

# A Aplicação do Conhecimento Científico nas Engenharias

**Marcia Regina Werner Schneider Abdala**  
(Organizadora)

 **Atena**  
Editora  
Ano 2019

Marcia Regina Werner Schneider Abdala  
(Organizadora)

# A Aplicação do Conhecimento Científico nas Engenharias

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

A642 A aplicação do conhecimento científico nas engenharias [recurso eletrônico] / Organizadora Marcia Regina Werner Schneider Abdala. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (A Aplicação do Conhecimento Científico nas Engenharias; v. 1)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-244-9

DOI 10.22533/at.ed.449190404

1. Engenharia – Pesquisa – Brasil. 2. Inovação. I. Abdala, Marcia Regina Werner Schneider. II. Série.

CDD 620.0072

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

O conhecimento científico é extremamente importante na vida do ser humano e da sociedade, pois possibilita entender como as coisas funcionam ao invés de apenas aceita-las passivamente. Mediante o conhecimento científico é possível provar muitas coisas, já que busca a veracidade através da comprovação.

Sendo produzido pela investigação científica através de seus procedimentos, surge da necessidade de encontrar soluções para problemas de ordem prática da vida diária e para fornecer explicações sistemáticas que possam ser testadas e criticadas através de provas. Por meio dessa investigação, obtêm-se enunciados, leis, teorias que explicam a ocorrência de fatos e fenômenos associados a um determinado problema, sendo possível assim encontrar soluções ou, até mesmo, construir novas leis e teorias.

Possibilitar o acesso ao conhecimento científico é de suma importância para a evolução da sociedade e do ser humano em si, pois através dele adquirem-se novos pontos de vista, conceitos, técnicas, procedimentos e ferramentas, proporcionando o avanço na construção do saber em uma área do conhecimento.

Na engenharia evidencia-se a relevância do conhecimento científico, pois o seu desenvolvimento está diretamente relacionado com o progresso e disseminação deste conhecimento.

Neste sentido, este E-book, composto por dois volumes, possibilita o acesso as mais recentes pesquisas desenvolvidas na área de Engenharia, demonstrando a importância do conhecimento científico para a transformação social e tecnológica da sociedade.

Boa leitura!

Marcia Regina Werner Schneider Abdala

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
DESENVOLVIMENTO DE ARCABOUÇOS DE PLGA E PLDLA COM POROS INTERCONECTADOS DIRECIONADOS PARA ENSAIOS DE CULTURA DE CÉLULAS ÓSSEAS	
Joelen Osmari Silva Anna Maria Gouvea Melero Juliana Almeida Domingues Adriana Motta de Menezes Moema de Alencar Hausen Daniel Komatsu Vagner Roberto Botaro Eliana Aparecida de Rezende Duek	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4491904041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
ENSAIOS IN VITRO E IN VIVO DE <i>SCAFFOLDS</i> DE PLGA INCORPORADOS COM ÓLEO-RESINA DO GÊNERO COPAIFERA SSP. PARA REPARAÇÃO DE TECIDOS	
Ana Luiza Garcia Massaguer Millás João Vinícios Wirbitzki da Silveira Rodrigo Barbosa de Souza Maria Beatriz Puzzi Edison Bittencourt Ivan Hong Jun Koh	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4491904042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>26</b>
MEMBRANAS MICROFIBROSAS DE POLI (L-ÁCIDO LÁCTICO) (PLLA) PARA REPARO ÓSSEO	
Bárbara Etruri Ciocca	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4491904043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>32</b>
ESTUDO DO POTENCIAL MICROBIOLÓGICO DE NANOCRISTAIS HÍBRIDOS DE ZnO DOPADOS COM AgO	
Ellen Quirino de Sousa Lucas do Nascimento Tavares Caio César Dias Resende Lorraine Braga Ferreira Carlos José Soares Anielle Christine Almeida Silva Luís Ricardo Goulart Filho Letícia de Souza Castro Filice	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4491904044</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>42</b>
PROCESSAMENTO DE LIGAS Mg-Zn-Ca PARA USO EM IMPLANTES CIRÚRGICOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE METALURGIA DO PÓ	
Jorge Alberto de Medeiros Carvalho José Adilson Castro Alexandre Antunes Ribeiro	
<b>DOI 10.22533/at.ed.4491904045</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 54**

“VIABILIDADE DO USO DE CASCAS DE OVOS NA SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA UTILIZANDO O MÉTODO SOL-GEL

Marilza Sampaio Aguilar  
José Brant de Campos  
Marcelo Vitor Ferreira Machado  
Francisco José Moura  
Suzana Bottega Peripolli  
Vitor Santos Ramos  
Adilson Claudio Quizunda  
Marla Karolyne dos Santos Horta

**DOI 10.22533/at.ed.4491904046**

**CAPÍTULO 7 ..... 63**

ESTUDO DA VELOCIDADE DE ADIÇÃO DOS REAGENTES NA SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA PELO MÉTODO SOL-GEL UTILIZANDO CASCAS DE OVOS DE GALINHA COMO PRECURSORES

Marilza Sampaio Aguilar  
José Brant de Campos  
Marcelo Vitor Ferreira Machado  
Francisco José Moura  
Suzana Bottega Peripolli  
Vitor Santos Ramos  
Adilson Claudio Quizunda  
Marla Karolyne dos Santos Horta

**DOI 10.22533/at.ed.4491904047**

**CAPÍTULO 8 ..... 70**

MEDIDAS DE MICRODUREZA VICKERS EM HIDROXIAPATITA SINTETIZADA PELO MÉTODO SOL-GEL UTILIZANDO A CASCA DO OVO DE GALINHA COMO PRECURSOR

Marilza Sampaio Aguilar  
José Brant de Campos  
Marcelo Vitor Ferreira Machado  
Francisco José Moura  
Suzana Bottega Peripolli  
Vitor Santos Ramos  
Adilson Claudio Quizunda  
Marla Karolyne dos Santos Horta

**DOI 10.22533/at.ed.4491904048**

**CAPÍTULO 9 ..... 86**

ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DE CORROSÃO DE ARMADURAS DE CONCRETO ARMADO SUBMETIDAS ÀS AÇÕES DE CLORETOS E DE CARBONATAÇÃO

Wanessa Souza de Lima  
Marcelo Lima Silva  
Fuad Carlos Zarzar Júnior  
Romilde Almeida de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.4491904049**

**CAPÍTULO 10 ..... 105**

ANÁLISE DA CORROSÃO DE BARRAS NO CONCRETO ARMADO E PREVISÃO DE VIDA ÚTIL POR MEIO DE MODELO COMPUTACIONAL

Wanessa Souza de Lima  
Romilde Almeida de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.44919040410**

<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>124</b>
ARGAMASSAS DE REJUNTE EXPOSTAS AOS CICLOS DE MOLHAGEM E SECAGEM	
Valéria Costa de Oliveira	
Emílio Gabriel Freire dos Santos	
Rafael Alves de Oliveira	
Júlia Silva Maia	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040411</b>	
<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>136</b>
ANÁLISE DO COMPORTAMENTO DO CONCRETO DE ALTO DESEMPENHO (CAD) QUANDO SUBMETIDO A TEMPERATURAS ELEVADAS	
Klayne Kattiley dos Santos Silva	
Amâncio da Cruz Filgueira Filho	
Emerson Fernandes da Silva Alves	
Fernando Artur Nogueira Silva	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040413</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>151</b>
COMPORTAMENTO DO CONCRETO EM RELAÇÃO AO ATAQUE QUÍMICO POR SULFATOS	
Amanda Gabriela Dias Maranhão	
Fuad Carlos Zarzar Júnior	
Romilde Almeida de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040414</b>	
<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>162</b>
DURABILIDADE DE ESTRUTURAS CIMENTÍCIAS SUBMETIDAS A ATAQUES DE ÍONS SULFATOS	
Artur Buarque Luna Silva	
Fuad Carlos Zarzar Júnior	
Romilde Almeida de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040415</b>	
<b>CAPÍTULO 15</b> .....	<b>170</b>
SUGARCANE BAGASSE ASH INTO SILICON PRODUCTS	
Angel Fidel Vilche Pena	
Agda Eunice de Souza	
Silvio Rainho Teixeira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040416</b>	
<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>177</b>
ENSAIO NÃO DESTRUTIVO BASEADO NA INTERAÇÃO DE LINHAS DE CAMPO MAGNÉTICO PARA O ACOMPANHAMENTO DA PERDA DE MASSA EM MATERIAIS METÁLICOS	
David Domingos Soares da Silva	
Franklin Lacerda de Araújo Fonseca Júnior	
Alysson Domingos Silvestre	
<b>DOI 10.22533/at.ed.44919040417</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>183</b>
ANÁLISE TÉCNICA DE IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA DE ENERGIA SOLAR RESIDENCIAL OFF-GRID NA ZONA URBANA DE FORTALEZA-CE	
Francisco Jeandson Rodrigues da Silva	
Cauli Guray Melo Freitas	
Fellipe Souto Soares	
Douglas Aurélio Carvalho Costa	

Obed Leite Vieira

DOI 10.22533/at.ed.44919040418

**CAPÍTULO 18 ..... 197**

RECREIAÇÃO DO EXPERIMENTO DE HERTZ

Camila Alice Silva Santos

Cláudia Timóteo de Oliveira Rufino

Denikson Figueiredo de Vasconcelos

Ericveiber Lima Dias Clemente

Gustavo Henrique Mathias de Lima

DOI 10.22533/at.ed.44919040419

**CAPÍTULO 19 ..... 205**

UTILIZAÇÃO DA SEQUÊNCIA DE SOLDAGEM PARA CONTROLE DO NÍVEL DE PLANICIDADE DE UM ITEM SOLDADO UTILIZADO EM UM EQUIPAMENTO AGRÍCOLA

Alex Sandro Fausto dos Santos

Eduardo Carlos Mota

DOI 10.22533/at.ed.44919040420

**SOBRE A ORGANIZADORA ..... 219**



## DESENVOLVIMENTO DE ARCABOUÇOS DE PLGA E PLDLA COM POROS INTERCONECTADOS DIRECIONADOS PARA ENSAIOS DE CULTURA DE CÉLULAS ÓSSEAS

### **Joelen Osmari Silva**

Universidade Federal de São Carlos – UFSCar  
Sorocaba - São Paulo

### **Anna Maria Gouvea Melero**

Universidade Federal de Ouro Preto - REDEMAT -  
Ouro Preto - Minas Gerais

### **Juliana Almeida Domingues**

Universidade Estadual de Campinas, Instituto de  
Biologia - UNICAMP, Campinas - São Paulo

### **Adriana Motta de Menezes**

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo  
- PUC, Faculdade de Ciências Médicas e da  
Saúde, Laboratório de Biomateriais, Sorocaba -  
São Paulo

### **Moema de Alencar Hausen**

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo  
- PUC, Faculdade de Ciências Médicas e da  
Saúde, Laboratório de Biomateriais, Sorocaba -  
São Paulo

### **Daniel Komatsu**

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo  
- PUC, Faculdade de Ciências Médicas e da  
Saúde, Laboratório de Biomateriais, Sorocaba -  
São Paulo

### **Vagner Roberto Botaro**

Universidade Federal de São Carlos – UFSCar  
Sorocaba - São Paulo

### **Eliana Aparecida de Rezende Duek**

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo  
- PUC, Faculdade de Ciências Médicas e da  
Saúde, Laboratório de Biomateriais, Sorocaba -  
São Paulo

**RESUMO:** Os avanços das ciências médicas e dos materiais possibilitam o desenvolvimento de materiais capazes de regenerar tecidos, auxiliando no avanço tecnológico dos biomateriais e favorecendo a interdisciplinaridade, que como consequência, passa a ser a principal ferramenta para a produção de novos biomateriais para pesquisas em engenharia tecidual. Desta forma, este trabalho visa obter arcabouços de PLDLA e PLGA com poros interconectados a partir do processo de liofilização, para serem utilizados para ensaios de cultura de células ósseas. A partir dos resultados obtidos, verificou-se que ambos materiais podem ser utilizados como biomaterial para engenharia tecidual óssea. Os arcabouços de PLDLA e PLGA foram obtidos com viabilidade celular satisfatória, cuja avaliação pode ser feita a partir da morfologia celular dos osteoblastos aderidos nos arcabouços. Provavelmente há poros interconectados, atingindo assim o objetivo inicial. Outros ensaios estão sendo realizados para possível publicação desse trabalho e principalmente para atender as novas aplicações desses arcabouços.

**PALAVRAS-CHAVE:** PLDLA, PLGA, Células osteoblásticas, Poros interconectados.

**ABSTRACT:** The advances of medical sciences and of the materials makes possible the development of materials that are able to

regenerate tissues, assisting the technologic advance of the biomaterials and favoring the interdisciplinarity that, as consequence, becomes the main tool to the production of new biomaterials for researches in tissue engineering. From this way, this work aims to obtain PLDLA and PLGA frameworks with interconnected pores from the Freeze-drying process to be used as bone cells culture tests. From the obtained results, was verified that both materials can be used as biomaterials for bone tissue engineering. The PLDLA and PLGA frameworks were obtained with satisfactory cell viability, which evaluation can be made from cellular morphology of adhered osteoblasts in the frameworks. Probably, there are interconnected pores reaching, thus, the initial aim. Another tests are being realized to possible publication of this work and, mainly, to attend the new applications of this frameworks.

**KEYWORDS:** PLDLA, PLGA, Osteoblastic cells, Interconnected pores.

## 1 | INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento de inúmeros materiais poliméricos para auxiliar nas demandas médicas, é possível observar diversas pesquisas na engenharia de tecidos que buscam novas técnicas para substituir ou restaurar tecidos danificados e para cultura celular, desenvolvendo então matrizes tridimensionais sintéticas que possam suportar atividades celulares cruciais, tais como ligação e proliferação celular e posterior formação de tecidos (J. LIU et al., 2016).

Para aplicação como arcabouço, diversos materiais estão sendo desenvolvidos, dentre eles o poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) e o poli (L-co-D, L ácido láctico) PLDLA, que pertencem a uma classe de poliésteres alifáticos sintéticos, chamados de poli ( $\alpha$ -hidróxi ácidos), pois são biodegradáveis e biorreabsorvíveis (BARBANTI, S. H. et al., 2005).

Tanto para a fabricação de arcabouços direcionados à cultura de células ósseas, quanto para matrizes 3D para implantes, a arquitetura é fundamental para garantir compatibilidade e desenvolvimento celular, sendo necessário que o material seja biocompatível, e no caso de utilização *in vivo*, deve ser biorreabsorvível, osteocondutor e se possível, osteoindutor e com poros interconectados (SENGERS, B.G., et al., 2007) (BUCKLEY, C.T., O'KELLY, K.U., 2004).

O PLGA possui algumas vantagens sobre outros polímeros biorreabsorvíveis, como o poli (L-ácido láctico) PLLA, que requer menor tempo de degradação completa, sendo assim, esse copolímero apresenta probabilidade de reduzir reações adversas, que ocorrem muitas vezes através de fragmentos cristalinos liberados por polímeros com tempo de degradação excessivamente longo (BENDIX, 1998), assim, aplicações como liberação controlada de fármacos, suturas, aplicações em periodontia e regeneração guiada de tecido em contato com o osso são algumas das funções já confirmadas utilizando o PLGA (MOTTA; DUEK, 2007).

A estrutura química do PLGA apresenta melhor capacidade de reação de

hidrólise, pois possui em sua cadeia polimérica o mero proveniente do ácido glicólico, que é mais resistente ao ataque das moléculas de H<sub>2</sub>O quando comparado ao PLLA por exemplo, que possui uma cadeia polimérica formada exclusivamente por meros provenientes do ácido láctico (BERGSMA et al., 1995). Outro fato importante, é que o PLLA apresenta aumento da cristalinidade durante o processo de degradação, o que pode gerar intensa resposta inflamatória (MESSIAS et al., 2014), além de apresentar estrutura amorfa e possuir características mecânicas semelhantes às do PLLA, mas sem o inconveniente de longos tempos de degradação e alta cristalinidade (MESSIAS et al., 2014).

O tamanho dos poros do material são de grande importância, pois a formação do tecido desejado *in vivo* depende diretamente deste parâmetro. Poros com tamanhos entre 10 e 75 µm apenas permitem a penetração de tecido fibroso, colaborando com a fixação mecânica de peças, mas não permite regeneração tecidual. Poros com tamanhos entre 75 e 100 µm resultam no crescimento de tecido osteóide e não mineralizado. Segundo Karageorgiou e Kaplan, o tamanho mínimo necessário para o crescimento de células ósseas é de 100 a 200 µm. Pesquisadores como Klawiter et al. e Whang et al., produziram materiais com poros de 5 µm que permitem a neovascularização, poros entre 5 e 15 µm são ideais para crescimento de fibroblastos, de 40 a 100 µm para crescimento da matriz osteóide e entre 100 e 350 µm para regeneração óssea, contudo, no presente estudo, verifica-se que houve um bom desenvolvimento de osteoblastos também com poros de 500 µm.

Uma estrutura com poros interconectados favorece a distribuição uniforme das células, o que é fundamental para obter um bom desenvolvimento celular e através da liofilização, é possível conseguir matrizes com alta porosidade. De acordo com Ma & Zhang, é possível conseguir extensas interconectividades nos poros controlando a estrutura do material através da temperatura de congelamento do sistema polímero/solvente e concentração do polímero na solução.

A liofilização é um processo que tem sido amplamente utilizado para fabricação de materiais cuja aplicação será em cultura celular ou regeneração óssea. Tal processo consiste em remover o solvente ou o meio de suspensão do material, cristalizando-os a baixas temperaturas e após são sublimados diretamente do estado sólido para a fase vapor sob vácuo constante. Assim, devido à sublimação dos cristais que resulta em espaços vazios, é possível gerar poros, contudo, preservando as características originais do material (Oetjen et al., 2004; Abdelwahed et al., 2006).

Por esse motivo, o objetivo principal deste trabalho é não só conhecer as características biocompatíveis do PLDLA, como também obter um arcabouço com poros interconectados tanto com o PLDLA como com o PLGA, utilizando sacarose e liofilização.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção dos arcabouços de PLDLA e PLGA

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados poli(L-ácido láctico-co-D,L ácido láctico) - PLDLA 70/30 ( $M_w = 275.000$  g/mol) sintetizado conforme descrito por Motta e Duek et al (MOTTA; DUEK, 2007) e poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) - PLGA 80/20 ( $M_w = 17.819$  g/mol) sintetizado conforme descrito por Motta e Duek (MOTTA; DUEK, 2006), em contato com células osteoblásticas de calota craniana de ratos *Wistar*. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi confeccionar arcabouços de PLGA e PLDLA interconectados, utilizando a técnica de evaporação de solvente com adição de 70% (w/v) de sacarose com granulometria aproximada de  $500\mu\text{m}$ . Posteriormente as amostras foram liofilizadas com o intuito de interconectar os poros dos materiais e durante ensaio de cultura celular, verificar se as células se proliferam dentro dos poros ou apenas na superfície dos arcabouços. Após a liofilização, as amostras foram lavadas com dois banhos de PVA 1% e em água destilada para a retirada da sacarose.

### 2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Antes da microscopia, devido à natureza orgânica das amostras, estas foram metalizadas com plasma de ouro e paládio por 80 segundos utilizando equipamento Denton Vacuum Desk V Platinum DV-85N-250. A Microscopia Eletrônica de Varredura foi efetuada em um equipamento de modelo JEOL JSM-6010. Tanto a metalização das amostras quanto MEV foram realizadas no laboratório de Plasma da Universidade Estadual de São Paulo no campus de Sorocaba (UNESP).

### 2.3 Ensaio mecânico de compressão

A análise de compressão, foi efetuada em equipamento Stable Micro Systems TAXT plus 50 Kg texture analyser, no laboratório de nanomateriais da UNISO – Universidade de Sorocaba, localizado no Parque Tecnológico de Sorocaba. Foram analisadas duas amostras cilíndricas, em temperatura ambiente, comprimindo-as por 2mm após reação de 5g de força.

### 2.4 Ensaio de viabilidade celular

A análise de citocompatibilidade do material foi realizada a partir de células osteoblásticas primárias, obtidas por “explante” da calota craniana de ratos *Wistar* e foram cultivadas em frascos de cultivo celular contendo meio DMEM padrão (Meio Eagle modificado por Dulbecco), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de solução antibiótica penicilina/estreptomina. As células foram mantidas em estufa umidificada com atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ . Para a realização dos experimentos, os arcabouços de PLDLA e PLGA foram esterilizadas em UV por uma hora cada lado

da amostra, posteriormente as células foram semeadas sobre as amostras e inseridas em placas de Poliestireno de cultivo de 96 poços de fundo chato, sob concentração de  $10^4$  células/mL. A troca do meio de cultivo foi realizada periodicamente, três vezes na semana.

## 2.5 Laser Scanning Confocal Microscopy (LSCM)

As amostras de membrana PLGA e PLDLA foram cortadas em tiras e colocadas em microtubos e subsequentemente imersas em água destilada. Foram sonicados por 5 minutos e depois lavados em água destilada. Posteriormente as amostras foram colocados em uma lâmina de vidro e analisadas em Microscopia de Varredura de Confocal à Laser (LSCM) por modo de deflexão com baixo aumento sem fluorescência. As imagens de alta resolução foram obtidas através de cortes ópticos, que foram agrupados para fazer uma reconstrução tridimensional da topografia da membrana. As amostras foram analisadas na Universidade Federal de São Carlos (Sorocaba), utilizando o equipamento de varredura a laser Confocal Scanning Leica TCS SP5.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise da superfície dos arcabouços apresentou poros com tamanhos uniformes, tanto na superfície quanto na região de fratura, o que demonstra que a técnica empregada para a produção de poros foi eficaz. É possível observar na figura 1C, que houve alguns poros apresentam aspectos de interconectados, porém ainda é necessário mais ensaios para confirmar. No entanto, a formação de poros na superfície já foram suficientes para possibilitar adequada adesão celular por osteoblastos.

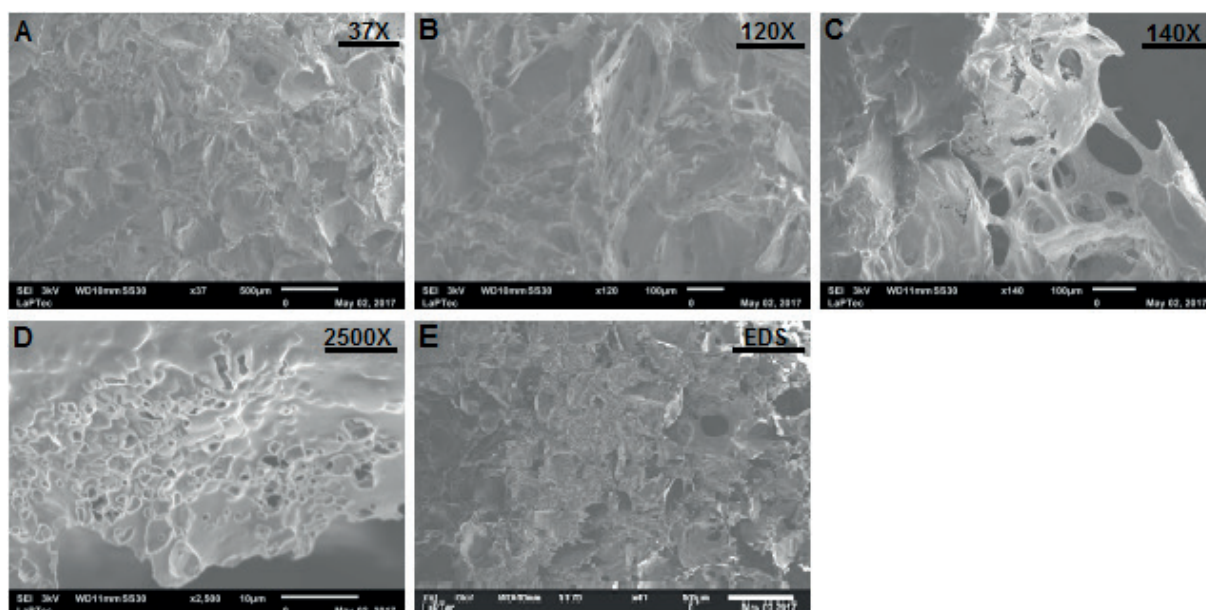


Figura 1: Imagens das amostras de PLDLA feitas por MEV, onde A está ampliado em 37X, B em 120X,

C em 140X, D em 2500X e E foi analisado com EDS.

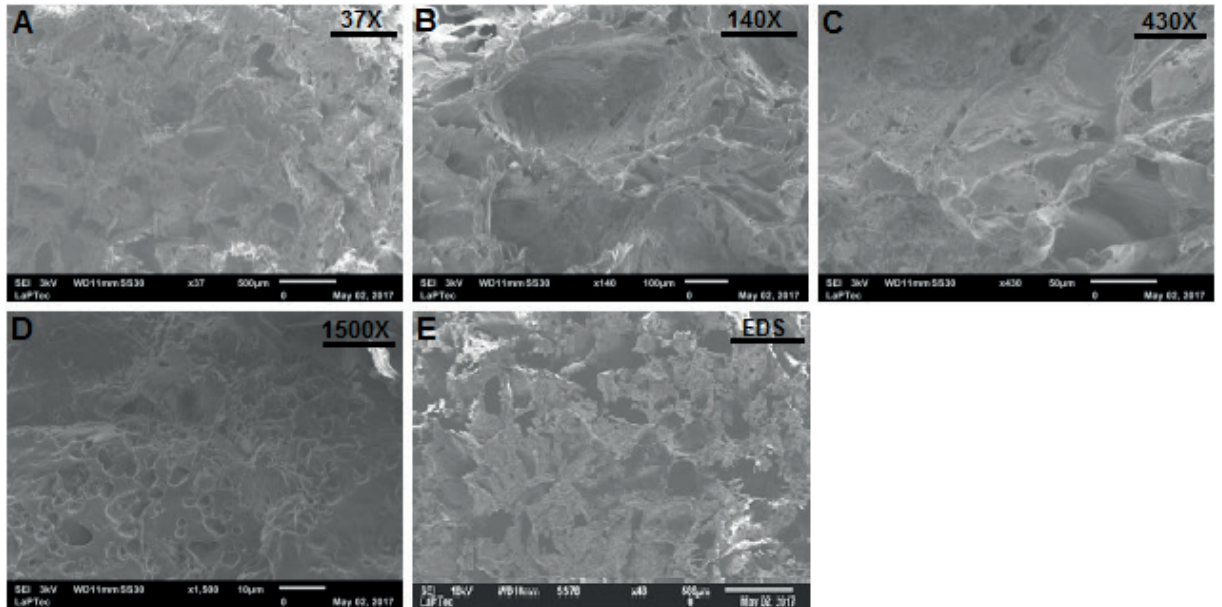


Figura 2: Imagens das amostras de PLGA feitas por MEV, onde A está ampliado em 37X, B em 140X, C em 430X, D em 1500X e E foi analisado com EDS.

Fazendo uma comparação visual com ambos arcabouços é possível observar que o PLDLA apresentou poros mais definidos, mais uniformes e melhores que os poros formados pelo PLGA, como pode ser visto na figura 2.

Em todas as análises o PLDLA apresentou maior porosidade em relação ao PLGA, conforme ilustrado nas figuras 1 e 2.

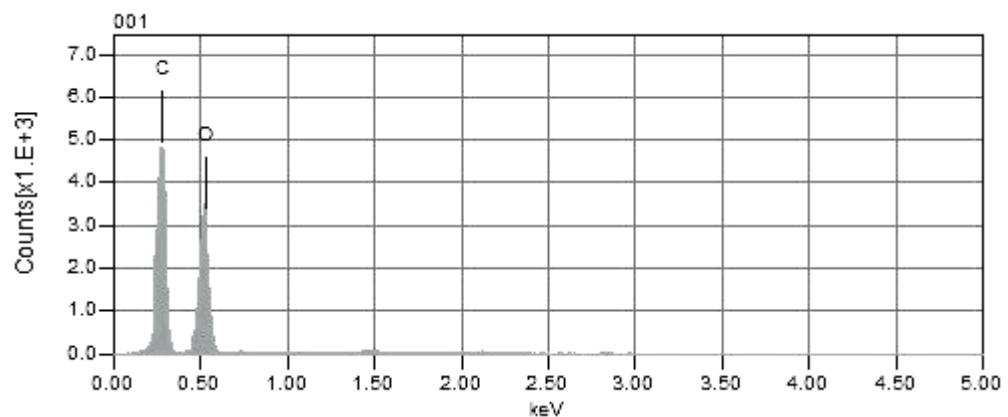


Figura 3: Gráfico de MEV/EDS das amostras de PLDLA, onde o pico C representa a quantidade de carbono e O representa a quantidade de oxigênio presentes na amostra.

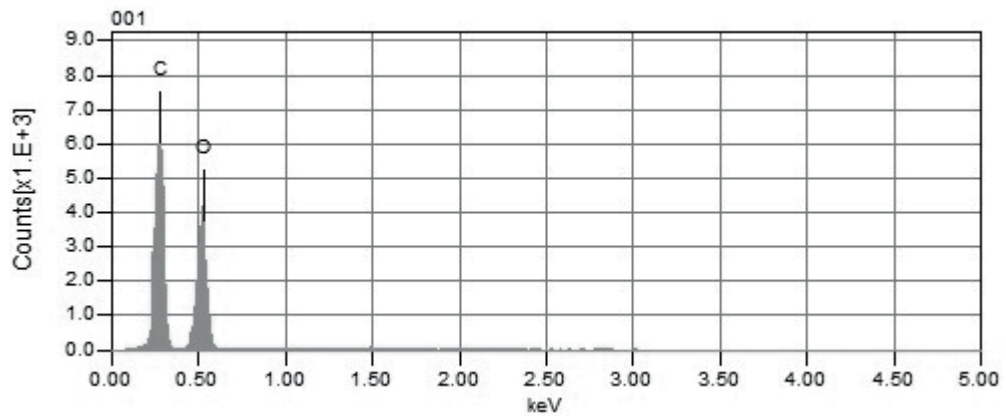


Figura 4: Gráfico de MEV/EDS das amostras de PLGA, onde o pico C representa a quantidade de carbono e O representa a quantidade de oxigênio presentes na amostra.

Os gráficos de EDS foram realizados somente para verificar a estrutura final dos materiais, comprovando a existência apenas de estruturas de carbono e oxigênio, como já era esperado para ambos os materiais, após o desenvolvimentos dos poros.

### 3.2 Ensaio Mecânico de Compressão

A análise de compressão demonstrou que o PLGA possui maior taxa de tensão/deformação, pois as duas amostras deformaram-se em torno de 50% a uma tensão de aproximadamente 0,28 MPa e 0,33 MPa para as amostras 1 e 2 respectivamente, enquanto as amostras de PLDLA atingiram em média 43% de deformação a uma tensão de aproximadamente 0,18 MPa e 0,25 MPa para as amostras 1 e 2 respectivamente.

Estes resultados devem-se ao fato do PLDLA ser mais poroso, o que reduz sua resistência à compressão.

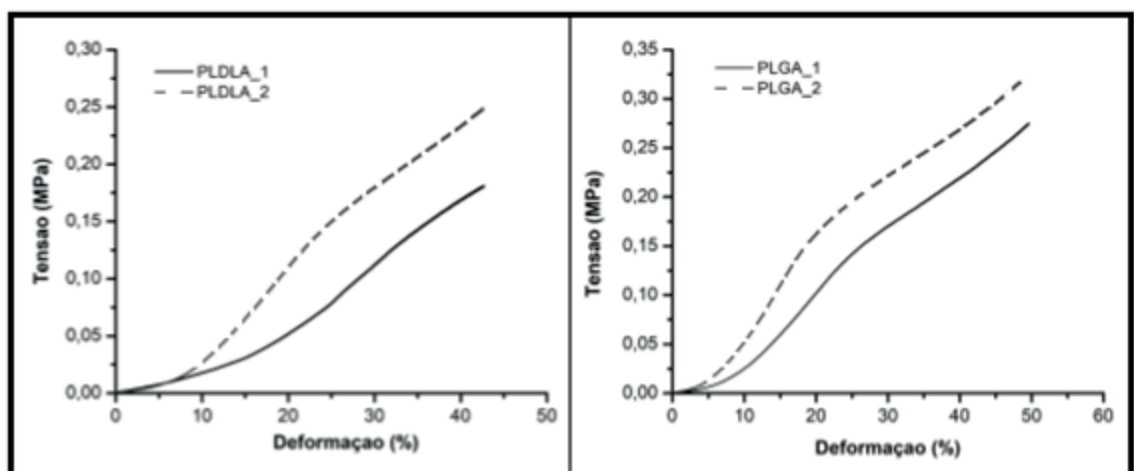


Figura 5: Gráficos de compressão do PLDLA e PLGA

### 3.3 Ensaio de Viabilidade Celular

O ensaio de viabilidade celular apresentou resultados interessantes quanto

a adesão celular das células osteoblásticas sobre o material, onde os arcabouços de PLDLA com poros interconectados, apresentaram resultados superiores aos do PLGA. No entanto no primeiro dia de cultura celular, o PLDLA não apresentou mudança estatística com relação ao arcabouço de PLGA, mas após 5 dias, houve mudança estatística considerável, demonstrando que as células se adaptaram melhor ao PLDLA, como pode ser visto na figura 6:

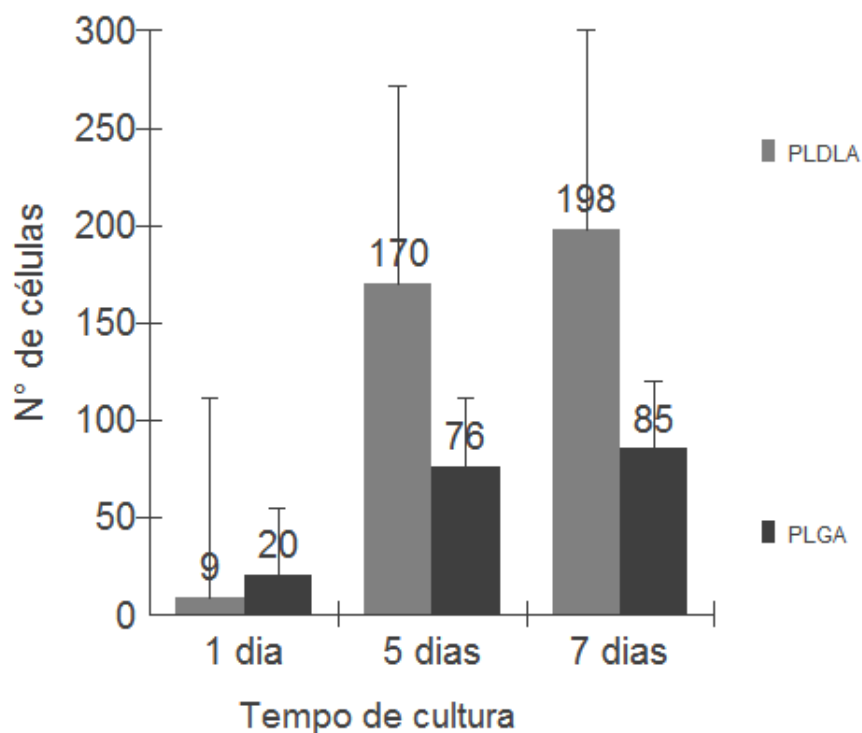


Figura 6: Viabilidade celular

### 3.4 Laser Scanning Confocal Microscopy (LSCM)

A morfologia celular das células osteoblásticas pode ser observada com a utilização da Microscopia de Confocal à Laser, onde na Fig. 7 é possível observar o crescimento celular e a adesão celular sobre o arcabouço de PLDLA, onde em 1 dia apresentam poucas células aderidas ao material, enquanto que nos tempos de 5 e 7 dias as células apresentam adaptação ao material, que pode ser observado pela morfologia espreada das células e adesão em monocamada.



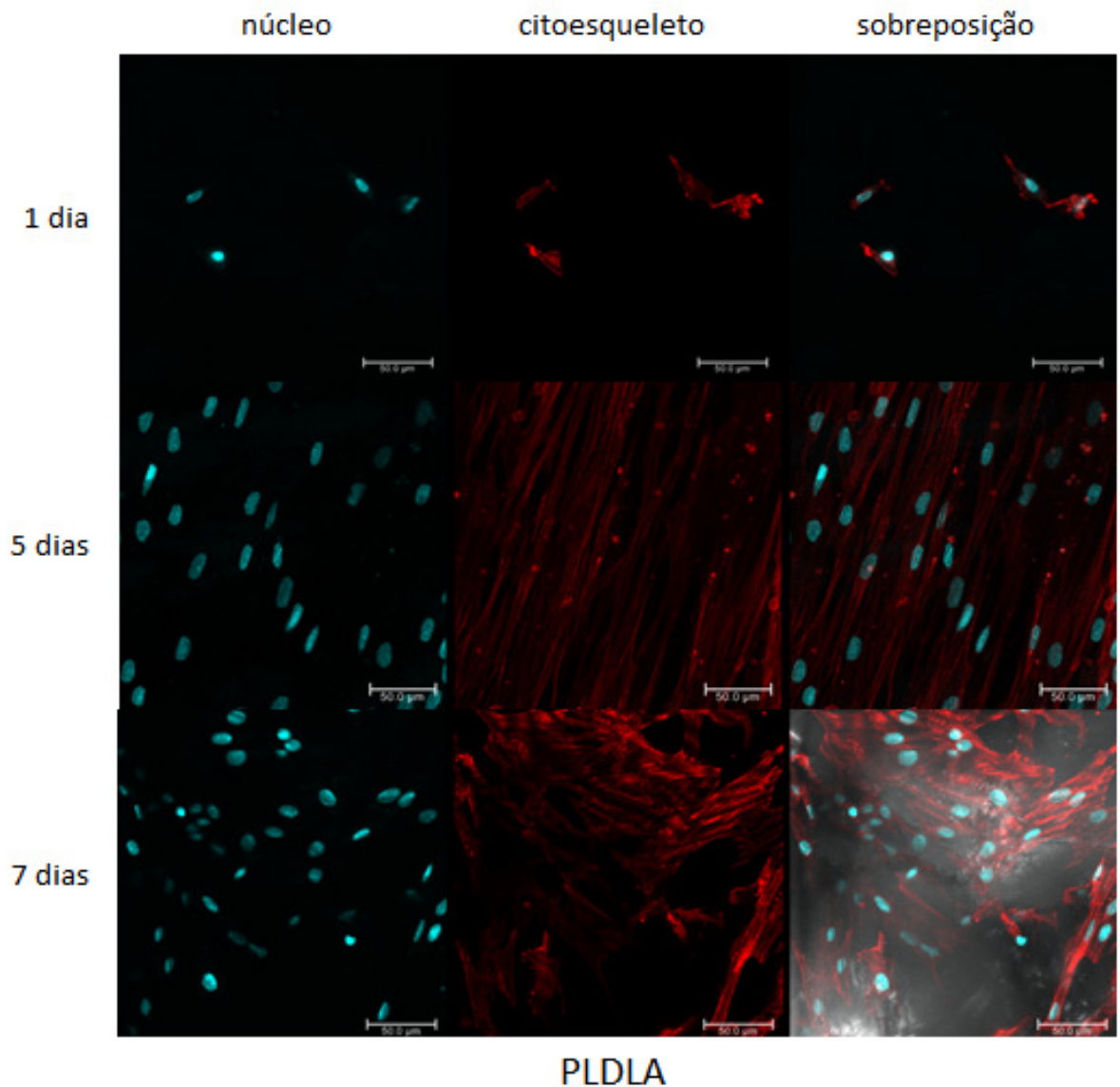


Figura 7: No dia 1 é possível observar poucos núcleos e morfologia em processo de adesão celular, enquanto que nos dias 5 e 7, as células apresentam morfologia adequada e total adesão sobre o arcabouço de PLDLA.

No arcabouço de PLGA, que já é amplamente conhecido na literatura, é possível observar o mesmo tipo de crescimento celular observado no PLDLA, porém, durante a quantificação mostrou obter resultados estatisticamente inferiores, o que não desqualifica o arcabouço de PLGA, porém aumenta nosso interesse em continuar as pesquisas com o PLDLA, cujos resultados são promissores. Como pode ser observado na Fig XX, as células aderidas ao arcabouço de PLGA, durante o primeiro dia, também apresentou morfologia celular em processo de adesão, com pequena quantidade de células, enquanto que nos tempos de 5 e 7 dias, as células se apresentam espreadas na superfície do material, porém comparado ao arcabouço de PLDLA, em menor quantidade e com morfologia de adesão celular menos espreada e com grandes espaços entre a monocamada formada.

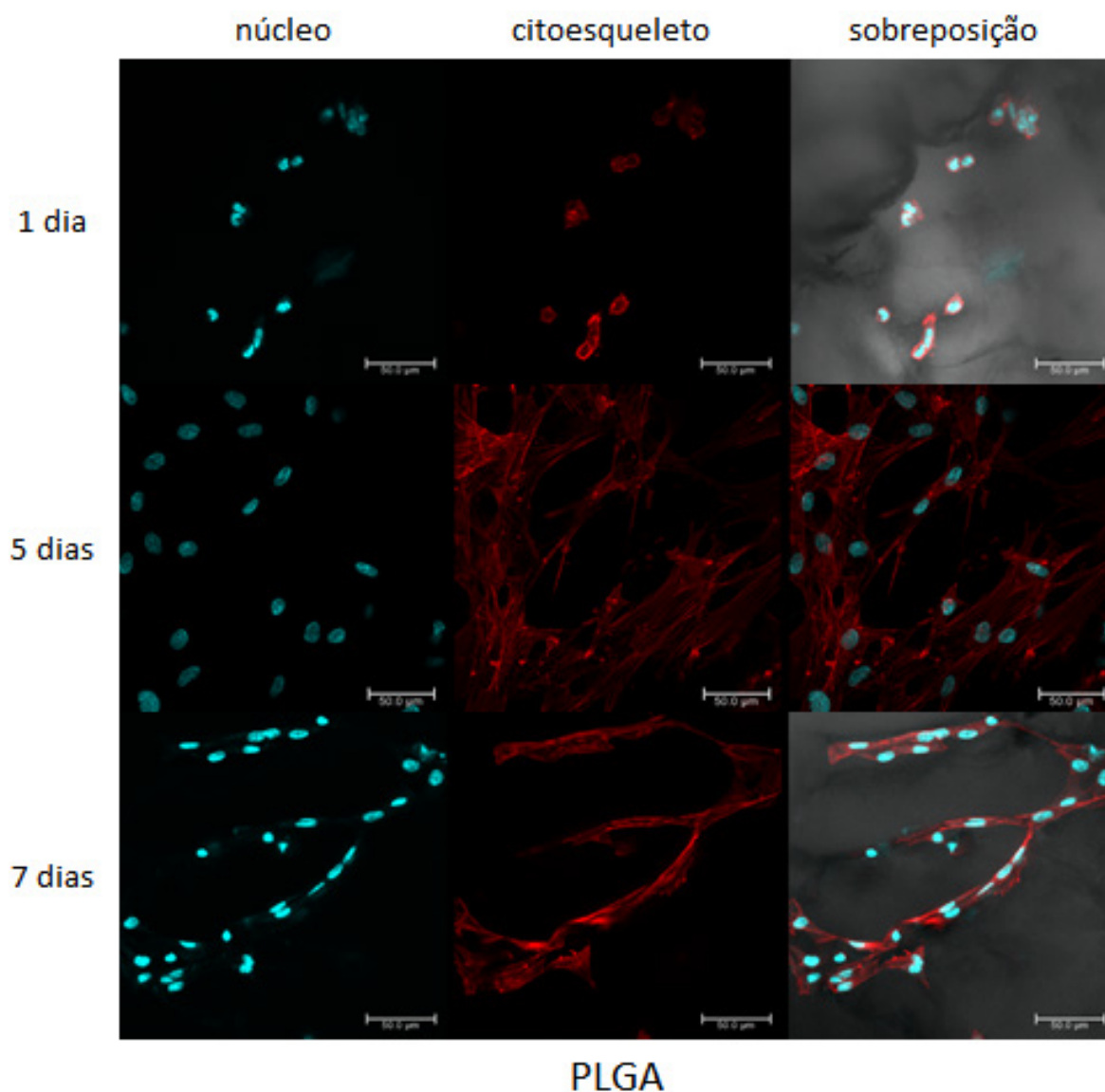


Figura 8: No dia 1 é possível observar poucos núcleos e morfologia em processo de adesão celular, enquanto que nos dias 5 e 7, as células apresentam morfologia adequada, porém é possível observar espaços entre a monocamada formada.

#### 4 | CONCLUSÕES

O arcabouços de PLDLA e PLGA foram obtidos com poros, utilizando a sacarose e liofilização, o que demonstrou ter seu objetivo atingido, uma vez que provavelmente há poros interconectados, o que pode ser verificado por MEV e viabilidade celular satisfatória, podendo ser quantificado e avaliado a partir da morfologia celular dos osteoblastos aderidos nos arcabouços. Outros ensaios estão sendo realizados para possível publicação desse trabalho e principalmente para atender as novas aplicações desses arcabouços.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às empresas de fomento que possibilitam o desenvolvimento deste trabalho, FAPESP, CNPq e CAPES, ao Labiomat - Laboratório

de Biomateriais da PUC Sorocaba, pela infraestrutura e ao PPGBMA da UFSCar Sorocaba pelo uso do Microscópio Confocal à Laser.

## REFERÊNCIAS

- BARBANTI, S. H. et al. Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos. Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 15, n.º. 1, p. 13-21, 2005.
- BENDIX, D. J-TJ. v. 59, 1998.
- BERGSMA, J. E. et al. Late degradation tissue response to poly ( L-lactide ) bone plates and screws. v. 16, n. 1, p. 25–31, 1995.
- BUCKLEY, C.T., O’KELLY, K.U., “Regular scaffold fabrication techniques for investigations in tissue engineering”, Topics in Bio-Mechanical Engineering, pp. 147-166, 2004.
- G. W. Oetjen, P. Haseley, Freeze-Drying; 2ª ed. Weinheim – Germany: Wiley-vch Verlag GmbH&Co. KGaA, 2004. p. 408. ISBN: 978-3-527-30620-6.
- J. LIU et al. Development of nanocellulose scaffolds with tunable structures to support 3D cell culture. Carbohydrate Polymers, 148 (2016) 259-271.
- KARAGEORGIU, V., KAPLAN, D., “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis”, Biomaterials, v. 26, pp. 5474-5491, 2005.
- KLAWITTER, J.J., HULBERT, S.F., “Application of porous ceramics for the attachment of loadbearing internal orthopedic applications”, Journal of Biomedical Materials Research Symposium, v. 2, n. 161, 1971.
- MESSIAS, A. D. et al. Synthesis , Characterization , and Osteoblastic Cell Culture of Poly ( L-co-D , L-lactide-co-trimethylene carbonate ) Scaffolds. v. 2014, 2014.
- MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Síntese, Caracterização e Degradação “ in vitro ” do poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico ) poly ( L-lactic acid-co-glycolic acid ), PLGA. p. 340–350, 2006.
- MOTTA, A. C.; DUEK, E. A. R. Síntese e Caracterização do Copolímero Poli. v. 17, p. 123–129, 2007. P. Ma & R. Zhang, J Biomed Mater Res (2001) vol. 56, p. 469–77.
- R. Brown. Handbook of polymer testing: short-term mechanical tests. Rapra Technology (2002) ISBN: 1-85957-324-X.
- SENGERS, B.G., et al., “Computational modelling of cell spreading and tissue regeneration in porous scaffolds”, Biomaterials, v. 28, pp. 1926–1940, 2007.
- WHANG, K., et al., “Engineering bone regeneration with bioabsorbable scaffolds with novel microarchitecture”, Tissue Engineering, v. 5, n. 35, 1999.
- W. Abdelwahed et al, Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. Advanced Drug Delivery Reviews, (2006) vol. 58, p. 1688–1713.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-244-9

