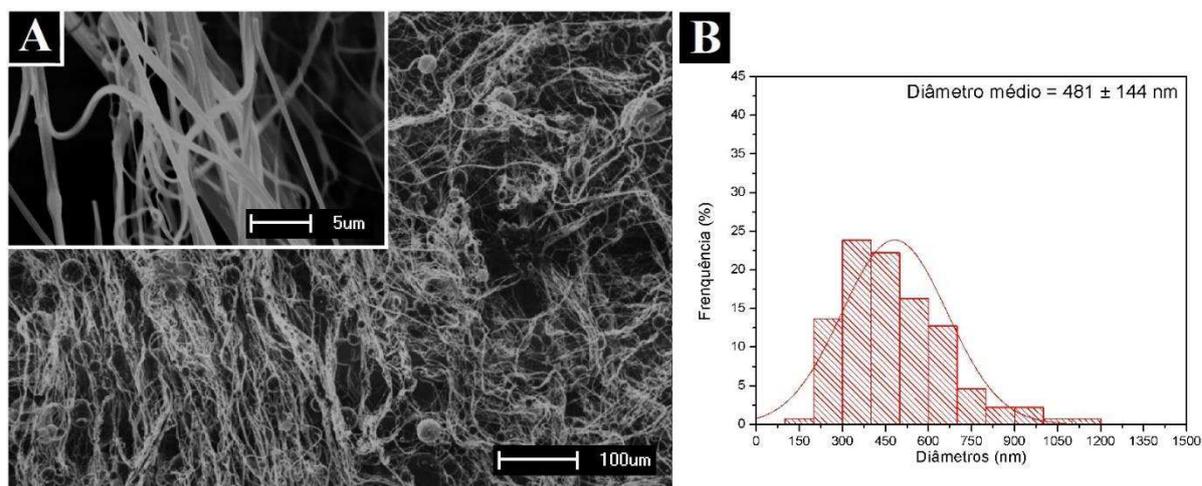


Figura 30 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 40 psi antes da queima.

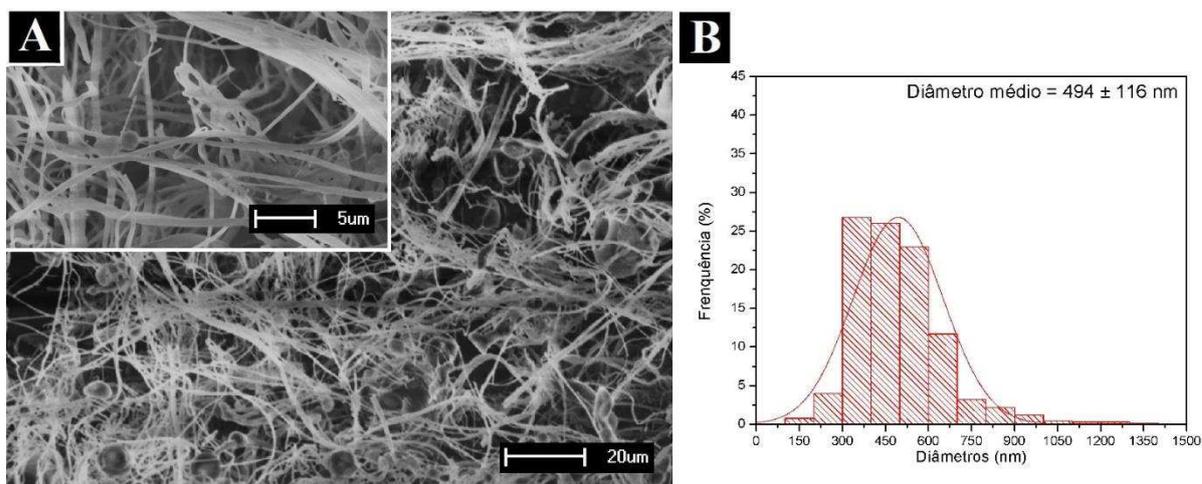


Figura 31 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 40 psi após a queima.

Para as fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 50 psi antes da queima, os diâmetros médios resultaram em 454 ± 128 nm com predominância na faixa de 300 a 500 nm (Figura 32B) e as fibras produzidas após a queima resultaram em diâmetros na ordem de 463 ± 139 com predominância na faixa de 200 a 500 nm (Figura 33B). Da mesma forma que para a composição 58S, é possível observar que há a presença de estruturas não fibrosas nas amostras antes e após a queima, porém em menor quantidade quando comparada com as amostras obtidas com pressão de 40 psi.

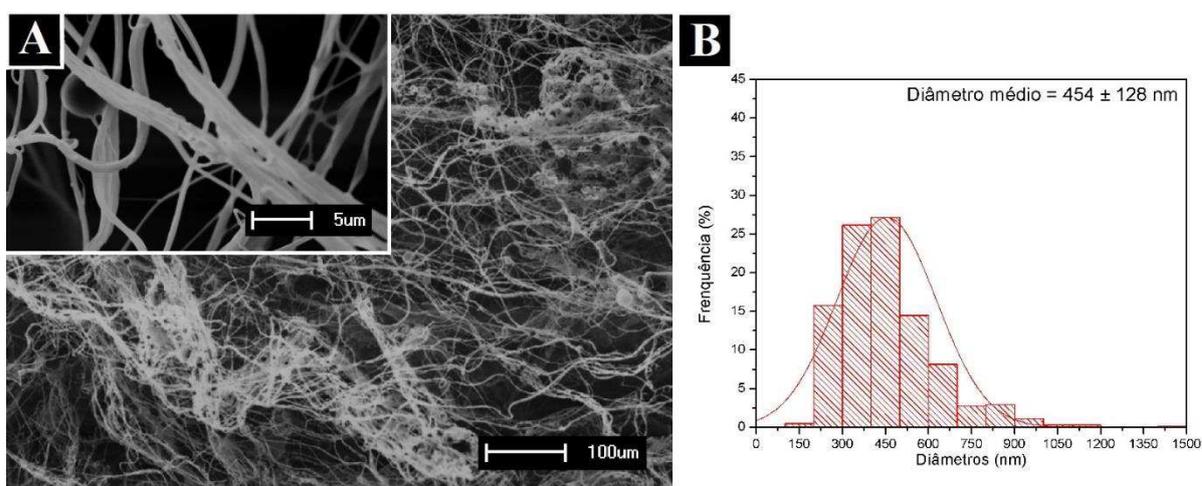


Figura 32 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 50 psi antes da queima.

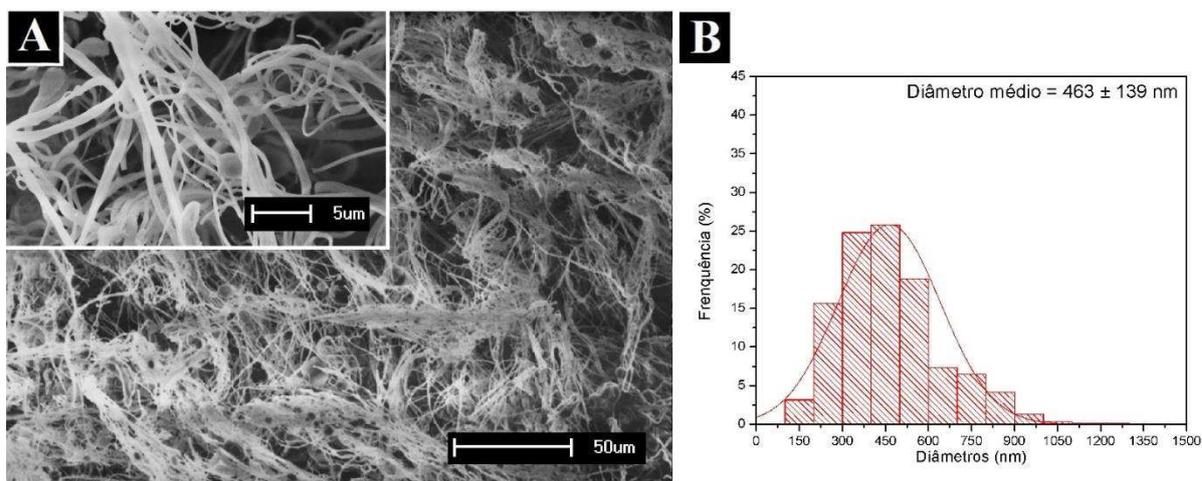


Figura 33 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 50 psi após a queima.

Ainda a respeito da composição 63S com pressão de fiação de 60 psi, as fibras produzidas antes da queima apresentaram diâmetros médios de 314 ± 66 nm com predominância na faixa de 200 a 400 nm (Figura 34B) e as fibras produzidas após queima resultaram em diâmetros na ordem de 335 ± 89 nm com predominância na faixa de 200 a 400 nm (Figura 35B). Para essa amostra é possível observar fibras mais uniformes e alongadas, bem como uma diminuição das quantidades de estruturas não fibrosas antes e após a queima. Esse fato também foi observado para as fibras 58S, mostrando que essa pressão de 60 psi é capaz de proporcionar um alongamento fibrilar, bem como, uma uniformidade maior dos diâmetros quando comparado as outras pressões observadas nesse trabalho.

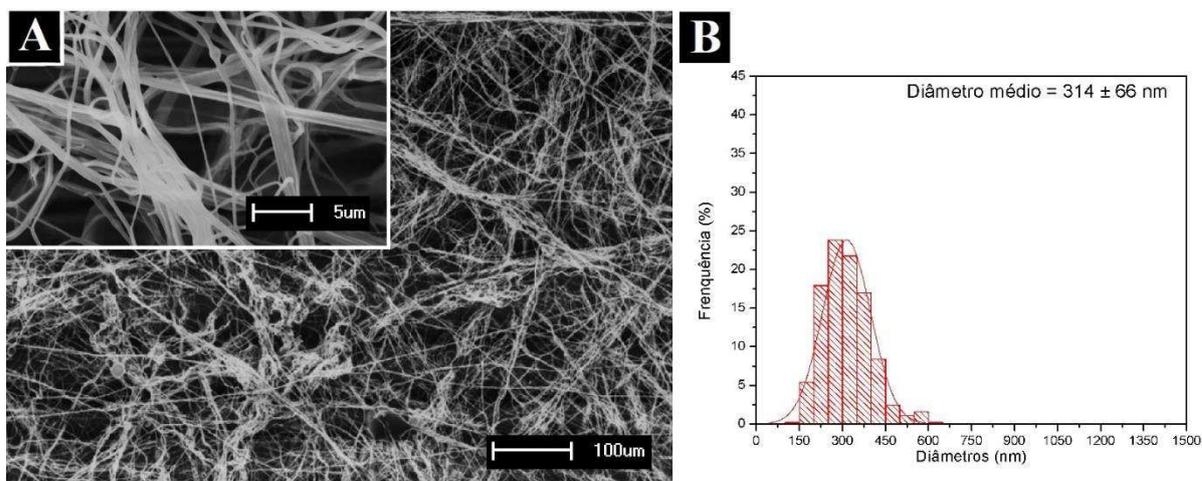


Figura 34 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S com produzidas com pressão de fiação de 60 psi antes da queima.

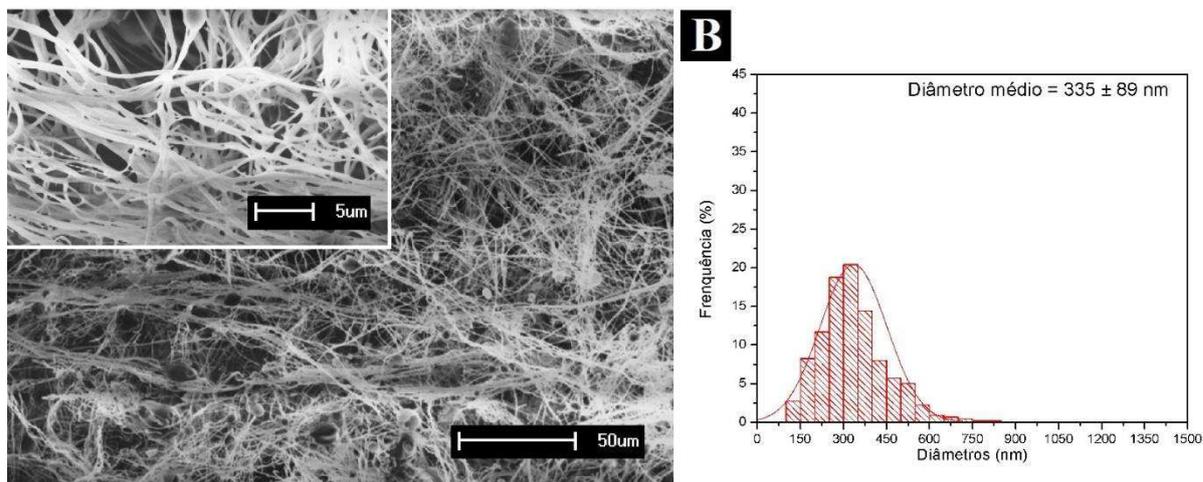


Figura 35 - (A) Análise de MEV e (B) histograma dos diâmetros das fibras 63S produzidas com pressão de fiação de 60 psi após a queima.

A Figura 36 resume os diâmetros fibrilares para as fibras produzidas na composição 58S e 63S, antes e após a queima. Em análise dos diâmetros fibrilares, observa-se que tanto para a composição de 58S quanto para 63S, todos os diâmetros após a queima resultaram em valores maiores do que os diâmetros antes da queima. Esse fato está possivelmente relacionado com a característica higroscópica do PVA, em dependência do seu grau de hidrólise e de sua massa molar (AGUIAR; GOMES; RAMOS FILHO, 2014), fazendo com que as fibras produzidas fiquem com um aspecto molhado, de forma a colar umas nas outras. Durante a queima, as fibras coladas tornam-se uma só, e como consequência tem-se um aumento do diâmetro fibrilar. Observa-se também que com o aumento da pressão de fiação tem-se uma redução no diâmetro fibrilar tanto para as fibras antes da queima quanto para as fibras pós queima. Porém, observa-se que essa redução se torna mais significativa quando se compara as pressões de 40 e 60 psi. As fibras 58S apresentaram uma redução de aproximadamente 12,5% enquanto que as fibras 63S apresentaram cerca de 25% de redução do diâmetro fibrilar. Além disso, as fibras referentes a composição 63S, em todas as pressões, apresentaram diâmetros médios superiores as fibras 58S, e esse detalhe decorre do fato de que o PVA com elevado grau de hidrólise possui um grande número de grupos hidroxilas. Por meio desses grupos é esperado que ocorram fortes interações entre a hidroxila da cadeia do PVA e o grupo silanol que foi gerado no processo sol-gel (AGUIAR; GOMES; RAMOS FILHO, 2014). Essas interações promovem um aumento na viscosidade da solução, sendo este um dos fatores de

fundamental importância no aumento do diâmetro fibrilar por SBS (MEDEIROS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013a; SANTOS et al., 2016c).

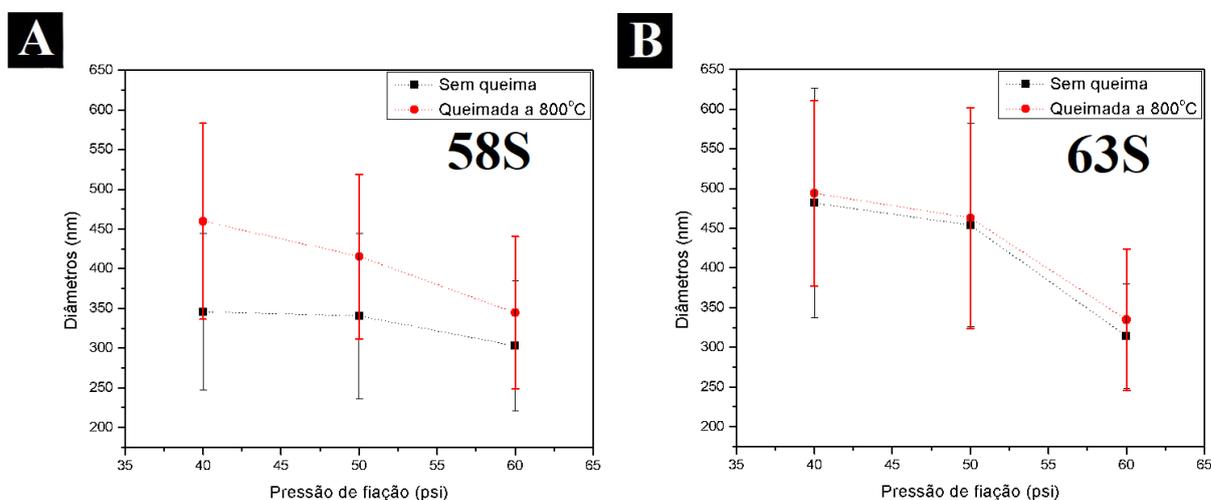


Figura 36 - Gráfico dos diâmetros fibrilares médios das fibras de composição 58S (A) e 63S (B).

A bioatividade das fibras calcinadas foi investigada *in vitro* em um fluido corporal simulado (SBF). Quando imerso em uma solução aquosa de fosfato, como o fluido corporal, os vidros bioativos se convertem em um material amorfo de fosfato de cálcio ou hidroxiapatita (HA), responsável por sua forte ligação com o tecido circundante (GERHARDT; BOCCACCINI, 2010; HENCH, 2011)

As Figuras 37 e 38 mostram as micrografias MEV das fibras 58S e 63S, respectivamente, após o tratamento em SBF durante 12h (0,5dias) e 168h (7dias). É possível observar através das imagens a formação de uma morfologia “couve-flor”, típica da hidroxiapatita formada a partir da conversão de vidros bioativos a base de silicato em uma solução aquosa de fosfato ou SBF (HENCH, 2006; POH et al., 2016).

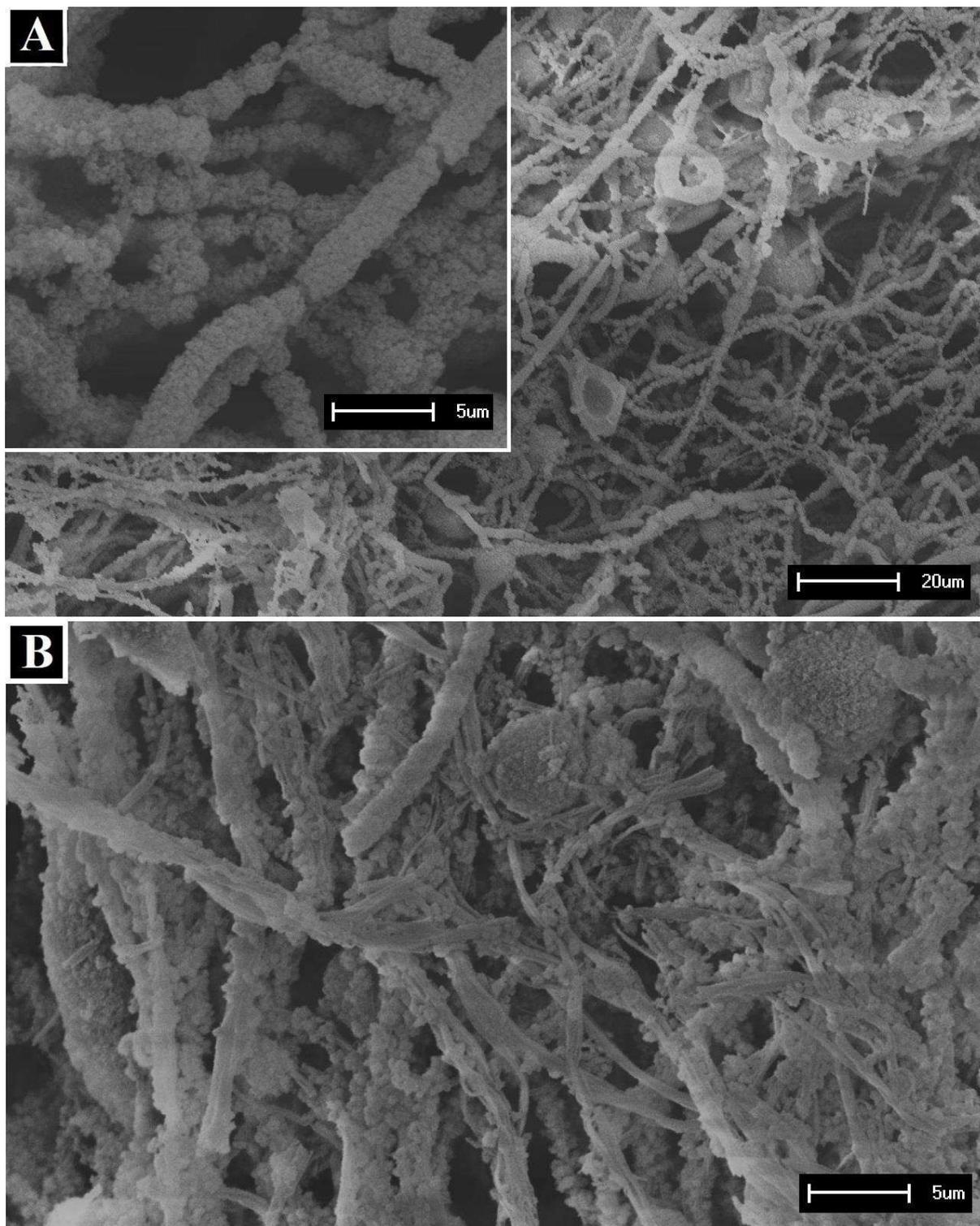


Figura 37 - Imagens da formação da hidroxiapatita na superfície das fibras 58S com (A) 12 h de imersão e (B) 168 h de imersão no SBF.

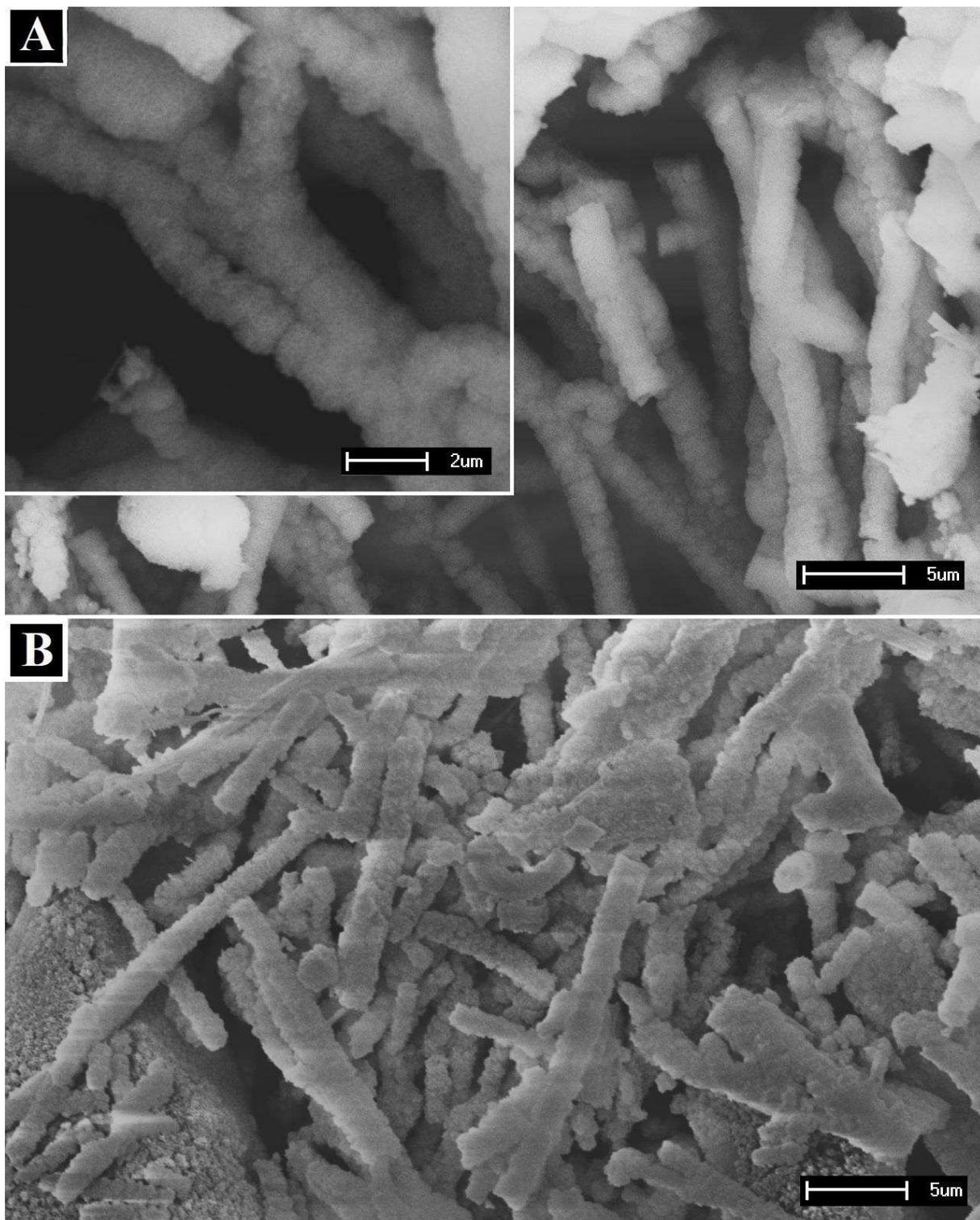


Figura 38 - Imagens da formação da hidroxiapatita na superfície das fibras 63S com (A) 12 h de imersão e (B) 168 h de imersão no SBF.

A Espectroscopia por FTIR das fibras tratadas com SBF (Figura 39) apresentou ressonâncias na faixa de $1000-1100\text{ cm}^{-1}$ e a 570 cm^{-1} correspondendo a um fosfato de cálcio. Os dois picos de flexão P-O a 560 e 604 cm^{-1} são os principais picos para

caracterizar a formação de HA (CLUPPER et al., 2004). A análise desses gráficos revela a presença de uma camada de Ca-P cristalina, indicada pela vibração P-O dividida entre 500 e 600 cm^{-1} . Embora as micrografias MEV (não mostradas) revelem traços de HA já para 2h de imersão em ambas as composições, detecta-se através dos FTIR os picos de vibração referente a formação da HA com apenas 2h para as fibras com composição 63S e com 12h para as 58S. Além disso, a ressonância a 800 cm^{-1} atribuída ao grupo de Si-O-Si tetragonal está presente no espectro para as fibras imersas durante todos os tempos, revelando a polimerização de grupos silanol.

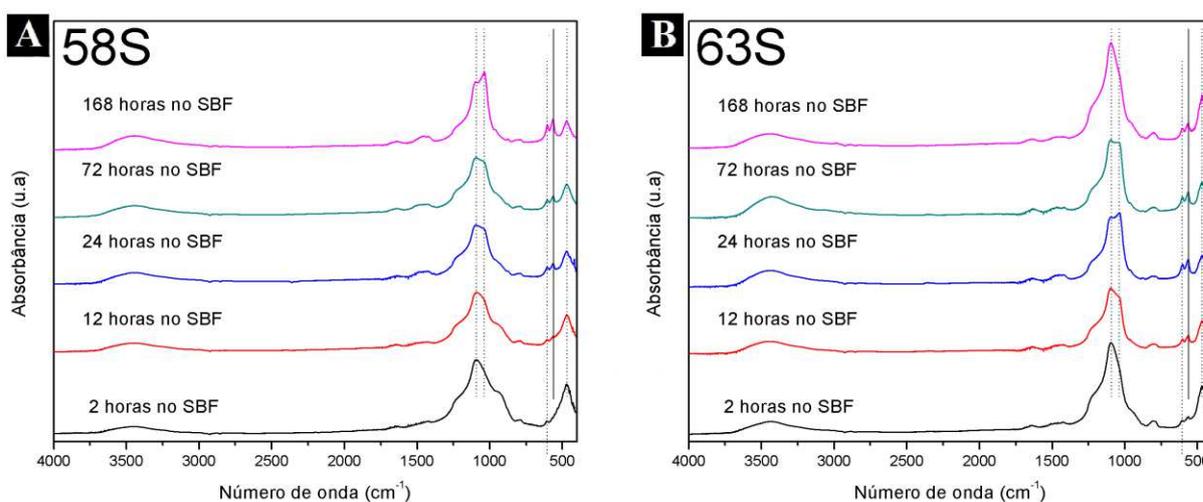


Figura 39 - FTIR das fibras (A) 58S e (B) 63S para todos os tempos de imersão.

Os padrões de DRX foram utilizados para identificar a HA cristalina sobre a superfície das fibras, indicada anteriormente pelos FTIR. A Figura 40 mostra o gráfico de DRX para as fibras 63S e 58S antes da imersão e para um tempo de imersão de 168h (7dias). O pico marcado mais intenso corresponde ao plano (211) do HA (JCPDS- 01-1008), localizado em um valor 2θ de $31,8^\circ$

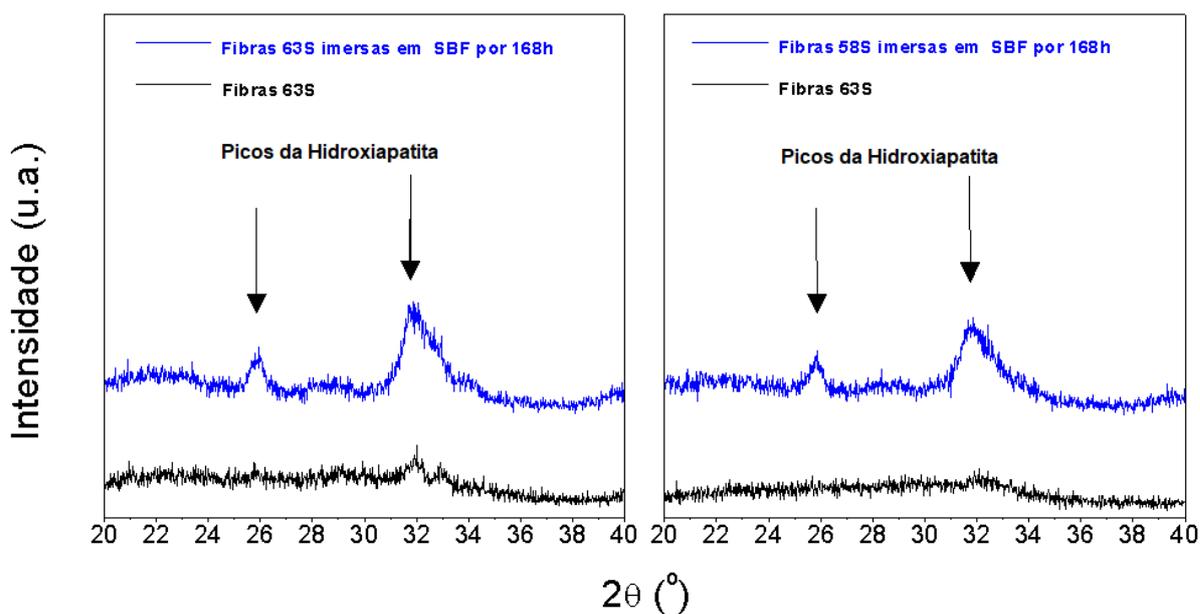


Figura 40 - Padrões de DRX das fibras (A) 58S e (B) 63S antes e depois da imersão para o tempo de 168 h.

4.2 Scaffolds nanoestruturados

Os *scaffolds* produzidos na forma de manta fibrosa, foram coletados na superfície do coletor para a amostra 63S (Figura 41A). A turbulência gerada pelo coletor em sua volta, resultou numa formação fibrilar com morfologia de chumaço (Figura 41B). A Figura 41C mostra a manta fibrosa obtida antes da queima. O material obtido após a queima (Figura 41D), aparentemente pareceu manter a estrutura anterior.

As imagens obtidas por MEV das fibras 45S5, 58S e 63S são mostradas na Figura 42. É possível observar seu alinhamento, quando em comparação com as imagens já mostradas para essas fibras coletadas na gaiola de fiação, comprovando que os *scaffolds* obtidos no coletor na forma de manta fibrosa possui uma estrutura nanofibrilar alinhadas. Essas estruturas nanofibrilares alinhadas são essenciais pra aplicações regenerativas para os tecidos neurais (SEIDLITS; LEE; SCHMIDT, 2008).

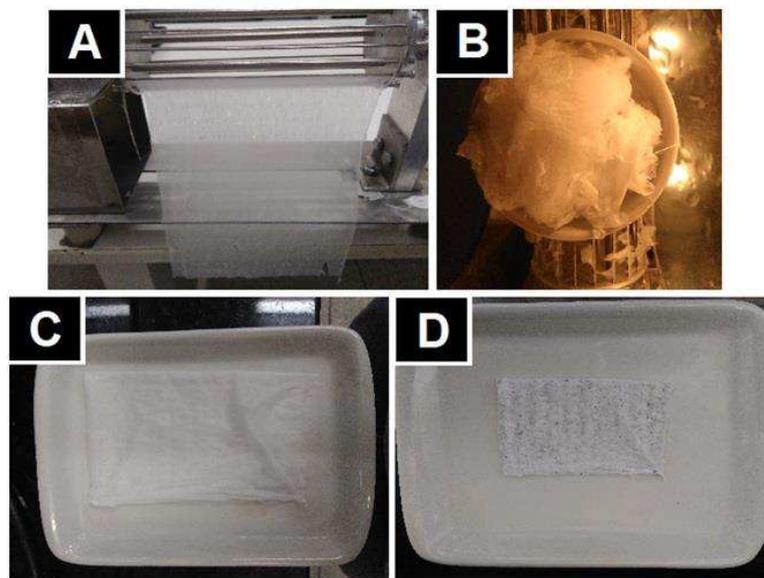


Figura 41 - (A) Mantas fibrosas produzidas com o auxílio do coletor rotatório, (B) fibras com aparência de algodão coletadas em volta do coletor, (C) manta fibrosa antes da queima, (D) manta fibrosa obtida depois da queima a 700oC.

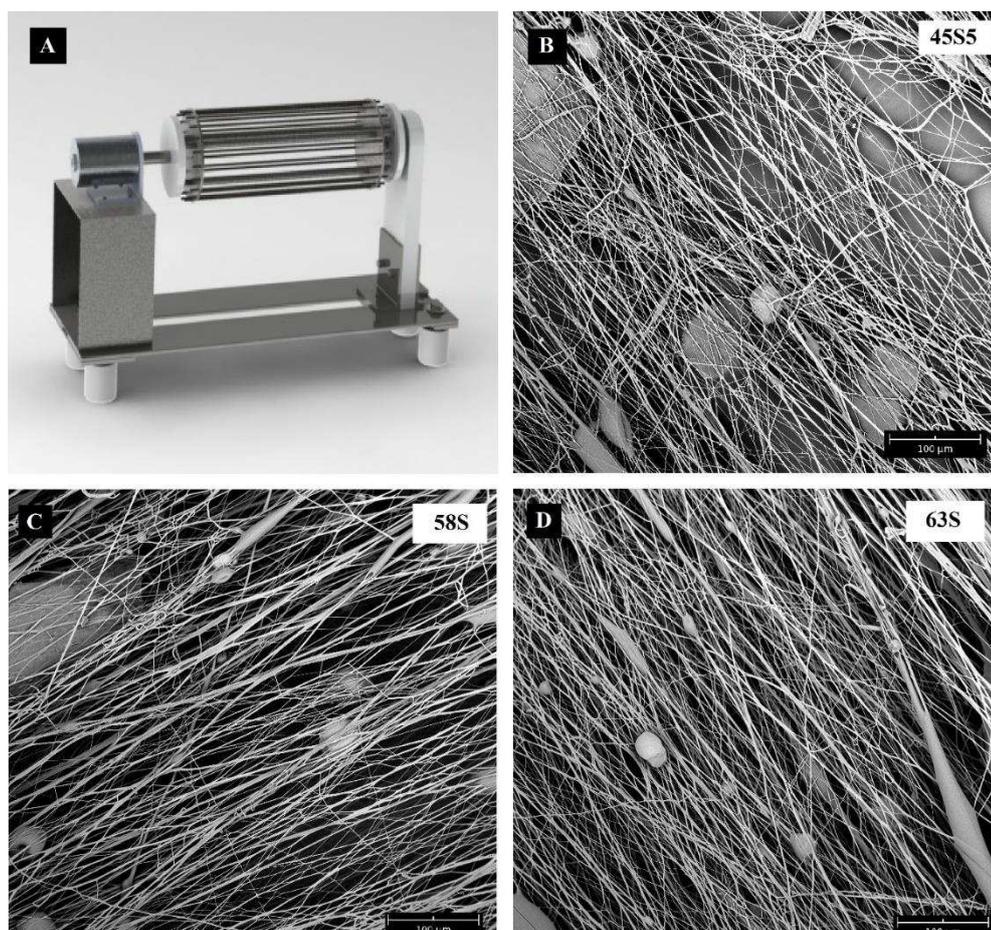


Figura 42 - (A) Ilustração do coletor rotatório e imagens de MEV evidenciando o caráter de alinhamento das amostras (B) 45S5 , (C) 58S e (D) 63S.

A Figura 43 mostra a imagem do *scaffold* 63S obtido na gaiola de fiação seguido da prensagem no molde maior (descrito na metodologia) antes da queima, e na Figura 42B observa-se os *scaffolds* queimados na forma similar a algodão, na forma cilíndrica produzida com o molde maior e produzida como molde menor, sequencialmente. Aparentemente, através das imagens, nota-se que a estrutura macroscópica foi mantida. Entretanto, tem-se uma retração de cerca de 20% no diâmetro cilíndrico dos *scaffolds*, fato esse, já esperado devido a decomposição da matéria orgânica durante a queima.

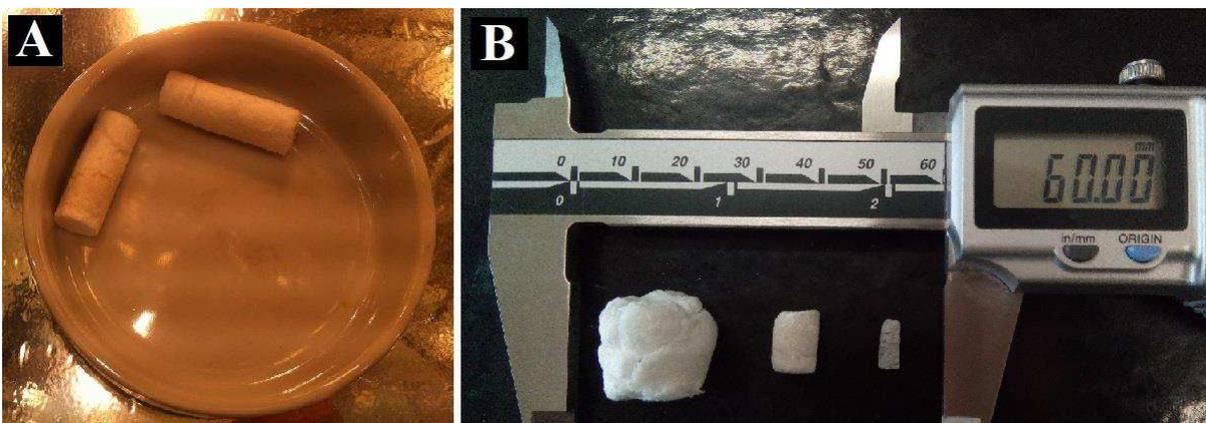


Figura 43 - - (A) Scaffold com composição 63S obtido a partir da prensagem no molde maior antes da queima, (B) imagen dos scaffolds na morfologia de algodão, na forma cilíndrica produzida com o molde maior e produzida como molde menor, sequencialmente.

A Figura 44 mostra as micrografias por MEV obtidas dos *scaffolds* 63S produzidos no formato semelhante ao algodão (Figura 44A) e dos *scaffolds* produzidos pela prensagem no molde maior (Figura 44B). Observa-se que a estrutura fibrilar foi mantida e a prensagem e conformação no molde para obtenção do formato cilíndrico não comprometeu a estrutura fibrilar. Além disso, não houve diferença entre a ação dos pesos dos apoios dos dois moldes, visto que as pressões exercidas pelos dois pesos de apoio dos dois moldes nas amostras são similares.

Em 2014, Poologasundarampillai et al. produziram as primeiras formas bioativas tridimensionais (3D) para regeneração de tecido ósseo com uma estrutura semelhante ao algodão-lã, chumaço. Da mesma forma, que a estrutura apresentada nesse trabalho, estes *scaffolds* propostos por estes autores se tratavam de estruturas fibrosas, amorfas e flexíveis, ideal para o englobamento de defeitos complexos. Além disso, segundo os autores, ainda apresentam grandes espaços inter-fibrilares para promover a vascularização, penetração de células e transporte de nutrientes em todo

o *scaffold*. Sendo assim, os *scaffolds* aqui propostos se assemelham aos obtidos por Poologasundarampillai, tornando o processo de fabricação de fibras e prensagem viável para a fabricação de *scaffolds* nesse formato e em diâmetros desejados controlados apenas pela abertura do orifício do molde.

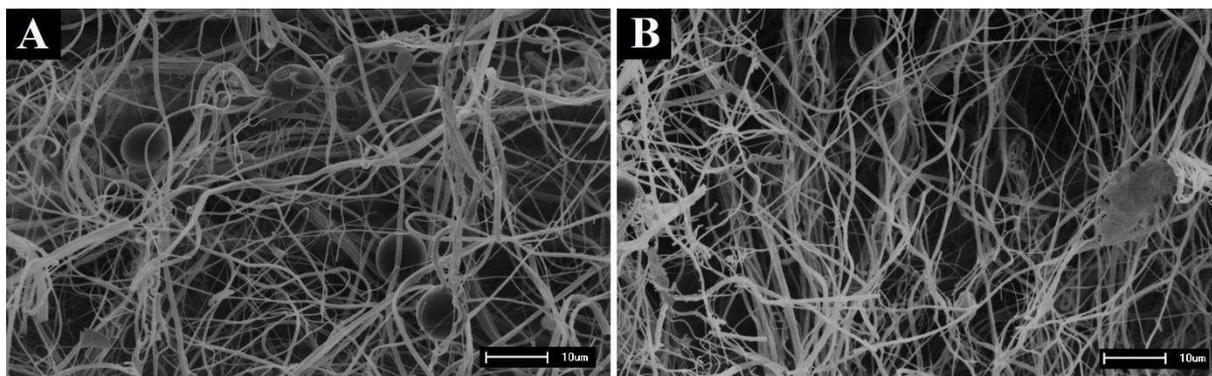


Figura 44 - Micrografias obtidas por MEV evidenciando a estrutura do scaffold 63S produzidos segundo a (A) forma de algodão e segundo o (B) formato cilíndrico.

5 CONCLUSÕES

PÓS

- O presente trabalho permitiu um estudo sobre os parâmetros do sol-gel no que diz respeito a fabricação de pós segundo a composição 45S5, bem como a produção de fibras e scaffolds fibrosos a partir do sol gel usando a técnica de fiação por sopro em solução segundo a composição 58S e 63S.
- As amostras dos pós produzidas com HCl apresentaram aspecto transparente, enquanto as amostras produzidas com ácido cítrico e com EDTA se mostraram opacas.
- As queimas dessas amostras resultaram em materiais cristalinos com predominância da fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ para temperaturas superiores a 700 °C.
- Foi observado também que o EDTA e o ácido cítrico tem forte poder quelador, desde que uma queima a 400 °C revelou através dos padrões de DRX que boa parte do NaNO_3 se transformou em $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$, quando em comparação com as outras amostras.
- Com relação ao n, observa-se que para n maiores, ou seja, maior quantidade de água em relação a quantidade de TEOS, tem-se uma maior quantidade de NaNO_3 nas amostras produzidas com HCl.

FIBRAS

- No que diz respeito a formação de fibras, a técnica de fiação por sopro em solução se mostrou excelente para a produção de nano fibras segundo as composições 45S5, 58S e 63S. Para a composição 45S5 as queimas dessa amostra resultaram em materiais cristalinos com predominância da fase $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ para temperaturas superiores a 700 °C.
- Entretanto as amostras obtidas para a composição do 45S5 se mostraram muito frágeis e quebradiças, impossibilitando o manuseio para a avaliação da bioatividade.
- As amostras 58S e 63S apresentaram certa flexibilidade, o que proporcionou ótimo manuseio para a adequação em *scaffolds*. As fibras obtidas segundo a composição 63S apresentaram diâmetros superiores as 58S.

- Os FTIR mostraram os padrões de vibração das ligações típicas para Hidroxiapatita e o DRX confirmou o padrão cristalino da hidroxiapatita. Para a amostra das fibras 58S foi possível identificar a deposição da hidroxiapatita em 12h de imersão. Já para o 63S foi possível com apenas 2h de imersão.

SCAFFOLDS

- A produção de scaffolds na forma de mantas fibrosa alinhadas, na forma de cilindros e na forma de morfologia de algodão foi realizada com êxito. As micrografias por MEV mostraram o padrão alinhado das nano fibras para as 3 composições em questão. Também foi possível observar que a prensagem não danificou a formação fibrilar, tornando os *scaffolds* obtidos, candidatos para próximos testes com relação ao uso na engenharia de tecidos ósseos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem pelo auxílio financeiro fornecido pela CAPES e pelo CNPq, e a empresa KURARAY pelo fornecimento dos polímeros.

REFERÊNCIAS

- ABOUDZADEH, N. et al. Fabrication and characterization of poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanocomposite scaffolds for bone tissue regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 94A, n. 1, p. 137–145, jul. 2010.
- AGARWAL, S.; GREINER, A.; WENDORFF, J. H. Functional materials by electrospinning of polymers. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 6, p. 963–991, 2013.
- AGUIAR, L. C. V. DE; GOMES, A. DE S.; RAMOS FILHO, F. G. DE. Membranas de PVA e sílica para aplicação em célula a combustível de alimentação direta de álcool. **Polímeros**, v. 24, n. 6, p. 689–693, dez. 2014.
- ARTAKI, I.; ZERDA, T. W.; JONAS, J. Solvent effects on the condensation stage of the sol-gel process. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 81, n. 3, p. 381–395, 1986.
- BAINO, F. et al. Bioactive glasses: Special applications outside the skeletal system. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, p. 15–30, jan. 2016.
- BAJAJ, P. et al. 3D Biofabrication Strategies for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 16, n. 1, p. 247–276, 11 jul. 2014.
- BALAMURUGAN, A. et al. An in vitro biological and anti-bacterial study on a sol-gel derived silver-incorporated bioglass system. **Dental Materials**, v. 24, n. 10, p. 1343–1351, out. 2008.
- BECKHAM, C. A.; GREENLEE, T. K.; CREBO, A. R. Bone formation at a ceramic implant interface. **Calcified Tissue Research**, v. 8, n. 1, p. 165–171, 1971.
- BOSE, S.; ROY, M.; BANDYOPADHYAY, A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. **Trends in Biotechnology**, v. 30, n. 10, p. 546–554, 2012.
- CARTA, D. et al. Sol-gel synthesis of the P₂O₅-CaO-Na₂O-SiO₂ system as a novel bioresorbable glass. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 21, p. 2134, 2005.
- CHEN, Q.-Z. et al. A new sol-gel process for producing Na₂O-containing bioactive glass ceramics. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 10, p. 4143–4153, out. 2010.
- CHEN, Q. Z. et al. Surface functionalization of Bioglass®-derived porous scaffolds.

Acta Biomaterialia, v. 3, n. 4, p. 551–562, 2007.

CHEN, Q. Z. Foaming technology of tissue engineering scaffolds - a review. **Bubble Science, Engineering & Technology**, v. 3, n. 2, p. 34–47, nov. 2011.

CHEN, Q. Z.; THOMPSON, I. D.; BOCCACCINI, A. R. 45S5 Bioglass®-derived glass–ceramic scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 11, p. 2414–2425, abr. 2006.

CHENG, B. et al. Fabrication of ZrO₂ ceramic fiber mats by solution blowing process. p. 2–7, 2014.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of biomaterials. **Journal of Biological Engineering**, v. 9, n. 1, p. 4, 1 dez. 2015.

CLUPPER, D. C. et al. Bioactive evaluation of 45S5 bioactive glass fibres and preliminary study of human osteoblast attachment. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, n. 7, p. 803–808, jul. 2004.

CONOSCENTI, G. et al. PLLA scaffolds produced by thermally induced phase separation (TIPS) allow human chondrocyte growth and extracellular matrix formation dependent on pore size. **Materials Science and Engineering: C**, v. 80, p. 449–459, nov. 2017.

CUI, Q. et al. Direct fabrication of cerium oxide hollow nanofibers by electrospinning. **Journal of Rare Earths**, v. 26, n. 5, p. 664–669, out. 2008.

DA COSTA FARIAS, R. M. et al. Production of submicrometric fibers of mullite by solution blow spinning (SBS). **Materials Letters**, mar. 2015.

DAY, R. M. et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**, v. 25, n. 27, p. 5857–5866, 2004.

DELIORMANLI, A. M. Preparation and in vitro characterization of electrospun 45S5 bioactive glass nanofibers. **Ceramics International**, v. 41, n. 1, p. 417–425, jan. 2015a.

DELIORMANLI, A. M. Preparation, in vitro mineralization and osteoblast cell response of electrospun 13–93 bioactive glass nanofibers. **Materials Science and Engineering: C**, v. 53, p. 262–271, ago. 2015b.

DELIORMANLI, A. M. et al. In vivo evaluation of cerium, gallium and vanadium-doped

borate-based bioactive glass scaffolds using rat subcutaneous implantation model. **Ceramics International**, v. 42, n. 10, p. 11574–11583, ago. 2016.

FILGUEIRAS, M. R.; LA TORRE, G.; HENCH, L. L. Solution effects on the surface reactions of a bioactive glass. **Journal of biomedical materials research**, v. 27, n. 4, p. 445–453, 1993.

GAO, G. et al. Inkjet-bioprinted acrylated peptides and PEG hydrogel with human mesenchymal stem cells promote robust bone and cartilage formation with minimal printhead clogging. **Biotechnology Journal**, v. 10, n. 10, p. 1568–1577, out. 2015.

GATTAZZO, F.; URCIUOLO, A.; BONALDO, P. Extracellular matrix: A dynamic microenvironment for stem cell niche. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1840, n. 8, p. 2506–2519, ago. 2014.

GERHARDT, L.-C.; BOCCACCINI, A. R. Bioactive Glass and Glass-Ceramic Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Materials**, v. 3, n. 7, p. 3867–3910, 2010.

GREENLEE, T. K. et al. Glass ceramic bone implants. **Journal of biomedical materials research**, v. 6, n. 3, p. 235–44, 1972.

HENCH, L. L. et al. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 5, n. 6, p. 117–141, nov. 1971.

HENCH, L. L. Bioceramics: From Concept to Clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487–1510, 1991.

HENCH, L. L. Sol-gel materials for bioceramic applications. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 2, n. 5, p. 604–610, out. 1997.

HENCH, L. L. Bioceramics. **Stress The International Journal on the Biology of Stress**, v. 28, p. 1705–1728, 1998.

HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967–978, 22 nov. 2006.

HENCH, L. L. Glass and Glass-Ceramic Technologies to Transform the World. **International Journal of Applied Glass Science**, v. 2, n. 3, p. 162–176, 2011.

HENCH, L. L. Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications. **New Journal of Glass and Ceramics**, v. 3, n. 2, p. 67–73, 2013.

HOLLISTER, S. J. Porous scaffold design for tissue engineering. **Nature Materials**, v. 4, n. 7, p. 518–524, jul. 2005.

HSU, F.-Y. et al. Hierarchically biomimetic scaffold of a collagen–mesoporous bioactive glass nanofiber composite for bone tissue engineering. **Biomedical Materials**, v. 10, n. 2, p. 25007, 25 mar. 2015.

HU, X. et al. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. **Journal of Controlled Release**, v. 185, p. 12–21, 2014.

HUANG, R. et al. A two-scale model for simultaneous sintering and crystallization of glass–ceramic scaffolds for tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 4, p. 1095–1103, jul. 2008.

JIANG, L. et al. Fabrication of polycaprolactone electrospun fibers with different hierarchical structures mimicking collagen fibrils for tissue engineering scaffolds. **Applied Surface Science**, v. 427, p. 311–325, 2018.

JIANG, T. et al. Electrospinning of polymer nanofibers for tissue regeneration. **Progress in Polymer Science**, v. 1553, p. 1–24, 2014.

JONES, J. R. Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 1, p. 4457–4486, jan. 2013.

JURCZYK, K. et al. Titanium–10wt% 45S5 Bioglass nanocomposite for biomedical applications. **Materials Chemistry and Physics**, v. 131, n. 1–2, p. 540–546, dez. 2011.

KAKIHANA, M. Invited review?sol-gel? preparation of high temperature superconducting oxides. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 7–55, 1996.

KAYA, S.; CRESSWELL, M.; BOCCACCINI, A. R. Mesoporous silica-based bioactive glasses for antibiotic-free antibacterial applications. **Materials Science and Engineering: C**, v. 83, n. November 2017, p. 99–107, fev. 2018.

KESHAW, H.; FORBES, A.; DAY, R. M. Release of angiogenic growth factors from cells encapsulated in alginate beads with bioactive glass. **Biomaterials**, v. 26, n. 19, p. 4171–4179, 2005.

KIM, H.-W.; KIM, H.-E.; KNOWLES, J. C. Production and Potential of Bioactive Glass

Nanofibers as a Next-Generation Biomaterial. **Advanced Functional Materials**, v. 16, n. 12, p. 1529–1535, 4 ago. 2006.

KIM, H.-W.; KIM, H.-E.; SALIH, V. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin–hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**, v. 26, n. 25, p. 5221–5230, set. 2005.

KIM, T. G.; CHUNG, H. J.; PARK, T. G. Macroporous and nanofibrous hyaluronic acid / collagen hybrid scaffold fabricated by concurrent electrospinning and deposition / leaching of salt particles. v. 4, p. 1611–1619, 2008.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity ? v. 27, p. 2907–2915, 2006.

KRISHNAN, V.; LAKSHMI, T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 4, n. 2, p. 78–83, 2013a.

KRISHNAN, V.; LAKSHMI, T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 4, n. 2, p. 78, 2013b.

LACZKA, M. et al. Gel-derived materials of a CaO-P₂O₅-SiO₂ system modified by boron, sodium, magnesium, aluminum, and fluorine compounds. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 52, n. 4, p. 601–612, 15 dez. 2000.

LAO, J.; JALLOT, E.; NEDELEC, J.-M. Strontium-Delivering Glasses with Enhanced Bioactivity: A New Biomaterial for Antiosteoporotic Applications? **Chemistry of Materials**, v. 20, n. 15, p. 4969–4973, ago. 2008.

LÁZARO, G. S. et al. Individual and combined effects of the elements Zn, Mg and Sr on the surface reactivity of a SiO₂·CaO·Na₂O·P₂O₅ bioglass system. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 386, p. 19–28, fev. 2014.

LEE, J. W. et al. 3D scaffold fabrication with PPF/DEF using micro-stereolithography. **Microelectronic Engineering**, v. 84, n. 5–8, p. 1702–1705, maio 2007a.

LEE, K.-W. et al. Poly(propylene fumarate) Bone Tissue Engineering Scaffold Fabrication Using Stereolithography: Effects of Resin Formulations and Laser Parameters. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 4, p. 1077–1084, abr. 2007b.

LEE, S. et al. Dissolution behavior and cell compatibility of alkali-free MgO-CaO-SrO-TiO₂-P₂O₅ glasses for biomedical applications. **Biomedical glasses**, v. 1, n. 1, p.

151–158, 18 jan. 2015.

LEFEBVRE, L. et al. Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. **Acta Materialia**, v. 55, n. 10, p. 3305–3313, 2007.

LEFEBVRE, L. et al. Sintering behaviour of 45S5 bioactive glass. **Acta Biomaterialia**, v. 4, n. 6, p. 1894–1903, 2008.

LI, L. et al. Preparation of flexible ultra-fine Al₂O₃ fiber mats via the solution blowing method. **Ceramics International**, v. 41, n. 1, p. 409–415, jan. 2015.

LI, R.; CLARK, A. E.; HENCH, L. L. An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. **Journal of Applied Biomaterials**, v. 2, n. 4, p. 231–239, jan. 1991.

LI, Z. et al. Chitosan–alginate hybrid scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3919–3928, jun. 2005.

LIN, C.-C.; HUANG, L.-C.; SHEN, P. Na₂CaSi₂O₆–P₂O₅ based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 351, n. 40–42, p. 3195–3203, out. 2005.

LIN, S. et al. Nanostructure evolution and calcium distribution in sol–gel derived bioactive glass. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, n. 9, p. 1276, 2009.

LIU, X.; RAHAMAN, M. N.; DAY, D. E. Conversion of melt-derived microfibrillar borate (13-93B3) and silicate (45S5) bioactive glass in a simulated body fluid. p. 583–595, 2013.

LIU, Y.; LIM, J.; TEOH, S. H. Review: Development of clinically relevant scaffolds for vascularised bone tissue engineering. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 5, p. 688–705, 2013.

LIVERANI, L. et al. Incorporation of bioactive glass nanoparticles in electrospun PCL/chitosan fibers by using benign solvents. **Bioactive Materials**, p. 1–9, 2017.

LOBEL, K. D.; HENCH, L. L. In vitro adsorption and activity of enzymes on reaction layers of bioactive glass substrates. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 39, n. 4, p. 575–579, 1998.

MANZANO, M. et al. Bioactive Star Gels. **Chemistry of Materials**, v. 18, n. 24, p. 5696–5703, nov. 2006.

MAQUET, V. et al. Preparation of macroporous biodegradable poly(L-lactide- co-e-

caprolactone) foams and characterization by mercury intrusion porosimetry, image analysis, and impedance spectroscopy. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 66A, n. 2, p. 199–213, 1 ago. 2003.

MCALLISTER, B. S.; HAGHIGHAT, K. Bone Augmentation Techniques. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 3, p. 377–396, 2007.

MEDEIROS, E. L. G. et al. Porous Bioactive Nanofibers via Cryogenic Solution Blow Spinning and Their Formation into 3D Macroporous Scaffolds. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 2, n. 9, p. 1442–1449, 12 set. 2016.

MEDEIROS, E. S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 15 ago. 2009.

MESKINFAM, M. et al. Polyurethane foam/nano hydroxyapatite composite as a suitable scaffold for bone tissue regeneration. **Materials Science and Engineering: C**, v. 82, p. 130–140, jan. 2018.

MIKOS, A. G.; TEMENOFF, J. S. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering. **Biotechnology of Human Disorders**, v. 3, n. 2, p. 1–32, 2000.

MOURA, J. et al. In vitro osteogenesis on a highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®). **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 82A, n. 3, p. 545–557, 1 set. 2007.

O'BRIEN, F. J. et al. The effect of pore size on cell adhesion in collagen-GAG scaffolds. **Biomaterials**, v. 26, n. 4, p. 433–441, fev. 2005.

OHGUSHI, H. et al. Osteogenic differentiation of cultured marrow stromal stem cells on the surface of bioactive glass ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 32, n. 3, p. 341–348, 1996.

OLIVEIRA, J. E. et al. Nano and Submicrometric Fibers of Poly(D,L-Lactide) Obtained by Solution Blow Spinning: Process and Solution Variables. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 122, n. 7, p. 3396–3405, 2011.

OLIVEIRA, J. E. et al. Structural and Morphological Characterization of Micro and Nanofibers Produced by Electrospinning and Solution Blow Spinning: A Comparative Study. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2013, p. 1–14, 2013a.

OLIVEIRA, J. E. et al. Development of poly(lactic acid) nanostructured membranes for the controlled delivery of progesterone to livestock animals. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 2, p. 844–849, 2013b.

OLIVEIRA, J. M.; CORREIA, R. N.; FERNANDES, M. H. Effects of Si speciation on the in vitro bioactivity of glasses. **Biomaterials**, v. 23, n. 2, p. 371–379, 2002.

PAWELEC, K. M. et al. Understanding anisotropy and architecture in ice-templated biopolymer scaffolds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 37, n. 1, p. 141–147, abr. 2014.

PEITL, O.; DUTRA ZANOTTO, E.; HENCH, L. L. Highly bioactive P₂O₅–Na₂O–CaO–SiO₂ glass-ceramics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 292, n. 1–3, p. 115–126, nov. 2001.

PELTOLA, S. M. et al. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. **Annals of Medicine**, v. 40, n. 4, p. 268–280, 8 jan. 2008.

PHELPS, E. A.; GARCÍA, A. J. Engineering more than a cell: Vascularization strategies in tissue engineering. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 5, p. 704–709, 2010.

POH, P. S. P. et al. In vitro and in vivo bone formation potential of surface calcium phosphate-coated polycaprolactone and polycaprolactone/bioactive glass composite scaffolds. **Acta Biomaterialia**, v. 30, p. 319–333, 2016.

POOLOGASUNDARAMPILLAI, G. et al. Cotton-wool-like bioactive glasses for bone regeneration. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 8, p. 3733–3746, ago. 2014.

POUXVIEL, J. C. et al. NMR study of the sol/gel polymerization. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 89, n. 3, p. 345–360, mar. 1987.

PRASAD, A.; SANKAR, M. R.; KATIYAR, V. State of Art on Solvent Casting Particulate Leaching Method for Orthopedic Scaffolds Fabrication. **Materials Today: Proceedings**, v. 4, n. 2, p. 898–907, 2017.

QAZI, T. H. et al. Biomaterials based strategies for skeletal muscle tissue engineering: Existing technologies and future trends. **Biomaterials**, v. 53, p. 502–521, jun. 2015.

QUE, R. A. et al. Tuning cellular response by modular design of bioactive domains in collagen. **Biomaterials**, v. 53, p. 309–317, jun. 2015.

RAMAY, H. R.; ZHANG, M. Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods. **Biomaterials**, v. 24, n. 19, p. 3293–3302, 2003.

RÁMILA, A.; BALAS, F.; VALLET-REGÍ, M. Synthesis Routes for Bioactive Sol–Gel Glasses: Alkoxides versus Nitrates. **Chemistry of Materials**, v. 14, n. 2, p. 542–548, fev. 2002.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials science: an introduction to materials in medicine**. . [s.l: s.n.]. v. 56

REZWAN, K. et al. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 27, n. 18, p. 3413–31, jun. 2006.

ROETHER, J. A et al. Novel bioresorbable and bioactive composites based on bioactive glass and polylactide foams for bone tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, n. 12, p. 1207–1214, 2002.

ROSETI, L. et al. Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. **Materials Science and Engineering: C**, v. 78, p. 1246–1262, set. 2017.

SAIZ, E. et al. Perspectives on the role of nanotechnology in bone tissue engineering. **Dental Materials**, v. 29, n. 1, p. 103–115, 2013.

SANTOS, A. M. C. et al. Aqueous solution blow spinning of poly(vinyl alcohol) micro- and nanofibers. **Materials Letters**, v. 176, 2016a.

SANTOS, A. M. C. et al. Aqueous solution blow spinning of poly(vinyl alcohol) micro- and nanofibers. **Materials Letters**, abr. 2016b.

SANTOS, A. M. C. et al. Aqueous solution blow spinning of poly(vinyl alcohol) micro- and nanofibers. **Materials Letters**, v. 176, p. 122–126, ago. 2016c.

SCHLEGEL, K. A. et al. Sinus floor elevation using autogenous bone or bone substitute combined with platelet-rich plasma. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 104, n. 3, p. 15–25, 2007.

SCHUBERT, C.; VAN LANGEVELD, M. C.; DONOSO, L. A. Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs. **British Journal of Ophthalmology**, v. 98, n. 2, p. 159–161, fev. 2014.

SEEHERMAN, H.; WOZNEY, J. M. Delivery of bone morphogenetic proteins for orthopedic tissue regeneration. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 16, n. 3 SPEC. ISS., p. 329–345, 2005.

SEIDLITS, S. K.; LEE, J. Y.; SCHMIDT, C. E. Nanostructured scaffolds for neural applications. **Nanomedicine**, v. 3, n. 2, p. 183–199, abr. 2008.

SEOL, Y.-J. et al. Bioprinting technology and its applications. **European Journal of Cardio-Thoracic Surgery**, v. 46, n. 3, p. 342–348, 1 set. 2014.

SEPULVEDA, P.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. In vitro dissolution of melt-derived 45S5 and sol-gel derived 58S bioactive glasses. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 61, n. 2, p. 301–311, ago. 2002.

SHARIFI, E. et al. Preparation of a biomimetic composite scaffold from gelatin/collagen and bioactive glass fibers for bone tissue engineering. **Materials Science and Engineering: C**, v. 59, p. 533–541, fev. 2016.

SHARP, K. G. Star alkoxy silane molecules, gels and appreciably tough glasses. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 35–36, p. 3812–3820, 2005.

SIMONET, M. et al. Ultraporous 3D Polymer Meshes by Low-Temperature Electrospinning: Use of Ice Crystals as a Removable Void Template. 2007.

SIN, D. et al. Polyurethane (PU) scaffolds prepared by solvent casting/particulate leaching (SCPL) combined with centrifugation. **Materials Science and Engineering: C**, v. 30, n. 1, p. 78–85, jan. 2010.

SIQUEIRA, R. L.; PEITL, O.; ZANOTTO, E. D. Gel-derived SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ bioactive powders: Synthesis and in vitro bioactivity. **Materials Science and Engineering C**, v. 31, n. 5, p. 983–991, 2011.

SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Facile route to obtain a highly bioactive SiO₂-CaO-Na₂O-P₂O₅ crystalline powder. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, n. 8, p. 1791–1799, dez. 2011.

SITTINGER, M.; HUTMACHER, D. W.; RISBUD, M. V. Current strategies for cell delivery in cartilage and bone regeneration. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 15, n. 5, p. 411–418, out. 2004.

SOUZA, M. T. et al. Novel Double-Layered Conduit Containing Highly Bioactive Glass

Fibers for Potential Nerve Guide Application. **International Journal of Applied Glass Science**, v. 7, n. 2, p. 183–194, jun. 2016.

SUBIA, B.; KUNDU, J.; KUNDU, S. C. Biomaterial Scaffold Fabrication Techniques for Potential Tissue Engineering Applications. In: **Tissue Engineering**. [s.l.] InTech, 2010. p. 524.

SULTANA, N.; WANG, M. Fabrication of HA/PHBV composite scaffolds through the emulsion freezing/freeze-drying process and characterisation of the scaffolds. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 19, n. 7, p. 2555–2561, 1 jul. 2008.

SUN, B. et al. Advances in three-dimensional nanofibrous macrostructures via electrospinning. **Progress in Polymer Science**, v. 39, n. 5, p. 862–890, maio 2014.

SUNDARARAGHAVAN, H. G.; METTER, R. B.; BURDICK, J. A. Electrospun Fibrous Scaffolds with Multiscale and Photopatterned Porosity. **Macromolecular Bioscience**, v. 10, n. 3, p. 265–270, 10 mar. 2010.

THAVORNYUTIKARN, B. et al. Bone tissue engineering scaffolding: computer-aided scaffolding techniques. **Progress in Biomaterials**, v. 3, n. 2–4, p. 61–102, 17 dez. 2014.

THOMAS, A. et al. Freeform extrusion fabrication of titanium fiber reinforced 13–93 bioactive glass scaffolds. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 70, p. 43–52, jun. 2017.

TORABI, K.; FARJOOD, E.; HAMEDANI, S. Rapid Prototyping Technologies and their Applications in Prosthodontics, a Review of Literature. **Journal of dentistry (Shiraz, Iran)**, v. 16, n. 1, p. 1–9, mar. 2015.

TURNER, C. W.; FRANKLIN, K. J. Studies of the hydrolysis and condensation of tetraethylorthosilicate by multinuclear (^1H , ^{17}O , ^{29}Si) nmr spectroscopy. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 91, n. 3, p. 402–415, jun. 1987.

TUTAK, W. et al. The support of bone marrow stromal cell differentiation by airbrushed nanofiber scaffolds. **Biomaterials**, v. 34, n. 10, p. 2389–2398, mar. 2013.

VALENTE, E. S.; CUPERSCHMID, E. M.; CAMPOS, T. P. R. DE. Characterization of ceramic seeds with samarium-153 for use in brachytherapy. **Materials Research**, v. 14, n. 1, p. 21–24, 2011.

VALLET-REGÍ, M.; SALINAS, A. J.; ARCOS, D. Tailoring the Structure of Bioactive Glasses: From the Nanoscale to Macroporous Scaffolds. **International Journal of Applied Glass Science**, v. 7, n. 2, p. 195–205, jun. 2016.

WADE, R. J.; BURDICK, J. A. Advances in nanofibrous scaffolds for biomedical applications: From electrospinning to self-assembly. **Nano Today**, 2014.

WANG, K. et al. Creation of macropores in electrospun silk fibroin scaffolds using sacrificial PEO-microparticles to enhance cellular infiltration. p. 1–8, 2013.

WU, B. M. et al. Solid free-form fabrication of drug delivery devices. **Journal of Controlled Release**, v. 40, n. 1–2, p. 77–87, jun. 1996.

XIA, W.; ZHANG, D.; CHANG, J. Fabrication and in vitro biomineralization of bioactive glass (BG) nanofibres. **Nanotechnology**, v. 18, n. 13, p. 135601, 2007.

XIE, K. et al. Preparation and Characterization of Low Temperature Heat-Treated 45S5 Bioactive Glass-Ceramic Analogues. **Biomedical glasses**, v. 1, n. 1, p. 80–92, 7 jan. 2015.

XYNOS, I. D. et al. Bioglass®45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation in vitro: Implications and applications for bone tissue engineering. **Calcified Tissue International**, v. 67, n. 4, p. 321–329, 2000.

YANG, S. et al. The Design of Scaffolds for Use in Tissue Engineering. Part II. Rapid Prototyping Techniques. **Tissue Engineering**, v. 8, n. 1, p. 1–11, fev. 2002.

YAO, Q. et al. Three dimensional electrospun PCL/PLA blend nanofibrous scaffolds with significantly improved stem cells osteogenic differentiation and cranial bone formation. **Biomaterials**, v. 115, p. 115–127, jan. 2017.

YUVARAJ, S. et al. Thermal Decomposition of Metal Nitrates in Air and Hydrogen Environments. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 4, p. 1044–1047, jan. 2003.

ZHAO, J. et al. Fabrication and in vivo osteogenesis of biomimetic poly(propylene carbonate) scaffold with nanofibrous chitosan network in macropores for bone tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 2, p. 517–525, 2012.

ZHONG, S. et al. Fabrication of Large Pores in Electrospun Nanofibrous Scaffolds for

Cellular Infiltration: A Review. v. 18, n. 2, 2012.

ZHUANG, X. et al. Solution blowing of submicron-scale cellulose fibers. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, n. 2, p. 982–987, 2012.