

# 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**



## ENSAIOS IN VITRO E IN VIVO DE *SCAFFOLDS* DE PLGA INCORPORADOS COM ÓLEO-RESINA DO GÊNERO COPAIFERA SSP. PARA REPARAÇÃO DE TECIDOS

### **Ana Luiza Garcia Massaguer Millás**

Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP,  
Departamento de Engenharia de Materiais  
e Bioprocessos/DEMBio da Faculdade de  
Engenharia Química. Campinas - SP

### **João Vinícios Wirbitzki da Silveira**

Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP,  
Departamento de Engenharia de Materiais  
e Bioprocessos/DEMBio da Faculdade de  
Engenharia Química.  
Campinas - SP

### **Rodrigo Barbosa de Souza**

Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP,  
Departamento de Cirurgia da Faculdade de  
Medicina.  
São Paulo - SP

### **Maria Beatriz Puzzi**

Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP,  
Centro de Investigação em Pediatria/CIPED,  
Faculdade de Ciências Médicas.  
Campinas - SP

### **Edison Bittencourt**

Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP,  
Departamento de Engenharia de Materiais  
e Bioprocessos/DEMBio da Faculdade de  
Engenharia Química.  
Campinas - SP

### **Ivan Hong Jun Koh**

Universidade Federal de São Paulo-UNIFESP,  
Departamento de Cirurgia da Faculdade de  
Medicina.  
São Paulo - SP

**RESUMO:** Neste trabalho foram desenvolvidos suportes celulares bioativos e minimamente invasivos, a partir do poli(ácido lático-coglicólico), PLGA, um polímero sintético bioreabsorvível, aprovado pelas agências reguladoras. Esse suporte celular poderá ser usado como modelo *in vitro* tridimensional e como substituto para regeneração de tecidos (ex.: pele, cartilagem). Foi utilizada a tecnologia de eletrofiação para produção de matrizes fibrosas a partir de soluções de PLGA (50:50), dissolvido em 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP). Às soluções pré-eletrofiadas de PLGA foi incorporado o óleo-resina de copaíba, um fármaco natural da região amazônica com comprovadas propriedades terapêuticas de cicatrização, analgesia, anti-inflamação e ação antimicrobiana. Foram investigadas as interfaces material/células e material/tecidos, utilizando *scaffolds* sem óleo-resina e com a incorporação do óleo-resina de copaíba. Na fase 1 foram realizados testes *in vitro* e na fase 2, testes pré-clínicos, a partir de implantes do material *in vivo*. Os ensaios *in vitro* demonstraram citocompatibilidade dos *scaffolds* sem a presença do óleo-resina, e citotoxicidade dos *scaffolds* incorporados com o óleo-resina de copaíba. A imunocitoquímica dos suportes sem óleo-resina comprovou a presença dos colágenos Tipo I e Tipo III, o que indica a deposição de uma nova matriz

extracelular em menos de 6 dias de cultivo. Diferentemente do que ocorreu *in vitro*, nas análises histopatológicas dos implantes intramuscular e subcutâneo em modelo animal, os tecidos tiveram reação positiva na interface com os *scaffolds sem e com* a presença óleo-resina de copaíba. Além da biocompatibilidade e tolerância positiva dos tecidos ao biomaterial, observou-se a biointegração entre eles; com maior formação de neovasos nos implantes com óleo-resina de copaíba. Não houve qualquer tipo de resposta inflamatória crônica, necrose, calcificação, tumorogênese, ou infecção.

**PALAVRAS-CHAVE:** *electrospinning*, microfibras, engenharia de tecidos, ensaios pré-clínicos, bioimpressão 3D

## IMPLANTS OF ELECTROSPUN PLGA SCAFFOLDS INCORPORATED WITH COPAÍBA OLEORESIN (COPAIFERA SSP.)

**ABSTRACT:** In this work we developed a bioactive and minimally invasive substrate, from a bioreabsorbable polymer, which is approved by the regulatory agencies, as FDA. Focus on the application as an *in vitro* model for three-dimensional cell growth or as a scaffold for tissue regeneration, such as skin. Using the electrospinning technique, fibrous matrices were generated from 50:50 poly (lactic-co-glycolic acid) solutions, PLGA, dissolved in 1,1,1,3,3,3- hexafluoro-2 -propanol (HFIP). The PLGA pre-electrospun solutions also were incorporated with copaiba oil-resin, a natural drug from the Amazon region with proven therapeutic properties of healing, analgesia, anti-inflammation, and antimicrobial action. Firstly, *in vitro* and later, *in vivo* assays were performed, the material/cells, and material/animal tissues interfaces were investigated. The *in vitro* assays demonstrated cytocompatibility of the scaffolds without the presence of copaíba oil-resin, and cytotoxicity of the scaffolds incorporated with the copaiba oil-resin. With 6 days of *in vitro* culture, immunocytochemistry tests demonstrated, besides cytocompatibility, the presence of Type I and Type III collagens, proving the deposition of a new extracellular matrix by the cells. About the histopathological analyzes of the implants, the intramuscular and subcutaneous tissues of the rats reacted positively to both scaffolds, with and without oil-resin. The scaffolds were well tolerated and biointegrated into the tissues of the animals, with no chronic inflammatory response, necrosis, calcification, tumorogenesis, or infection. Therefore, in the animal model, the fibrous matrices presented high biocompatibility and biointegration. Aiming for future work, a 3D bioprinter was developed by the group for the production of layer-by-layer biomaterials, combining the technologies of electrospinning and 3D bioprinter.

**KEYWORDS:** electrospinning, microfibras, tissue engineering, *in vivo* assays, 3D printing

## 1 | INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos é um campo multi e interdisciplinar atualmente focado em duas principais áreas: (i) desenvolvimento de novos métodos para reparar, regenerar

e substituir tecidos e/ou órgãos danificados e (ii) geração de modelos equivalentes *in vitro* para teste de novas fórmulas (*drug screening*) ou simulação de doenças (LANGER E VACANTI, 1993; NGUYEN et al., 2016; ZHANG et al., 2016).

Sob a perspectiva da medicina regenerativa, voltada aos transplantes e ao reparo/regeneração de tecidos e órgãos, há traumas e situações degenerativas que requerem intervenção urgente visando a restituição da integridade/funcionalidade dos tecidos e remodelação da matriz extracelular. Como se sabe, um transplante consiste na remoção do órgão ou tecido deteriorado e implantação de um novo tecido. Para evitar rejeição ou respostas inflamatórias crônicas (sistêmicas), esse novo tecido deve ser preferencialmente retirado do mesmo organismo (autólogo), ou, alternativamente retirado de outro paciente, cadáver (alógeno) ou de outra espécie que não a humana (xenogênicos).

O Brasil em termos de dispêndios públicos tem o maior programa de transplantes do mundo, pois financia 92% dos procedimentos feitos no país e é o segundo país em número de transplantes, sendo superado somente pelos Estados Unidos (MARINHO, 2006; BENTLEY & HANSON, 2011). O problema é que a obtenção de enxertos autógenos e, principalmente alógenos, por questões éticas, religiosas e pela falta de informação, constituem um processo complicado, cuja demanda ultrapassa a disponibilidade (HARRISON, 1999). Mesmo com os avanços da indústria farmacêutica e médica nos últimos 30 anos para desenvolver alternativas como substitutos biossintéticos de tecidos (biomateriais), ainda existem desafios relacionados ao tema (METCALFE & FERGUSON, 2007).

Tendo essa problemática em vista, esse trabalho trata do desenvolvimento de tecidos sintéticos alternativos baseados em biomateriais poliméricos. Os biomateriais são dispositivos de origem natural ou sintética que interagem na interface de sistemas biológicos, podendo ser usados temporária ou definitivamente, com a finalidade de melhorar ou substituir, parcial ou totalmente, tecidos ou órgãos (WILLIAN, 1987). Diversos são seus tipos, cada um com uma determinada finalidade de aplicação. Os polímeros pertencem a classe mais diversificada dos biomateriais (DROBNY, 2007).

Para todos os biomateriais o conceito de biocompatibilidade é muito importante, pois reflete as respostas da interface entre os biomateriais implantados e os tecidos do hospedeiro. A biocompatibilidade refere-se a: (a) segurança biológica, que engloba uma resposta do hospedeiro atóxica, não mutagênica, e não carcinogênica, e (b) biofuncionalidade, que é a capacidade do biomaterial perfazer a sua tarefa (RATNER, 1996; ANDERSON, 2001; SICARI *et al.*, 2013 ).

No caso da geração de *scaffolds* para substituir temporariamente tecidos perdidos, como a pele, por exemplo, a técnica de eletrofição (FORMHALS, 1934) é extremamente interessante, pois apresenta: 1) **facilidade**, do ponto de vista da produção de fibras ultrafinas, nas escalas nano e micro, com alta razão de aspecto superfície/volume, sem a necessidade de uma instrumentação cara e complexa (RENEKER & CHUN, 1996); 2) **versatilidade**, por se aplicar a uma gama de polímeros,

naturais e/ou sintéticos, que podem combinados (compósitos) e incorporados como análogos da matriz extracelular nativa (SIMPSON & BOWLIN, 2006; HEYDARKHAN-HAGVALL *et al.*, 2008; BHARDWAJ & KUNDU, 2010); e 3) **flexibilidade**, pois possibilita controlar o diâmetro, a disposição aleatória ou alinhada dos filamentos, a porosidade e a topografia das fibras, variando-se as condições do processo (equipamento) e da solução polimérica (DEITZEL *et al.*, 2001; RAMAKRISHNA *et al.*, 2005; SOLIMAN *et al.*, 2011; ZHONG *et al.*, 2011).

A alta razão de aspecto superfície/volume, combinada a estrutura porosa das fibras fornece espaço suficiente à acomodação, proliferação, migração e diferenciação celular, além de aumentar a eficiência no transporte de nutrientes, na troca de sinais entre camadas e na excreção de metabólitos entre a matriz da fibra e o ambiente externo (ZELTINGER *et al.*, 2001), se aproximando mais de uma matriz extracelular natural (HAYASHI, 1994).

Além das qualidades estruturais dessas matrizes porosas, é interessante que elas atuem como matrizes bioativas, ou *bioinspiradas* (JI *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012), agregando propriedades biológicas, seja através da adição de moléculas sinalizadoras, como fatores de crescimento (VENDRAMIN *et al.*, 2006), genes terapêuticos (LUU *et al.*, 2003), seja através da adição de biomoléculas, como vitaminas, citocinas ou incorporação de óleos naturais (MILLÁS *et al.*, 2012, MILLÁS, 2016). Esses métodos vêm sendo largamente utilizados em sistema diagnósticos e terapêuticos procurando funcionalizar e melhorar a capacidade de regeneração dos implantes (WATANABE & ISHIHARA, 2003; LANGER & TIRRELL, 2004; YANG *et al.*, 2011).

Considerando que o Brasil é reconhecido internacionalmente por possuir a maior reserva florestal diversificada do planeta e ciente do potencial da sua flora para o uso na medicina, nesse trabalho o óleo-resina de copaíba foi selecionado para desempenhar essa função terapêutica quando incorporado aos *scaffolds* de PLGA. Esse óleo-resina é extraído do tronco das árvores do gênero *Copaifera ssp* e usado desde o séc. XVI pelas populações tradicionais da América Latina para o tratamento de enfermidades (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002; MACIEL *et al.*, 2002; VEIGA JR. & PINTO, 2002; SILVA *et al.*, 2009). Estudos mostram comprovadas ações terapêuticas, como agente antiinflamatório (PAIVA *et al.*, 2004), analgésico, antitumoral (VEIGA JR., 2007), cicatrizante, gastro-protetor (GE *et al.*, 2009), antiedematogênico, e bactericida (HUANG *et al.*, 2010).

### **Poli (Ácido Láctico-Co-GlicáLico)**

Os poli( $\alpha$ -hidróxi ácidos) como o ácido poli láctico (PLA), o ácido poli glicólico (PGA), ou a combinação desses dois polímeros, o copolímero poli(ácido láctico-co-glicólico) PLGA, são ésteres alifáticos biocompatíveis e bioreabsorvíveis que apresentam ótimas propriedades biomecânicas, suportando o manuseio pré-implante e a morfogênese celular pós-implante. Esses polímeros sintéticos por serem aprovados

pelo órgão regulamentador *Food and Drug Administration* - FDA, são extensivamente investigados e usados na área da medicina como implantes de ossos (HUANG et al., 2010; LI et al., 2010), fígado, nervos (LI et al., 2007; XIONG et al., 2009), pele (YANG et al., 2002), vasos sanguíneos (HAN et al., 2011) e suturas em humanos (PAN & DING, 2012). No corpo são degradados em ácido láctico e glicólico via hidrólise das ligações ésteres.

O interessante em se utilizar o copolímero PLGA é que a sua taxa de degradação pode ser controlada utilizando diferentes composições do ácido láctico e glicólico. O PGA por ser mais hidrofílico, possui taxa de degradação mais elevada (MA & LANGER, 1995), e o PLA, mais hidrofóbico, possui taxa de degradação mais baixa. O PLGA na composição 50:50 se degrada entre 1 e 3 meses dependendo da região e do tamanho do implante (MA & CHOI, 2001; YOU *et al.*, 2006).

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

### Produção dos scaffolds

As fibras (*scaffolds*) foram produzidas utilizando a técnica de eletrofiação (Figura 1). Foram preparadas soluções com 12,5%(p/p) de poli(ácido láctido-co-glicólido) (PLGA) 50:50, Mw 40 -75 K (PURASORB, 5004, Purac., Reino Unido) dissolvido em 1,1,1,3,3,3- hexafluoro-2-propanol (HFIP) (Sigma Aldrich). Para preparo dos *scaffolds* com óleo-resina de copaíba (WNF: World's Natural Fragrances- phytotechnologies), 1% (p/p) do óleo foi adicionado as soluções. As soluções foram entregues a uma taxa de alimentação constante da bomba de infusão de 0,8 ml/h e com uma voltagem de aceleração de 11 kV fornecido por uma fonte de alimentação de alta tensão. As matrizes fibrosas foram recolhidas em folhas de papel alumínio envolvidas em torno de um coletor rotativo ligado ao terra a 30 cm da ponta da agulha e seringas de 10 mL foram usadas. As fibras foram fiadas até atingirem espessura de 50  $\mu$ m.

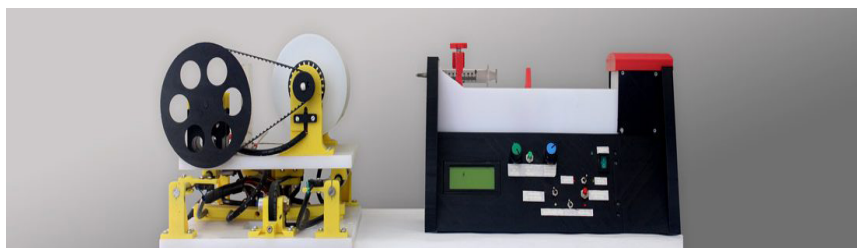


Figura 1: Equipamento de eletrofiação DemBio/FEQ/UNICAMP da startup *3D Biotechnology Solutions* - *3DBS* (link: <https://www.3dbiotechnologysolutions.com>).

As fibras foram secas overnight em estufa a vácuo para retirada de qualquer resíduo volátil proveniente do processo. Todo material foi esterilizado com radiação

gama ( $\gamma$ ) (condição, dose aplicada: 20 KGy).

### Ensaio *in vitro*

A metodologia detalhada dos cultivos *in vitro* está protocolada no trabalho da pesquisadora Millás (2016) e no artigo do pesquisador Yusuf e colaboradores (2014). Nos ensaios *in vitro* foram cultivados fibroblastos de linhagem imortalizada de pulmão (CCD-37lu, passagem 8) (YUSUF et al., 2014) e fibroblastos de linhagem primária de pele humana. As células foram cultivadas em placas de 12 poços sobre os scaffolds pelo período de 24 horas e 6 dias e  $3 \times 10^4$  células em suspensão foram distribuídas por poço. Foi utilizado meio M199 (Sigma-Aldrich), suplementado com L-glutamina (0,2 mg/mL), penicilina (100 UI/mL), estreptomicina (0,1 mg/mL) (GIBCO/Invitrogen) e soro fetal bovino 10% (FBS - LGC Biotechnology). A troca do meio de cultura foi realizada a cada 2 dias (MILLÁS, 2016).

### Ensaio *in vivo* (modelo animal)

Foram utilizados ratos Wistar fêmeas com idade de 6 meses. Os animais foram anestesiados com xilasina e ketamina na proporção 1:4, intraperitoneal, e para analgesia foi utilizado éter. Em cada animal foram realizados quatro implantes, dois intramusculares e dois subcutâneos com scaffolds com óleo-resina de copaíba e *scaffolds* sem o óleo de copaíba (Figura 2).

Para os ensaios histopatológicos, com os animais sedados, foram coletadas amostras após 7 e 28 dias da cirurgia. Após coleta os animais foram sacrificados.

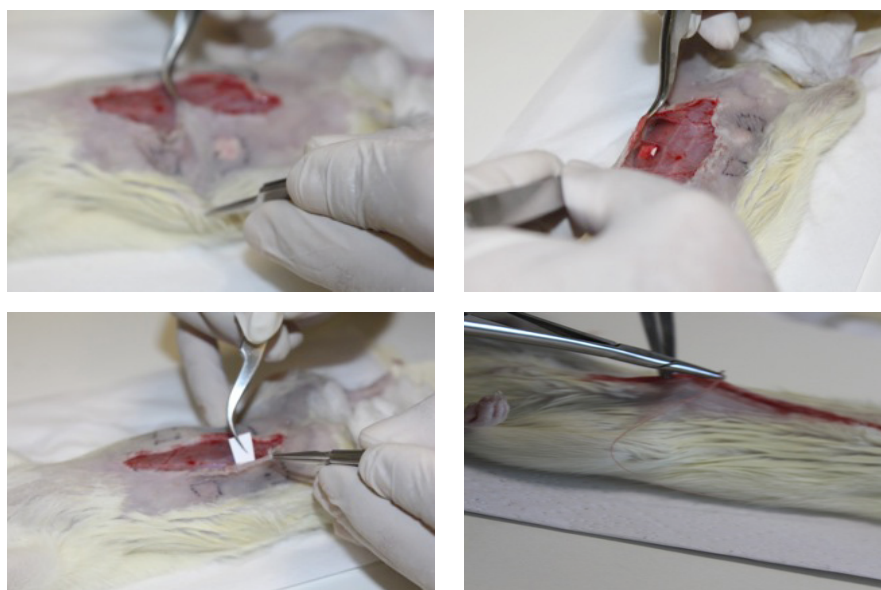


Figura 2: Testes *in vivo*. Foram realizados quatro implantes na região abdominal de cada animal, dois intramusculares e dois subcutâneos. Quatro amostras de *scaffolds*, duas com óleo-resina de copaiba e duas sem óleo (Fonte: Laboratório de Cirurgia do Prof. Dr. Ivan Koh/ UNIFESP, 2016).

O material coletado foi fixado por imersão em solução a 7% paraformaldeído em tampão PBS 0,1M, pH 7,4 e desidratado em séries crescentes de álcool etílico. As amostras foram imersas incluídas em resina e com auxílio de um micrótomos American Optical model m de espessura e pós corados pela técnica de  $\mu$ 820® foram feitos cortes de 5 Hematoxilina/Eosina (HE).

### **Análise e caracterização do material**

Diâmetros de filamentos, espessura, análises de morfologia e porosidade dos scaffolds foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para análise dos ensaios *in vitro* foi utilizada microscopia eletrônica de varredura (MEV) segundo métodos propostos por Millás *et al.* (2014) e Yusuf *et al.*, (2014) (YUSUF *et al.*, 2014; MILLÁS, 2016). As amostras dos ensaios *in vivo* foram coradas pelo método de hematoxilina-eosina (HE) e observadas em microscopia óptica (MO).

## **3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Resultados dos ensaios *in vitro***

O método de coloração com Platinum blue (YUSUF *et al.*, 2014) utilizado para visualização das amostras em MEV, possibilitou a análise detalhada da morfologia celular e das estruturas tridimensionais celulares formadas na matriz polimérica. Observou-se que a morfologia dos fibroblastos muda de acordo com o substrato onde é cultivado, nas lamínulas bidimensionais e planas, as células adquiriram formas mais fusiformes e menos alongadas; nas matrizes fibrosas tridimensionais, os prolongamentos são mais longos, “abraçando” os filamentos da fibra e os citoplasmas tem formas estrelares, como observa-se na Figura 3, A.

Nos ensaios *in vitro*, a citocompatibilidade das matrizes incorporadas com óleo-resina de copaíba (Figura 3,B) foi bastante diminuta quando comparada a citocompatibilidade do material sem o óleo-resina (Figura 3, A). Após 24 horas de cultivo, observa-se que nas matrizes com óleo houve adesão celular, mas o crescimento e a proliferação foram visivelmente menores, acompanhados de morte celular e menor diferenciação. Nota-se que os prolongamentos celulares são menores e os núcleos são pequenos e arredondados, alguns com aspecto picnótico (Figura 3,B).

Observou-se ainda que o maior tamanho de poro e a alta porosidade, são fatores determinantes para a migração e crescimento tridimensional das células nos *scaffolds*. Por isso, optamos por trabalhar com microfibras no lugar das nanofibras, Metcalfe (2007) propõem diâmetros de fibra entre 2 e 3  $\mu$ m visando a migração e o crescimento tridimensional (3D) das células, esses foram os diâmetros utilizados nos scaffolds com 12,5% (p/p) de PLGA (50:50) (METCALFE & FERGUSON, 2007).

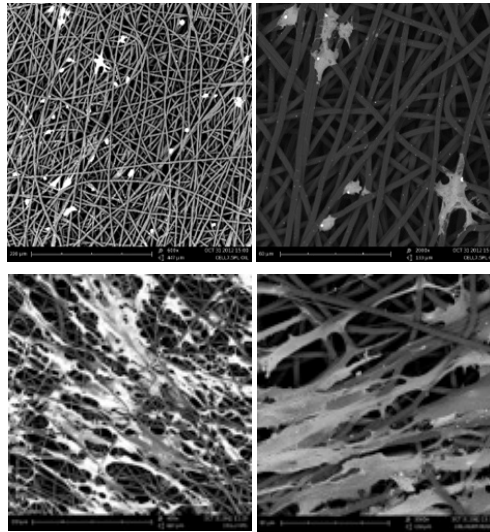


Figura 3: Micrografias de MEV. Fibroblastos de pulmão cultivados por 24 horas sobre os scaffolds de PLGA (50:50), A) primeira linha, fibras com óleo-resina de copaíba, B) segunda linha, fibras sem óleo-resina (método de coloração: Platinum blue). Fonte: The Electrospinning Company/UK/2012.

Confirmada a citocompatibilidade do biomaterial, com adesão, proliferação e diferenciação celular, novos paradigmas e questões surgiram na pesquisa, dentre eles a hipótese de que as células cultivadas estavam produzindo colágeno e, portanto, depositando uma nova matriz extracelular, fator de extrema importância para o desenvolvimento de substitutos de tecidos in vitro. Nas imagens da Figura 4 observa-se que além dos corpos celulares e dos prolongamentos citoplasmáticos dos fibroblastos, há redes de fibras e fibrilas delgadas de colágeno depositadas sobre toda a estrutura (Figura 4). Essas estruturas delgadas são birrefringentes em microscopia óptica de luz polarizada, característica da anisotropia do colágeno.

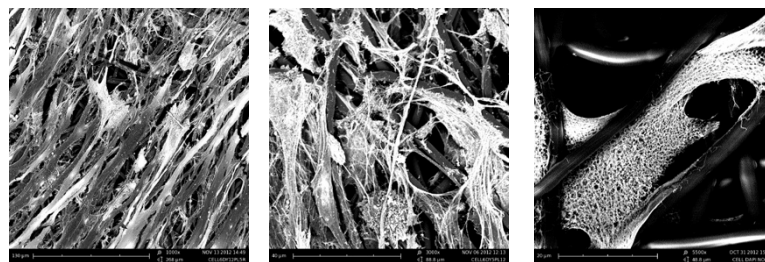


Figura 4: Micrografias de MEV. Fibroblastos cultivados por 6 dias sobre as matrizes de PLGA (50:50). Filamentos delgados e brancos indicando a presença de colágeno. Fonte: Imagens Phenom G2, Eindhoven, The Netherlands, The Electrospinning Company/UK, 2012.

A prova de que as células em poucos dias de cultivo estava produzindo colágeno é de extrema importância para a pesquisa que busca desenvolver substitutos de tecidos (MILLÁS, 2016). Em uma lesão grave, o colágeno, principal componente da matriz extracelular é totalmente perdido ou danificado. Durante a cicatrização e remodelação



do tecido lesado é imprescindível que essa matriz de colágeno seja reconstruída.

### Resultados dos ensaios in vivo (implantes)

Como discutido no item anterior, foi observada citotoxicidade do óleo-resina de copaíba nos ensaios in vitro, o mesmo não foi constatado nos ensaios in vivo. Com base nos resultados qualitativos obtidos, após 7 dias dos implantes em modelo animal, as amostras com óleo-resina de copaíba apresentaram maior angiogênese e maior formação de neotecido, que os implantes sem o óleo-resina (Figura 5).

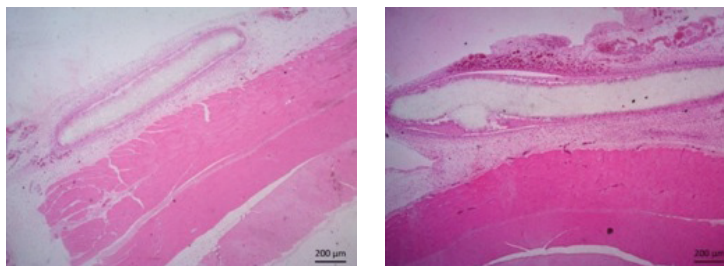


Figura 5: Imagens dos implantes subcutâneos (setas), material coletado após **7 dias** da cirurgia, A) *scaffolds* sem óleo-resina de copaíba, B) *scaffolds* com óleo-resina de copaíba. Técnica de coloração HE, MO (Fonte: Laboratório de Cirurgia do Prof. Dr. Ivan Koh/UNIFESP, 2016).

Levando em conta que as diferenças mais claras de resposta do hospedeiro são detectadas entre os 7 e 14 dias e que caso houvesse encapsulamento do implante, por resposta ao corpo estranho, ele apareceria em aproximadamente 2 semanas junto com muitos fibroblastos, e que em um mês uma camada fibrosa teria se formado em torno do implante (BADYLAK et al., 2011); nos ensaios in vivo nenhum scaffold foi encapsulado e não houve resposta inflamatória crônica (Figura 6). Com 28 dias não foram observados macrófagos, nem células gigantes de corpo estranho, também não ocorreu necrose, calcificação, tumorigênese ou qualquer tipo de infecção. O material além de ter demonstrado alta biocompatibilidade, se biointegrou ao tecido do hospedeiro. Nos scaffolds implantados nas duas regiões, intramuscular e subcutânea, observou-se regiões de infiltração celular e de tecido neoformado (Figura 6).

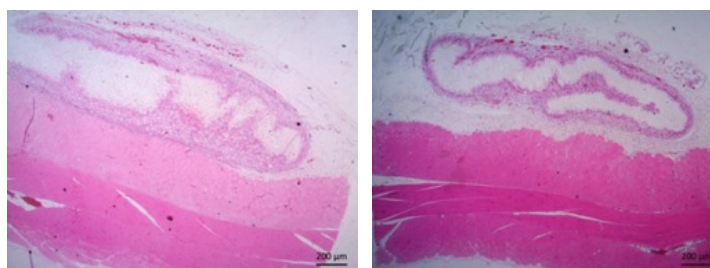


Figura 6: Imagens dos implantes subcutâneos, A) *scaffolds* sem óleo-resina de copaíba, B) *scaffolds* com óleo-resina de copaíba, após **28 dias** da cirurgia. Nos dois casos observa-se a biointegração e infiltração dos tecidos do animal no material implantado. Técnica de coloração HE, MO (Fonte: Laboratório de Cirurgia do Prof. Dr. Ivan Koh/UNIFESP, 2016).

## 4 | CONCLUSÕES

Os *scaffolds* gerados a partir do polímero poli(ácido láctico-co-glicólico) PLGA (50:50) com diâmetros entre 2 e 3  $\mu\text{m}$  demonstraram significativo potencial para aplicação como modelo *in vitro* e como substitutos alternativos para a regeneração de tecidos. Os implantes em modelo animal são biocompatíveis e se biointegraram aos tecidos subcutâneo e intramuscular dos animais.

Nos ensaios *in vivo* observou-se maior angiogênese, formação de neovasos dos implantes com a presença do óleo-resina de copaíba. No entanto, não notamos diferenças significativas entre os dois *scaffolds*, ambos demonstraram ser biocompatíveis, se biointegrando aos tecidos dos animais, houve infiltração celular e colágena tridimensional (3D) na estrutura porosa dos *scaffolds*.

Essa pesquisa caminha no sentido de combinar as técnicas de bioimpressão 3D (Figura 7) e eletrofiação para gerar estruturas mais complexas de tecidos. A tecnologia de bioimpressão 3D traz consigo capacidades únicas de prototipagem rápida, repetibilidade e alta precisão (WATANABE & ISHIHARA, 2003; OZBOLAT et al., 2017). Poucos, mas recentes trabalhos demonstraram, que a combinação das técnicas de electrospinning e bioimpressão merecem atenção especial, já que com elas é possível controlar propriedades nas escalas nano, micro e macro, construindo estruturas camada-a-camada, com porosidade, arquitetura interna, propriedades mecânicas, e capacidade de carga para substâncias como drogas e proteínas ajustáveis, aprimorando a resposta celular que orientará o ambiente para a melhor regeneração tecidual (LIU et al., 2014; YU et al., 2016; MELLOR et al., 2017).



Figura 7: Modelo Genesis de Bioimpressora 3D da startup *3D Biotechnology Solutions - 3DBS* (link: <https://www.3dbiotechnologysolutions.com>).

## 5 | AGRADECIMENTOS

Sinceros agradecimentos ao Prof. Dr. Benedito de Campos Vidal e ao aluno Eli Heber do Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela

colaboração na identificação do colágeno no material. À The Electrospinning Company/ UK, empresa onde parte da pesquisa de doutorado da PhD. Ana Millás foi realizada. Ao pesquisador Mohammed Yusuf do Research Complex em Harwell, Rutherford Appleton Laboratory na Inglaterra que colaborou com a técnica de coloração por platina. À FAPESP (Processo 2012/09110-0), CNPq e FAPEMIG.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON JM. Biological responses to materials. *Annu Rev Mater Res* 31:81–110. 2001.

BADYLAK SF, Brown BN, Gilbert TW, Daly KA, Huber A, Turner NJ. Biologic scaffolds for constructive tissue remodeling. *Biomaterials*. 2011; 32:316–9. [PubMed: 21125721]

BENTLEY TS, HANSON SG. U.S. organ and tissue transplant cost estimates and discussion. 2011.

BHARDWAJ N, KUNDU SC. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. 2010; 28:325–47. [PubMed: 20100560]33.

COSTA-LOTUFO LVC, CUNHA GM, FARIAS PA, VIANA GS, CUNHA KM, PESSOA C, MORAES MO, SILVEIRA ER, GRAMOSA NV & RAO VS. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. *Toxicol* 40 (8): 1231-234.2002.

DEITZEL, J. M., KLEINMEYER, J., HARRIS, D. AND TAN, N. C. B. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*. 42, pp. 261-272.2001.

DROBNY JG. Handbook of thermoplastic Elastomers. Norwich: Plastics Design Library; 2007. p.215-234.

FORMHALS, A. Process and apparatus for preparing artificial threads. US Patent. 1,975,504.1934.

GE, Z., TIAN, X., HENG, B. C., FAN, V., YEO, J. F. & CAO, T. Histological evaluation of osteogenesis of 3D-printed poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) scaffolds in a rabbit model. *Biomed. Mater.* 4, 021001. 2009.

HAN, J., Lazarovici, P., Pomerantz, C., Chen, X., Wei, Y. & Lelkes, P. I. Co-electrospun blends of PLGA, gelatin, and elastin as potential nonthrombogenic scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomacromol.* 2011.

HARRISON T. Globalization and the Trade in Human Body Parts. *Canadian Review*. 1999.

AYASHI, T. Biodegradable Polymers for Biomedical Uses. *Progress in Polymer Science*, p.19. 1994.

Heydarkhan-Hagvall S, Schenke-Layland K, Dhanasopon Ap, Rofail F, Smith H, WU BM. Three-dimensional electrospun ECM-based hybrid scaffolds for cardiovascular tissue engineering. *Biomaterials*. 2008; 29:2907–14.

HUANG, W., SHI, X., REN, L., DU, C. & WANG, Y. PHBV microspheres-PLGA matrix composite scaffold for bone tissue engineering. *Biomaterials* 31, 4278–4285. 2010.

Ji, W.; Sun, Y.; Yang, F.; Beucken, J.J.J.P.; Fan, M.; Chen, Z. Bioactive Electrospun Scaffolds Delivering Growth Factors and Genes for Tissue Engineering Applications. *Expert Review*. Springerlink. P. 1261. 2011.

- LANGER R, TIRRELL D.A. Designing materials for biology and medicine. *Nature*. P.428:487-492. 2004.
- LANGER R. & VACANTI J.P., Tissue engineering, *Science* 260. 920 – 926. 1993.
- LI, J. et al. 3D PLGA scaffolds improve differentiation and function of bone marrow mesenchymal stem cell-derived hepatocytes. *Stem Cells Dev*. 19, 1427 – 1436. 2010.
- LI, X. K. et al. Characteristics of PLGA-gelatin complex as potential artificial nerve scaffold. *Colloid Surf. B* 57, 198 – 203. 2007.
- LIU, YUANYUAN; XIANG KE; LI, YU; CHEN, HAIPING; HU, QINGXI. Combining 3D Printing and Electrospinning for the Fabrication of a Bioabsorbable Poly-p-dioxanone Stent. *J. Cha et al. (Eds.)*. 2014.. doi:10.3233/978-1-61499-440-4-343
- Luu, Y.K., Kim, K., Hsiao, B.S., Chu, B. And Hadjiargyrou, M. Development of a nanostructured DNA delivery scaffold via electrospinning of PLGA and PLA-PEG block copolymers. *J. Control Release* 89:341-353.2003.
- MA, P. X. & Choi, J. W. Biodegradable polymer scaffolds with well-defined interconnected spherical pore network. *Tissue Eng*. 7, 23 – 33. 2001.
- MA, P.X., & LANGER, R. Degradation, structure and properties of fibrous nonwoven poly(glycolic acid) scaffolds for tissue engineering. In: Mikos, A.G., Leong, K.W., Radomsky, M.L., Tamada, J.A., and Yaszemski, M.J., eds. *Polymers in Medicine and Pharmacy*. Pittsburgh: MRS, 1995, pp. 99–104.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C. & VEIGA, V.E. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 23: 429-438.2002.
- MARINHO, Alexandre. Um estudo sobre as filas para transplantes no Sistema Único de Saúde brasileiro. *Cad. Saúde Pública* [online]. 2006, vol.22, n.10, pp. 2229-2239. ISSN 0102-311X.
- MELLOR et al. Fabrication and Evaluation of Electrospun, 3D-Bioplotting, and Combination of Electrospun/3D-Bioplotting Scaffolds for Tissue Engineering Applications. *Hindawi BioMed Research International* Volume 2017, ID do artigo 6956794, <https://doi.org/10.1155/2017/6956794>
- METCALFE AD, FERGUSON MW. 2007. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *J. R. Soc. Interface* 4:413–37
- MILLÁS, A.L.G., R. Mckean, R. Stevens, M. Yusuf, J.V.W. Silveira, M.B. Puzzi, E. Bittencourt. Fabrication of electrospun scaffolds incorporating an Amazonian therapeutic oil from the *Copaifera* Sp. for wound care applications. *J Biomater Tissue Eng*. 2014. 4:217-220.
- MILLAS, A.L.G.; SILVEIRA J.V.W., BITTENCOURT E. Title of Invention: Adhesion and proliferation of fibroblasts on nano and microfibers embedded with natural oils of the Amazon. INOVA / UNICAMP/ BRAZIL. (2012). BR13201302310. INPI - Instituto Nac. da Prop. Industrial.
- MILLÁS, ANA LUIZA G. MASSAGUER. Tese de Doutorado: Avaliação de propriedades in vitro e in vivo de scaffolds de plga incorporados com óleo-resina de Copaíba preparada por eletrofição. Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP. 2016.
- NGUYEN, D. G., Funk, J., Robbins, J. B., Crogan-Grundy, C., Presnell, S. C., SINGER, T., et al. Bioprinted 3D primary liver tissues allow assessment of organ- level response to clinical drug induced toxicity in vitro. *PLoS ONE* 11:e0158674. 2016. doi:10.1371/journal.pone.0158674

OZBOLAT, I. T.; Moncal, Kazim K.; Gudapati, HemantH. Evaluation of bioprinter Technologies. Additive Manufacturing. Volume 13, Pages 179–200. 2017.

PAIVA LA, GURGEL LA, CAMPOS AR, SILVEIRA ER & RAO VS. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. Life Sciences 75 (16): 1979-87.2004.

Pan, Z & Ding, J. Poly(lactide-co-glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. Interface Focus 2, 366–377. 2012.

RAMAKRISHNA, S., FUJIHARA, K., TEO, W.-E., LIM, T.-C., MA, L., MA., Z. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. World Scientific Publishers, Singapore, 2005.

RATNER BD. Biomaterials science: an introductions to materials in medicine. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 484 pp. 1996.

RENEKER, D. H., CHUN, I. Nanometer diameter fibres of polymer, produced by electrospinning, Nanotechnology, v. 7, p. 216-223, 1996.

SICARI, B., TURNER N., BADYLAK S. An In Vivo Model System for Evaluation of the Host Response to Biomaterials. Chapter 1. Wound Regeneration and Repair: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1037, 2013.

SILVA J.J.L., Guimaraes Sb, Silveira Er, Vasconcelos Pr, Lima Gg; Torres Sm & Vasconcelos Rc. Effects of *Copaifera langsdorffii* Desf. on ischemia-reperfusion of randomized skin flaps in rats. Aesthetic Plastic Surgery 33 (1): 104-109.2009.

SIMPSON DG, BOWLIN GL. Tissue-engineering scaffolds: can we re-engineer mother nature? Expert Review of Medical Devices. 2006; 3:9–15.

Soliman S, Sant S, Nichol Jw, Khabiry M, Traversa E, Khademhosseini A. Controlling the porosity of fibrous scaffolds by modulating the fiber diameter and packing density. J Biomed Mater Res A 2011;96(3):566–74.

VEIGA JR, *Copaifera multijuga* Hayne, in the earlier phytochemical studies with this species (Delle Monache et al., 1969, 1970).

V.F. et al./Journal of Ethnopharmacology 112 (2007) 248–254 .

VEIGA JR, V.F.; PINTO, A.C. O Gênero *Copaifera* L. Química nova, v.25, n.2, p.273-86, 2002.

Vendramin F.S.; Franco D.;Nogueira C.M.; Pereira M.S.; Franco T.R. Platelet-rich plasma and growth factors: processing technique and application in plastic surgery. Rev. Col. Bras. Cir. 2006.

WATANABE, J. & ISHIHARA, Phosphorylcholine and poly(D,L-lactic acid) containing copolymers as substrates for cell adhesion, Artif. Organs 27,24–248. 2003.

WILLIAN, D. F. Definitions in Biomaterials. New York, Elsevier. 61p. 1987. Xiong, Y. et al. Synaptic transmission of neural stem cells seeded in 3-dimensional PLGA scaffolds. Bio- materials 30, 3711 – 3722. 2009.

Yang, J., Bei, JZ & Wang, SG. Enhanced cell affinity of poly (D,L-lactide) by combining plasma treatment with collagen anchorage. Biomaterials 23, 2607–2614. 2002.

YANG, Y., Tang, G., Zhang, H., Zhao, Y., Yuan, X., Wang, M. & Yuan, X. Controllable dual-release of dexamethasone and bovine serum albumin from PLGA/ b-tricalcium phosphate composite scaffolds.

J. Biomed. Mater. Res. Part B Applied Biomat. 96B, 139 – 151..2011.

YOU Y.; Lee, S.J.; Min Bm.; Park, W.H.. Effect of Solution Properties on Nanofibrous Structure of Electrospun Poly(lactic-co-glycolic acid). Journal of Applied Pol. Science, Vol. 99, 1214–1221 2006.

YUSUF, M. ; Millas A. L. G. ; Estandarte, A. K. C. ; Bhella, G. K. ; R. Mckean ; Edison Bittencourt ; ROBINSON, I. K. . Platinum blue staining of cells grown in electrospun scaffolds. BioTechniques . 2014.

ZELTINGER J, Sherwood Jk, Graham Da, Mueller R, Griffith Lg. Effect of pore size and void fraction on cellular adhesion, proliferation, and matrix deposition. Tissue Engineering. 2001.

ZHANG, Z.; HU, J.; MA, P.X. Nanofiber-based delivery of bioactive agents and stem cells to bone sites. Advanced Drug Delivery Reviews 64 (2012) 1129–1141.

ZHONG S, ZHANG Y, LIM CT. Fabrication of large pores in electrospun nanofibrous scaffolds for cellular infiltration: a review. Tissue Eng Part B: Rev 2011;18(2):77–87.

ZHANG, Y. S., Duchamp, M., Oklu, R., Ellisen, L. W., Langer, R., And Khademhosseini, A. Bioprinting the cancer microenvironment. ACS Biomater. Sci. Eng. 2, 1710–1721. 2016. doi:10.1021/acsbiomaterials.6b00246

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

