



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS (*P²CEM*)**

P²CEM

JAQUELINE DOS SANTOS FERRO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *SCAFFOLDS* MAGNÉTICOS À
BASE DE QUITOSANA-HIDROXIAPATITA COM INCLUSÃO DE MANGANITA DE
LANTÂNIO DOPADA COM ESTRÔNCIO PARA USO NA ENGENHARIA TECIDUAL
ÓSSEA**

SÃO CRISTÓVÃO, SE - BRASIL

NOVEMBRO DE 2022

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *SCAFFOLDS* MAGNÉTICOS À BASE DE
QUITOSANA-HIDROXIAPATITA COM INCLUSÃO DE MANGANITA DE LANTÂNIO
DOPADA COM ESTRÔNCIO PARA USO NA ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA

JAQUELINE DOS SANTOS FERRO

ORIENTADOR: PROF^a. DR^a CRISTIANE XAVIER RESENDE

CO-ORIENTADOR: PROF^a. DR^a DÉBORA DOS SANTOS TAVARES

SÃO CRISTÓVÃO, SE - BRASIL

NOVEMBRO DE 2022

“DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE SCAFFOLDS MAGNÉTICOS À BASE DE QUITOSANA-HIDROXIAPATITA COM INCLUSÃO DE MANGANITA DE LANTÂNIO DOPADA COM ESTRÔNCIO PARA USO NA ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA”

Jaqueline dos Santos Ferro

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS.

Aprovada por:



Profa. Dra. Cristiane Xavier Resende



Prof. Dr. Nilson dos Santos Ferreira



Prof. Dr. Euler Araújo Dos Santos

SÃO CRISTÓVÃO, SE – BRASIL

Novembro/2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

F395d Ferro, Jaqueline dos Santos
Desenvolvimento e caracterização de *scaffolds* magnéticos à base de quitosana-hidroxiapatita com inclusão de manganita de lantânio dopada com estrôncio para uso na engenharia tecidual óssea / Jaqueline dos Santos Ferro ; orientadora Cristiane Xavier Resende. – São Cristóvão, SE, 2022.
78 f. : il.

Dissertação (mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Sergipe, 2022.

1. Engenharia de materiais. 2. Hidroxiapatita. 3. Manganita. 4. Lantânio. 5. Estrôncio. 6. Quitosana. I. Resende, Cristiane Xavier, orient. II. Título.

CDU 620.1

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela dádiva da vida, por Seu infinito amor, graça e misericórdia, por Sua presença que sempre me guiou, sustentou e nunca me abandonou. Obrigada Senhor.

Aos meus Pais e irmãos pelo amor, incentivo, apoio e compreensão ao longo da caminhada. Amo muito vocês.

À Profa. Dra. Cristiane Xavier Resende e à Profa. Dra. Debora Tavares pela orientação, dedicação, ajuda, paciência e compreensão. Muito Obrigada.

À Prof. Dra. Valdeci Bosco pelas contribuições e colaborações nesta pesquisa.

Aos Amigos e colegas do Laboratório de Biomateriais pelo companheirismo e ajuda em vários momentos. Obrigada a todos.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais pelas contribuições.

À Dra. Roberta Menezes do Laboratório de Química Multiusuários pela colaboração e suporte nas análises termogravimétricas.

Ao Núcleo de Energias Renováveis e Eficiência Energética de Sergipe-NEREEES por terem disponibilizado equipamentos e materiais para as análises de FTIR.

RESUMO

A engenharia tecidual óssea tem como objetivo regenerar tecidos danificados, sendo comum o uso de estruturas tridimensionais denominadas de *scaffolds*. Esses, por sua vez, devem apresentar uma estrutura porosa, além de permitir a adesão e proliferação de células ósseas. Em geral, a matriz do *scaffold* é constituída por um polímero biodegradável em combinação com um material cerâmico, originando um material compósito. Mais recentemente, observou-se uma demanda por *scaffolds* mais inteligentes e efetivos. Por essa razão, a inclusão de partículas magnéticas aos *scaffolds* tem despertado significativo interesse em aplicações biomédicas, especialmente por aumentar a diferenciação osteogênica, a angiogênese e a regeneração óssea. Nesse trabalho foram produzidos e caracterizados *scaffolds* de quitosana-hidroxiapatita com inclusão de manganita de lantânio dopadas com estrôncio (Qui/HA/Manganita). Os pós de manganita de lantânio (LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$) e de estrôncio (SrMnO_3), de hidroxiapatita e os *scaffolds* Qui/HA/Manganita, com diferentes composições, foram caracterizados usando as técnicas de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raio X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Além disso, os *scaffolds* também foram caracterizados em relação a sua porosidade, resistência a compressão, propriedades magnéticas e estabilidade térmica, usando a técnica de Análise Termogravimétrica (TGA). As análises de DRX mostraram que a hidroxiapatita foi precipitada com estrutura hexagonal e como fase única, enquanto que as manganitas de lantânio cristalizaram na estrutura da perovskita romboédrica e a manganita de estrôncio apresentou uma estrutura hexagonal em fase única. Pela análise das micrografias observou-se a presença de poros abertos e com tamanho na faixa de 50-310 μm , que é adequado para permitir a infiltração de células ósseas. As manganitas, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, apresentaram magnetização, independentemente de estar na forma de pó ou de *scaffold*. A maior resistência à compressão foi observada para o *scaffold* Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, cujo valor foi de 4,34 MPa. Pela análise termogravimétrica observou-se uma perda de massa maior para o *scaffold* Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$, 49%, que foi associada a quitosana. Por fim, os *scaffolds* magnéticos de quitosana-hidroxiapatita-manganita de lantânio dopada com estrôncio podem ser promissores no tratamento de perdas ósseas.

Palavras-chave: hidroxiapatita, manganita de lantânio, estrôncio, quitosana, *scaffold*.

ABSTRACT

Bone tissue engineering aims to regenerate damaged tissues, and the use of three-dimensional structures such as *scaffolds* is an important advent in this field. These, in turn, must have a porous structure, to allow the adhesion and proliferation of bone cells. In general, the *scaffold* matrix consists of a biodegradable polymer combined with a ceramic material for producing composites. More recently, there has been much interest in producing smarter and more effective *scaffolds*. Hence, the addition of magnetic particles into *scaffolds* has gained significant interest in biomedical applications, since it increases osteogenic differentiation, angiogenesis and bone regeneration. In this work strontium-doped or not lanthanum manganite chitosan-hydroxyapatite *scaffolds* were produced and characterized (Qui/HA/Manganite). The powders of lanthanum manganite (LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$), and strontium SrMnO_3 , hydroxyapatite and *scaffolds* Qui/HA/Manganite with different compositions, were characterized using Fourier Transform Spectroscopy (FTIR), X-ray Diffraction (XRD) and Scanning Electron Microscopy (SEM). In addition, the *scaffolds* were also characterized in terms of porosity, compressive strength, magnetic properties and thermal stability, the last using Thermogravimetric Analysis (TGA) technique. The XRD analysis showed that the sample contained a single-phase HA with a hexagonal structure, the lanthanum manganite sample exhibited a rhombohedral perovskite structure and the strontium manganite presented a single-phase hexagonal structure. Micrograph analysis showed the presence of open pores and their size ranged from 50 to 310 μm , which favors bone cells penetration. The manganites ($\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ and $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$) presented magnetization in both forms (powder and *scaffold*). The highest compressive strength was observed for Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ *scaffold* (4.34 MPa). There was a higher mass loss for Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ *scaffold* (49%), mainly associated with chitosan (TGA analysis). Finally, magnetic strontium-doped lanthanum manganite chitosan-hydroxyapatite *scaffolds* may be promising for bone loss therapy.

Keywords: hydroxyapatite, lanthanum manganite, strontium, chitosan, *scaffold*.

SUMÁRIO

RESUMO.....	IV
ABSTRACT	V
CAPÍTULO I	08
1. INTRODUÇÃO	08
CAPÍTULO II.....	12
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	13
2.1 Objetivos Específicos	13
CAPÍTULO III	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
3.1 Engenharia Tecidual Óssea	15
3.2 Magnetismo	17
3.3 Nanopartículas magnéticas	21
CAPÍTULO IV	23
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
4.1 Manganita de lantânio dopada com estrôncio	24
4.2 <i>Scaffolds</i> magnéticos	26
4.3 <i>Scaffolds</i> Quitosana/Hidroxiapatita	30
CAPÍTULO V	34
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
5.1 Preparação dos pós cerâmicos	35
5.1.1 Síntese de Hidroxiapatita	35
5.1.2 Síntese de Manganita.....	35
5.2 Preparação dos <i>Scaffold</i>	36
5.3 Neutralização e Reticulação dos <i>Scaffolds</i>	37
5.4 Caracterização Físico-Química	37

5.4.1	Análise por Difração de Raios X (DRX)	37
5.4.2	Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	38
5.4.3	Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	38
5.4.4	Análise do Tamanho de poro	38
5.4.5	Análise das Medidas magnéticas	38
5.4.6	Resistência à compressão	39
5.4.7	Análise termogravimétrica (TGA)	39
5.4.8	Análise estatística	39
CAPÍTULO VI.....		40
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO		40
6.1	Análises das amostras em pó	41
6.1.1	Caracterização por DRX	41
6.1.2	Caracterização dos Pós por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	45
6.2	Análises dos <i>Scaffolds</i>	49
6.2.1	Caracterização dos <i>scaffolds</i> por DRX	49
6.2.2	Caracterização dos <i>scaffolds</i> por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	50
6.2.3	Caracterização dos <i>scaffolds</i> por MEV	51
6.2.3.1	Porosidade	54
6.2.4	Análise das Medidas Magnéticas	57
6.2.5	Resistência à compressão	61
6.2.6	Análise termogravimétrica (TGA)	63
CAPÍTULO VII.....		66
7. CONCLUSÃO.....		66
CAPÍTULO VIII		68
REFERÊNCIAS		68

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O osso é um tecido que passa por uma remodelação constante no decorrer da vida do ser humano, tendo como função a locomoção, o suporte de carga e proteção de órgãos vitais. Contudo, traumas, tumores, deformidades, degenerações e o próprio envelhecimento populacional têm causado danos ósseos com consequentes morbidades. Isso aumentou a demanda por avanços científicos e tecnológicos na área da engenharia tecidual óssea, visto que defeitos ósseos graves precisam ser reparados com a utilização de enxertos ósseos, naturais ou sintéticos, a fim de facilitar o processo de reparo ósseo (SARAVANAN *et al.*, 2013, WU *et al.*, 2014, ORYAN *et al.*, 2018, BABAEI *et al.*, 2019).

Há pontos limitantes no que se refere ao uso de enxertos autólogo, homólogo e heterólogo, como a falta de doadores e infecções pós-cirúrgicas, o que têm contribuído para o aumento do uso de biomateriais de origem natural ou sintética como substitutos ósseos, fomentando a pesquisa na engenharia tecidual óssea (SARAVANAN *et al.*, 2013, WU *et al.*, 2014, ORYAN *et al.*, 2018, BABAEI *et al.*, 2019). Os enxertos sintéticos, por sua vez, devem ser produzidos a partir de biomateriais que apresentem alguns requisitos como: biocompatibilidade, biodegradabilidade, ser atóxico (sem danos locais ou sistêmicos) e ser esterilizável (MARCONE *et al.*, 2020).

A engenharia tecidual óssea consiste na substituição e regeneração de tecidos danificados. Com destaque para o uso de arcabouços tridimensionais (*scaffolds*), que devem estimular o crescimento de células e de um novo tecido na região lesionada (ROLIM *et al.*, 2018, SHI *et al.*, 2019). O *scaffold* deve ter uma estrutura porosa, sendo obtido a partir de materiais biocompatíveis e biodegradáveis. Ainda, deve apresentar propriedades físicas, químicas e mecânicas adequadas para proporcionar a adesão, proliferação e diferenciação celular, com consequente formação de um novo tecido. O *scaffold* também deve apresentar características similares à do tecido a ser substituído, favorecendo o reparo do mesmo (BABAEI *et al.*, 2019).

Duas classes de materiais são amplamente utilizadas para produção de *scaffolds* para uso como enxerto ósseo: os polímeros e as cerâmicas. Isso porque o osso natural é um composto constituído de materiais orgânicos (polímeros em grande parte) e inorgânicos (tendo a hidroxiapatita como a principal cerâmica), assim, materiais compostos têm atraído a atenção de pesquisadores. Os polímeros simulam a parte

orgânica da matriz extracelular conferindo ductilidade, enquanto que a cerâmica simula a parte inorgânica dessa matriz, aumentando a resistência a compressão e bioatividade do compósito, além de proporcionar proteção ao ambiente ácido causado por produtos de degradação.

Nos últimos anos, observou-se uma demanda por *scaffolds* mais inteligentes e efetivos, ou seja, que respondam a algum tipo de estímulo: físico, magnético, elétrico ou mecânico (GE *et al.*, 2019; TANASA *et al.*, 2020). Por essa razão, a inclusão de nanopartículas magnéticas a sistemas de *scaffold* tem ganhado destaque. Além disso, os *scaffolds* magnéticos podem carrear substâncias solúveis, como fatores de crescimento, hormônios e polipeptídeos diretamente para o local de implantação, além de melhorar a fixação do implante e sua estabilidade. A ativação magnética, pela aplicação de um campo externo, pode ser usada para transportar/manter os fatores de crescimento específicos no local da lesão (RUSSO *et al.*, 2018), além de aumentar a diferenciação osteogênica, a angiogênese e a regeneração óssea, melhorando a integração do implante ao tecido, elevando a densidade mineral do osso, com boa biocompatibilidade e estabilidade a longo prazo. As partículas magnéticas são utilizadas também em diagnósticos médicos como agente de contraste para obtenção de imagem por ressonância magnética e no tratamento oncológico como agente de hipertermia (XIA *et al.*, 2018, BABAEI *et al.*, 2019).

Em relação aos sistemas constituídos por nanopartículas magnéticas incorporadas aos *scaffolds* de hidroxiapatita (HA), verificou-se que o campo magnético modifica a composição das proteínas e ativa eficientemente a via de sinalização celular, favorecendo ainda mais o reparo ósseo, através do aumento da proliferação dos osteoblastos, células responsáveis pela síntese e mineralização da matriz óssea, juntamente com o aumento da solubilidade da HA em meio fisiológico (HEIDARI *et al.*, 2016; ORTOLANI *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2019; TORGBO; SUKYAI, 2019 e SHUAI *et al.*, 2020). Entretanto, a biocompatibilidade *in vivo* e o potencial osteocondutor desses *scaffolds* não foram completamente elucidados (HEIDARI *et al.*, 2016; RUSSO *et al.*, 2018).

Dentre os diferentes tipos de nanopartículas magnéticas, a magnetita (Fe_3O_4) é o único óxido metálico aprovado pelo Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos -Food and Drug Administration (FDA)- para uso clínico e aplicações biomédicas. Isso se deve a suas propriedades paramagnéticas, excelente biocompatibilidade e atoxicidade, alta rigidez e resistência específica (SHUAI *et al.*, 2020). No entanto, a manganita de lantânio tem despertado significativo interesse em aplicações biomédicas por suas propriedades eletrônicas e magnéticas, sendo investigadas

no tratamento oncológico, como agente de contraste para imagens diagnósticas e na liberação de fármacos, porém poucos estudos abordam a sua utilização na engenharia tecidual (PANSERI *et al.*, 2012, KULKARNI *et al.*, 2015, KANDASAMY, 2019). Os íons de estrôncio (Sr) são os principais dopantes na formação de nanopartículas de manganita de lantânio. Estudos mostram que as nanopartículas magnéticas de manganita de lantânio dopada com estrôncio apresentam propriedades promissoras em aplicações médicas e biológicas devido as suas propriedades eletrônicas e magnéticas (KULKARNI, *et al.* 2015; KANDASAMY, 2019).

Apesar de várias pesquisas estudarem a eficácia dos *scaffolds* na regeneração tecidual óssea, a inserção de nanopartículas magnéticas no desempenho desses *scaffolds* constitui uma área recente e, portanto, com diversas lacunas, especialmente em relação as caracterizações físico-química dessas nanopartículas e dos seus efeitos biológicos e mecânicos. Portanto, o presente trabalho tem como objetivo sintetizar e caracterizar físicoquimicamente os pós de manganita de lantânio (LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$), manganita de estrôncio (SrMnO_3) e de hidroxiapatita (HA), assim como os *scaffolds* de quitosana-hidroxiapatita com inclusão de manganita de lantânio dopada com estrôncio, através das técnicas de Espectroscopia do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raio X (DRX) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Além de caracterizar os *scaffolds* em relação a sua porosidade, resistência a compressão, propriedades magnéticas e estabilidade térmica, através de Análise Termogravimétrica (TGA).

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2. 1 Objetivo Geral

Produzir e caracterizar *scaffolds* de quitosana-hidroxiapatita com inclusão de nanopartículas magnéticas de manganita de lantânio dopada com estrôncio para utilização na regeneração óssea.

2. 2 Objetivos Específicos

- Sintetizar a hidroxiapatita pelo método de co-precipitação em soluções aquosas para utilização na produção dos *scaffolds*;
- Sintetizar os pós de manganita de lantânio dopada com estrôncio (LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$, SrMnO_3), pelo método sol-gel para utilização na produção dos *scaffolds*;
- Produzir os *scaffolds* de Qui/HA/Manganita dopada com estrôncio (Qui/HA/ LaMnO_3 , Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$, Qui/HA/ SrMnO_3);
- Avaliar os *scaffolds* quanto as suas propriedades físico-químicas e morfológicas através da caracterização por FTIR, DRX, MEV e TGA;
- Determinar o tamanho dos poros dos *scaffolds* através de um software, ImageJ, para estudo de propriedades morfológicas e mecânicas.
- Analisar as propriedades magnéticas dos pós e *scaffold*;
- Avaliar as propriedades mecânicas através da análise de resistência a compressão dos *scaffolds*.

CAPÍTULO III
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Engenharia Tecidual Óssea

O osso é um compósito natural, que desempenha diversas funções fisiológicas e estruturais no corpo humano. É constituído de 69% de fosfato de cálcio (principalmente a hidroxiapatita), 21% de colágeno, 9% de água e 1% de outras substâncias (PIGHINELLI, KUCHARSKA, 2013, SARAVANAN *et al.*, 2013). O tecido ósseo divide-se em: tecido ósseo cortical (denso) e tecido trabecular ou esponjoso (estrutura porosa). No osso cortical a matriz de colágeno aparece em forma de lamelas concêntricas envolvida por um canal vascular central, o sistema de Havers, conectando-se com a cavidade medular óssea, os canais de Volkmann. A parte externa é revestida por uma membrana denominada perióstio, e a parte interna pelo endeóstio que têm a função de nutrir o osso, além de proporcionar osteogênese. O osso esponjoso armazena a medula óssea vermelha. Os componentes celulares ósseos permitem uma constante remodelação neste tecido, como: osteoblastos, células formadoras de diversos componentes da matriz; osteoclastos, células reabsortivas da matriz mineralizada, sendo ambos responsáveis pela remodelação óssea; e osteócitos, células ósseas maduras. A hidroxiapatita (biocerâmica) é encontrada depositada na forma de cristais na matriz de colágeno (biopolímero) (ISOLA, CASTRO, 2012, SARAVANAN *et al.*, 2013).

A engenharia tecidual visa a produção de *scaffolds* porosos tridimensionais e biodegradáveis, para formação da matriz extracelular, que permitam o suporte, proliferação, diferenciação e adesão de células. Ela tem como finalidade desenvolver materiais para reparar ou substituir tecidos (HE *et al.*, 2014, PRZEKORA *et al.*, 2016). A incumbência da engenharia tecidual é produzir um *scaffold* com propriedades químicas, biológicas e mecânicas adequadas para integração com os tecidos circundantes. Muitos materiais sintéticos e naturais vêm sendo estudados para essa finalidade, incluindo, principalmente, polímeros, biovidro, cerâmicas e materiais compósitos (PIGHINELLI, KUCHARSKA, 2013).

A engenharia tecidual óssea trouxe novas perspectivas e linhas de pesquisas, conforme as necessidades e exigências foram desenvolvidas diferentes gerações de materiais com características físico-químicas e morfológicas para desencadear sinais bioativo com resposta a estímulos. A primeira geração de materiais foram dos bioinertes,

o desenvolvimento buscava o desempenho mecânico, as reações citotóxicas e imunológicas no organismo eram pouco conhecidas; a segunda geração focou no desenvolvimento de materiais biocompatíveis e biodegradáveis para a regeneração tecidual, a terceira objetivou o desenvolvimento de materiais que estimulem respostas celulares específicas, utilizando a combinações de células, *scaffolds* e biomoléculas para regeneração óssea. *Scaffolds* são biomatrizes tridimensionais sintéticas utilizadas como implantes para promover o crescimento e remodelação de tecidos. Durante a formação do tecido o *scaffold* permite um suporte mecânico e vascular provisório para a regeneração tecidual. Com isso é preciso pré-definir a composição e morfologia do *scaffold*, com porosidade apropriada, para manter, reparar ou melhorar funções dos tecidos (OLIVEIRA *et al.*, 2015, GHASSEMI *et al.*, 2018).

Recentemente, a utilização de *scaffolds* magnéticos na engenharia de tecidos tem atraído amplo interesse, os quais devem proporcionar biocompatibilidade, boa interação com as células permitindo a sua penetração na sua estrutura tridimensional; sustentar o crescimento celular e a sua diferenciação; permitir a difusão de fatores de crescimento e nutrientes pela sua estrutura. Além de não produzir imunogenicidade ou resposta inflamatória adversa; ter estabilidade mecânica, suportando as cargas durante a regeneração tecidual e boa biodegradabilidade, com substituição por tecido neoformado. A porosidade, tamanho dos poros, orientação dos poros interconectados e o formato estrutural do *scaffold* também são fatores importantes para uma regeneração óssea favorável (WU *et al.*, 2014, GHASSEMI *et al.*, 2018, GE *et al.*, 2019, TANASA *et al.*, 2020).

As biomatrizes, consideradas ideais, apresentam uma estrutura similar a matriz extracelular. Além disso, sabe-se que a bioquímica e a topografia de superfície determinam a adesão, proliferação e diferenciação celular. Estas se assemelham a força, rigidez e as características mecânicas do osso, para favorecer a regeneração desse tecido. As matrizes ósseas produzidas a partir de polímeros naturais ou artificiais utilizadas para a regeneração óssea, exibem baixa integridade e estabilidade diminuindo suas aplicações clínicas. Um método utilizado para modificar essas propriedades mecânicas e biológicas é a ligação cruzada, por indução química ou ligação física entre cadeias poliméricas. Adicionalmente, as propriedades mecânicas desses *scaffolds* tridimensionais têm sido reforçadas, através da mistura de quantidades adequadas de materiais orgânicos como a quitosana e inorgânicos como a hidroxiapatita (WU *et al.*, 2014, ORYAN *et al.*, 2018).

3.2 Magnetismo

Os materiais são compostos por átomos com vários elétrons, que giram sobre seu próprio eixo e move-se em sua própria órbita. O movimento do elétron pode ser do tipo orbital ou de *spin*, e cada um possui um momento magnético associado a ele. O momento magnético orbital resulta do movimento orbital dos elétrons em torno do núcleo atômico, e o momento magnético de spin resulta dos elétrons sobre seu próprio eixo. Os domínios magnéticos são regiões do material que os momentos magnéticos se ordenam e formam uma magnetização espontânea (DIAS, 2014).

O momento magnético é definido como a força do campo magnético ligada ao elétron. Os elétrons têm dois momentos magnéticos, para cima e para baixo, emparelhados na maioria dos átomos, com isso os momentos magnéticos para cima e para baixo se anulam. As propriedades magnéticas dos materiais estão associadas aos momentos magnéticos de elétrons das camadas incompletas dos átomos. O comportamento magnético é obtido pela resposta de seus dipolos e pela interação entre eles. Os materiais magnéticos geram um campo magnético mesmo na ausência de uma corrente elétrica macroscópica (FILHO, 2014).

O ordenamento e o comportamento dos momentos do material determinam o estado magnético e a magnetização ocorre através da orientação dos momentos magnéticos pela interação entre o campo magnético e o material magnético. A susceptibilidade é a resposta da magnetização a aplicação de um campo magnético externo que caracteriza os materiais magnéticos como: diamagnéticos, paramagnéticos, ferromagnéticos, antiferromagnéticos e ferrimagnéticos, propriedades apresentadas a seguir (Figura 1) (DIAS, 2014, JESUS, 2018).

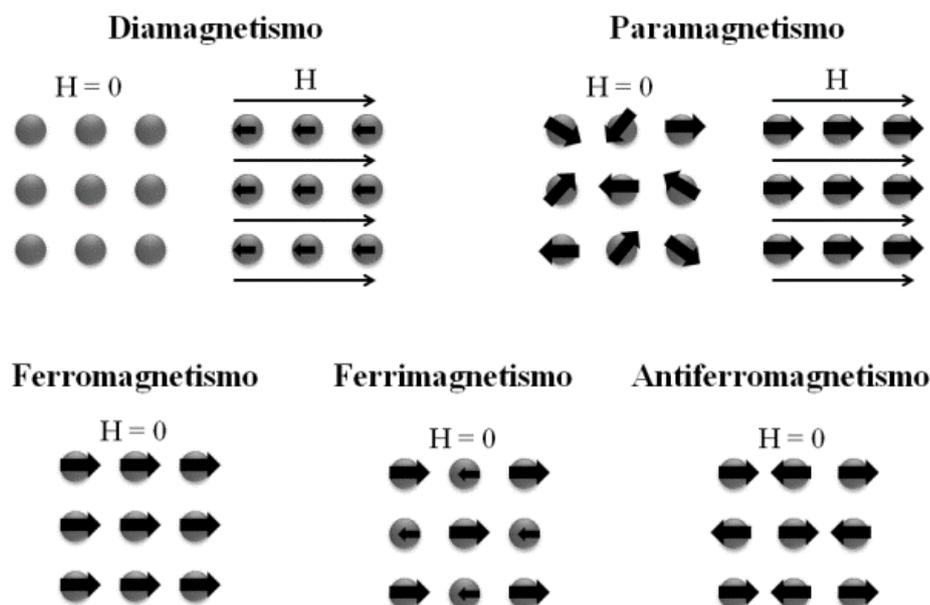


Figura 1. Comportamentos magnéticos dos materiais (DIAS, 2014)

Os materiais diamagnéticos, apresentam susceptibilidade magnética reduzida e negativa, quando aplicado um campo magnético e a magnetização induzida é contrária ao campo aplicado. A ação do campo magnético no movimento orbital diminui a corrente efetiva da órbita, produzindo um momento magnético que se opõe ao campo magnético aplicado (FILHO, 2014, JESUS, 2018).

Nos materiais paramagnéticos, os átomos apresentam momentos magnéticos orientados aleatoriamente na ausência de um campo aplicado. Quando um campo magnético externo é aplicado, esses momentos tendem a alinhar-se paralelamente na direção do campo, a susceptibilidade magnética é diferente de zero, positiva. O paramagnetismo desaparece quando se remove o campo magnético aplicado (DIAS, 2014, JESUS, 2018).

Outro tipo de materiais são os ferromagnéticos, que apresentam orientação dos momentos magnéticos mesmo na ausência do campo magnético aplicado, o alinhamento é espontâneo. Isto permite um elevado nível de magnetização, resultando em susceptibilidade magnética alta e positiva, devido aos momentos magnéticos serem todos alinhados na mesma direção. Nos tipos de magnetismo anteriormente mencionados, a magnetização apenas permanece enquanto se mantiver o campo. Já no ferromagnetismo, quando o campo aplicado é removido, o material conserva grande parte da magnetização. Entretanto, essa ordem desaparece acima de uma determinada temperatura, a temperatura

de Curie (T_c), a partir desta o material passa de ferromagnético para paramagnético perdendo o ordenamento magnético (DIAS, 2014, FILHO, 2014, JESUS, 2018).

Vale ressaltar que quando o material sofre ação de um campo magnético externo, os domínios magnéticos tendem a se organizar, orientando na direção do campo aplicado, até atingir a saturação máxima. A remoção do campo externo reduz o grau de alinhamento dos domínios, não necessariamente retomando a condição inicial de desordem, reflexo da possível existência de histerese magnética no material (FILHO, 2014). Os materiais ferromagnéticos e ferrimagnéticos apresentam curvas de histerese, já que estes mantêm parte da magnetização, mesmo depois da remoção do campo magnético aplicado. O estudo dos materiais ferromagnéticos é muito importante devido ao poder de magnetização associado à forte interação entre os dipolos dos átomos (DIAS, 2014, FILHO, 2014).

Com isso, um importante instrumento de estudo dos materiais magnéticos é a variação da magnetização (M) em função do campo aplicado (H), frequentemente apresentada como um ciclo de histerese (Figura 2) no qual são identificadas grandezas importantes nesta pesquisa: magnetização de saturação (M_s) é a magnetização da amostra quando todos os domínios estão alinhados originando um único domínio; a magnetização remanente (M_r) é a magnetização do material a campo zero; e o campo coercivo (H_c) é o campo necessário para anular a magnetização remanente (DIAS, 2014).

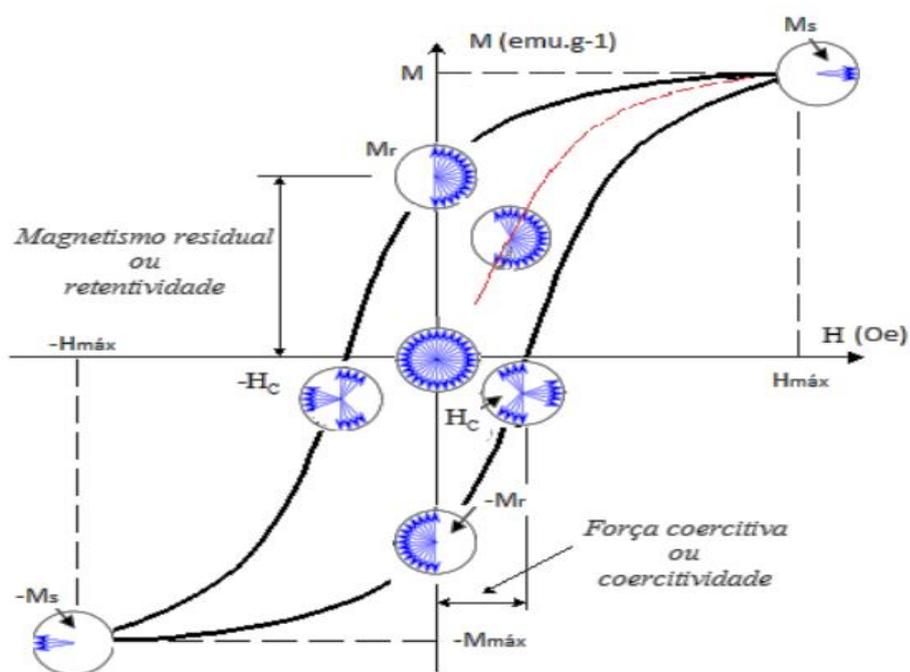


Figura 2. Curva de Histerese de um Material Ferromagnético (FILHO, 2014).

No material ferromagnético o processo de magnetização e desmagnetização tem início a partir da desmagnetização do material numa temperatura inferior a temperatura de Curie. Após a aplicação de um campo magnético avalia-se o efeito na indução magnética do material. A magnetização aumenta ao longo da curva desde zero até o ponto máximo, de acordo com o aumento do campo aplicado a partir do zero, magnetização de saturação, mostrando que todos os domínios estão orientados no mesmo sentido, que é o valor máximo de magnetização do material. Quando o campo aplicado diminui até zero, ainda há uma densidade de fluxo magnético, a magnetização remanescente. A magnetização retorna ao valor zero com aplicação de um campo inverso, o campo coercivo. A magnetização de saturação sob o campo inverso ($-M_s$) pode ser atingida caso aumente o campo aplicado, após retirar o campo inverso a magnetização retorna à magnetização remanescente do ponto ($-M_r$) com a aplicação de um campo positivo, concluindo o ciclo ($M \times H$) (JESUS, 2018).

Por fim, os outros dois tipos de materiais magnéticos são os antiferromagnéticos e os ferrimagnéticos, em que os momentos magnéticos se acoplam antiparalelamente. Porém, no ferrimagnetismo os momentos magnéticos das redes são diferentes, produzindo momentos desiguais responsáveis por uma magnetização resultante. Com a aplicação de um campo magnético os domínios alinham-se na mesma direção e sentido do campo. Apresentam magnetização espontânea à temperatura ambiente; contudo, acima da temperatura de Curie os spins passam a ser orientados aleatoriamente, perdendo a magnetização espontânea e tornando-se paramagnético. Além disso, os materiais ferrimagnéticos apresentam valores altos e positivos de susceptibilidade magnética, que diminui com a temperatura. Por sua vez, os materiais antiferromagnéticos são materiais cujos os átomos possuem momentos magnéticos alinhados em sentidos opostos, com magnetização resultante zero. Na aplicação de um campo magnético, alguns de seus domínios alinham-se no mesmo sentido do campo. Apresentam uma temperatura que marca a transição para o paramagnetismo, propriedade semelhante à dos materiais ferromagnéticos, denominada temperatura de Néel (DIAS, 2014, FILHO, 2014, JESUS, 2018).

Assim, Kalita *et al.* (2017) afirmam que as nanopartículas magnéticas constituem ferramentas promissoras para aplicações médicas, devido a possibilidade de obter tipos de respostas desencadeadas por estímulos remotos. Os autores buscaram compreender e sistematizar diferentes tipos de resposta induzida por campo magnético para as

nanopartículas de manganita de lantânio-estrôncio, que são considerados materiais promissores para hipertermia magnética autocontrolada, liberação de fármacos e na engenharia tecidual.

3.3 Nanopartículas magnéticas

As nanopartículas magnéticas têm se destacado na área médica devido ao seu potencial em tratamentos diversos como a administração de fármacos, a hipertermia induzida, para o tratamento oncológico e também como agente de contraste para obtenção de imagem por ressonância magnética. Além disso, elas vêm sendo utilizadas na área de biomateriais, a exemplo da engenharia tecidual óssea, por apresentar uma excelente biocompatibilidade e induzir a regeneração do tecido ósseo (COJOCARU *et al.*, 2019, ZHAO *et al.*, 2019).

O uso de nanopartículas integradas com outros materiais bioativos para desenvolver nanocompósitos com propriedades para utilização biomédica ainda é recente. Em especial, as nanopartículas magnéticas incorporadas à materiais orgânicos ou inorgânicos apresentam efeito promissor no processo de reparação ósseo. Os nanocompósitos magnéticos, tais como *scaffolds* de quitosana/colágeno/hidroxiapatita/magnetita, aceleraram a adesão e proliferação celular, com excelente biocompatibilidade (ZHAO *et al.*, 2019).

Na terapia farmacológica, as nanopartículas magnéticas são utilizadas para o desenvolvimento de novas drogas, com capacidade de carrear fármacos com imunogenicidade baixa, com alta eficácia no tratamento e redução de efeitos colaterais graves. As nanopartículas magnéticas devem possuir uma natureza atóxica e uma superfície reativa que pode proporcionar um local adequado para a deposição de moléculas de fármaco, com grande aplicação na área biomédica (HAJINASAB *et al.*, 2018).

As nanopartículas magnéticas, com ou sem a aplicação de um campo magnético, também podem apresentar um enorme potencial para a bioengenharia óssea. As vias bioquímicas das células e os canais iônicos podem ser alterados pelos campos magnéticos, acelerando assim a proliferação, migração, orientação e diferenciação de osteoblastos, além de induzirem a diferenciação osteogênica de células tronco mesenquimais derivadas da medula óssea. Também podem ser absorvidas, fagocitadas e

metabolizadas pelas células, gerando estímulos mecânicos dinâmicos para a formação óssea (SAPIR-LEKHOVITSER *et al.*, 2017, XIA *et al.*, 2018).

Com isso, destacam-se três abordagens distintas no uso de materiais magnéticos. Uma abordagem usa um campo magnético externo para manipular as partículas magnéticas ligadas à membrana celular, sendo usada na transdução de sinal mediada por receptor e nas propriedades mecânicas das células para regeneração. Uma segunda abordagem usa compósitos 3D poliméricos e magnéticos para regeneração óssea através da aplicação de forças mecânicas constantes geradas por um campo aplicado externamente para alterar a estrutura do *scaffold* e promover a regeneração. E, por fim, a última abordagem envolve a liberação controlada de medicamentos mediada por *scaffolds* com a incorporação de nanopartículas magnéticas. Isto porque as propriedades desses materiais podem ser controladas de maneira remota, e esse controle pode melhorar a segurança e eficiência dos princípios ativos, permitindo novas terapias e formas de aplicações não invasivas (SAPIR-LEKHOVITSER *et al.*, 2017, XIA *et al.*, 2018).

Portanto, torna-se interessante investigar a influência da adição de nanopartículas magnéticas em *scaffolds*, as quais podem gerar um campo magnético em nanoescala, criando microambientes que produzem força micromagnética na interface entre células e *scaffolds*. Durante todo o processo de reparo ósseo muitos receptores na superfície celular podem ser ativados, elevando a atividade celular e promovendo a formação óssea (SHUAI *et al.*, 2020).

CAPÍTULO IV
REVISÃO DE LITERATURA

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Manganita de lantânio dopada com estrôncio

A manganita de Lantânio (LaMnO_3) é um óxido do tipo perovskita com fórmula geral ABO_3 , onde o sítio A é ocupado por um cátion grande, a exemplo dos metais alcalinos, alcalinos terrosos e as terras raras. Por outro lado, o sítio B é ocupado por um cátion pequeno, em geral, metais de transição. Vários íons podem substituir parcialmente o lantânio na estrutura da perovskita, com destaque para o estrôncio. Como resultado da dopagem da manganita de lantânio com estrôncio ($\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$), observa-se alterações na sua estrutura cristalina. A simetria ideal da manganita é ortorrômbica, no entanto outras simetrias podem ser identificadas como: tetragonal, romboédrica, hexagonal e monoclinica (MANZOOR *et al.*, 2013, PAULO *et al.*, 2014, KANDASAMY, 2019).

Segundo Panseri *et al.* (2012), as nanopartículas magnéticas, inclusive a manganita de lantânio, têm sido estudadas como alternativa para diversas aplicações biomédicas, tais como hipertermia, agente de contraste para ressonância magnética, liberação magnética de fármacos e manipulação de receptores mecano-sensíveis das células para induzir a diferenciação celular, no entanto, poucos trabalhos abordam o seu uso na engenharia tecidual óssea.

A hipertermia magnética é um tratamento oncológico que consiste no uso de nanopartículas magnéticas para o aquecimento local. O calor nos tecidos normais é liberado através da circulação sanguínea, já os tumores tendem a acumular calor devido à baixa perfusão. Esse aquecimento danifica a fluidez e o potencial da membrana celular, promovendo muitas alterações moleculares, como danos as proteínas intercelulares e à membrana mitocondrial. O aquecimento resulta na destruição de microvasos no tumor e inibição da angiogênese. Por fim, a hipertermia autocontrolada é uma modalidade de hipertermia magnética em que a temperatura de Curie (T_C), a temperatura de transição do estado magnético para o não magnético, é controlada entre 41 e 48°C. As células cancerígenas podem ser eliminadas nessas temperaturas com poucos danos às células saudáveis. Portanto, a temperatura de Curie é importante na seleção de um material magnético para uma aplicação *in vivo*, pois ao atingir a temperatura Curie, a magnetização da saturação das partículas cai para zero e o aquecimento é interrompido, sendo denominado aquecimento autocontrolado (RASHID *et al.*, 2013, KULKARNI *et al.*, 2015, SHLAPA *et al.*, 2016.).

Manzoor *et al.* (2013) sintetizaram nanopartículas de manganita de lantânio dopadas com estrôncio, para aplicações em hipertermia, nas concentrações de 0,20 e 0,27 mol/L através do método sol-gel. As propriedades magnéticas e térmicas das amostras (pós) foram investigadas, *in vitro*, com o intuito de determinar as taxas de absorção específicas. As medições magnéticas foram realizadas através da aplicação de um campo magnético. Este mesmo estudo mostrou que a força ferromagnética e as características magnéticas associadas a saturação de magnetização e a temperatura de Curie dependem da concentração de estrôncio. Como consequência, a taxa de absorção específica também varia com o nível de dopagem de Sr, observando uma boa concordância quantitativa entre os valores encontrados e os valores teóricos. As temperaturas de Curie destas amostras foram consideradas como: 47°C para a [Sr]= 0,20 mol/L e 77°C para a [Sr] = 0,27 mol/L. A amostra com concentração inferior de Sr atingiu a saturação com uma temperatura final igual a 47°C, tornando-a mais adequada para hipertermia autocontrolada.

Para Soleymani *et al.* (2017), as nanopartículas de manganita de lantânio dopada com estrôncio comportam-se como um material ferromagnético para $0,175 < x < 0,6$ e exibem uma vasta gama de T_c , apresentando valores entre 20 e 90 °C, que pode ser controlada através da variação dos níveis de estrôncio. Neste estudo, nanopartículas de $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ com diferentes níveis de dopagem de Sr ($x = 0,25, 0,27, 0,30, 0,33$ e $0,35$) foram sintetizadas usando um método de sol-gel. Além disso, o estudo foi conduzido com o propósito de preparar nanopartículas estáveis na água e aumentar sua biocompatibilidade. Para isso, a superfície das nanopartículas foi revestida com uma fina camada de sílica e a eficácia terapêutica em relação a hipertermia magnética dessas nanopartículas foi investigada *in vivo*. Foi observado que a temperatura de Curie das amostras permaneceu na faixa de 59 a 75°C, o que indica que a temperatura máxima atingida por essas nanopartículas pode ser controlada na faixa de temperatura terapêutica após a exposição a campos magnéticos alternados com intensidades variáveis. Assim, as nanopartículas de $\text{La}_{0,73}\text{Sr}_{0,27}\text{MnO}_3$ foram as mais apropriadas a terapia de hipertermia magnética. Ainda, foi demonstrado que, no processo sol-gel, a cristalinidade aumenta com o aumento da temperatura.

Outro estudo realizado *in vitro* também avaliou nanopartículas de manganita de lantânio dopadas com estrôncio e ferro, $\text{La}_{0,77}\text{Sr}_{0,23}\text{Mn}_{1-y}\text{Fe}_y\text{O}_3$, sintetizadas pelo método sol-gel. Verificou-se que as substituições de lantânio por estrôncio resultaram em mudanças significativas na temperatura de Curie desses compostos, permitindo o ajuste fino da temperatura de Curie para alcançar temperaturas necessárias para uso na

hipertermia. O método de síntese e as condições de tratamento térmico podem influenciar substancialmente os parâmetros magnéticos da manganita dopada. Pesquisas recentes vêm utilizando a rota de síntese em fase sólida, porém pode haver a formação de outras fases intermediárias, diferente do método sol-gel que consiste no uso de uma mistura homogênea de reagentes, sem a presença de fases intermediárias e permite a obtenção de produto monofásico com tamanho de partícula reduzido e homogêneo (SHLAPA *et al.*, 2016).

Nota-se que a maioria das pesquisas com nanopartículas magnéticas de manganita de lantânio dopada com estrôncio estão voltadas para aplicação no tratamento oncológico através da hipertermia, por outro lado, os estudos para a utilização na engenharia tecidual óssea são bastante escassos. Apesar disso, observou-se, na literatura pesquisada, que alguns estudos destacam o uso das nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4) incorporadas a materiais cerâmicos e poliméricos para aplicação na regeneração óssea. Dessa forma, torna-se importante analisar o estado da arte da literatura em relação as contribuições do uso das nanopartículas magnéticas de manganita de lantânio dopadas com estrôncio incorporadas ao compósito hidroxiapatita-quitosana para aplicação na engenharia tecidual óssea. De acordo com a literatura pesquisada, é recente a aplicação de nanopartículas magnéticas na bioengenharia óssea e a síntese de *scaffold* Qui-HA com manganita de lantânio dopada com estrôncio pode ser promissora para a terapia de perdas ósseas. Nesse sentido, será abordado, nos próximos tópicos, pesquisas sobre *scaffolds* magnéticos, dando ênfase especial ao sistema *scaffolds* Qui-HA.

4.2 *Scaffolds* magnéticos

A engenharia tecidual, que é considerada uma área com grande potencial e em crescimento, traz uma abordagem promissora para a substituição de tecidos danificados com ênfase na regeneração dos mesmos. Em especial, a engenharia tecidual óssea faz uso de estruturas tridimensionais conhecidas por *scaffold*, que apresenta uma estrutura porosa, que permite a adesão e proliferação de células. Sendo que, em geral, a matriz do *scaffolds* é constituída por material polimérico biodegradável (natural ou sintético), contudo, em algumas situações é possível o uso de outras classes de materiais, como cerâmica, metais

e compósitos, desde que alguns requisitos sejam atendidos, a exemplo da porosidade e degradabilidade em ambiente fisiológico (MONDAL, PAL, 2019).

Ge *et al.* (2019), seguindo esta linha de investigação, produziram *scaffolds* magnéticos de quitosana e magnetita (Fe_3O_4) pelo método de liofilização, sem reticulação. Os pós de Fe_3O_4 , em quatro diferentes proporções em peso: 0, 10, 20 e 40%, foram, individualmente, adicionados a solução de quitosana. O aumento da proporção de Fe_3O_4 nas amostras proporcionou uma resposta magnética mais intensa, entretanto, alterou a estabilidade dos *scaffolds*. Isso porque quando a proporção de Fe_3O_4 foi superior a 40% eles tornavam-se muito instáveis ou o processo de produção foi inviável. Contudo, a adição da magnetita não alterou significativamente a porosidade, porém, pôde-se observar que à medida que a proporção de magnetita aumentava a superfície tornava-se mais rugosa e porosa. Por outro lado, o aumento no teor das nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 nos *scaffolds*, de 10 para 40%, promoveu um aumento na intensidade da magnetização de saturação de 12,3 para 16,1 emu/g, respectivamente.

A literatura científica tem mostrado o efeito benéfico das nanopartículas magnéticas nas funções biológicas dos *scaffolds*, entretanto, poucos estudos foram encontrados sobre o efeito das nanopartículas magnéticas no desempenho *in vivo* dos *scaffolds* de hidroxiapatita. Neste sentido, He *et al.* (2017) estudaram a influência das nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro a 2% em peso nos *scaffolds* de hidroxiapatita no processo de regeneração óssea. A HA foi adicionada a solução de polietilenoglicol e metilcelulose pelo método de mistura física, moldada, seca a 80°C por 24 h e sinterizadas a 1100°C por 2 h. Os *scaffolds* foram imersos em uma solução com nanopartículas de óxido de ferro a 2,0% em peso, removidos da solução e secos sob vácuo à temperatura ambiente por 72 h. Dessa forma, foi possível avaliar a interação entre o *scaffold* magnético e o campo magnético externo aplicado *in vivo*, após implantação do biomaterial em defeito no fêmur de cães em comparação com a HA pura. O estudo também foi conduzido sem a aplicação de um campo magnético externo, para fins comparativos. Ensaio *in vitro*, com células MC3T3-E1 e durante os períodos de 1, 3, 5 e 7 dias, também foram realizados com o intuito de avaliar a interação do *scaffold* magnético de HA com os campos magnéticos estáticos. Além disso, esse ensaio também foi conduzido sem aplicação do campo magnético. A HA foi usada como controle, tanto nos estudos *in vitro* quanto nos *in vivo*. Em relação aos resultados dos testes *in vivo*, observou-se que a densidade óssea no *scaffold* magnético de HA foi superior à da HA sem as nanopartículas de óxido de ferro, indicando que a incorporação das nanopartículas

teve um efeito positivo na neoformação óssea. Além disso, as amostras sob efeito do campo magnético externo exibiram densidade óssea significativamente superior em relação as amostras sem aplicação do campo magnético externo. Sendo que nos primeiros 2 meses foi confirmado que o campo magnético externo influenciou positivamente o reparo de fraturas ósseas (aceleração). Assim, tanto a proliferação quanto a diferenciação de osteoblastos pode ser estimulada através da resposta positiva à estímulos magnéticos externos pelas células ósseas, acelerando a formação do novo tecido ósseo.

A pesquisa de Tanasa *et al.* (2020) avaliou os *scaffolds* magnéticos, sintetizados pelo método de polimerização por radicais livres, constituídos por fibroína de seda (FS) e poli (2-hidroxietilmetacrilato) (PHEMA) com incorporação de nanopartículas de magnetita, em resposta a aplicação de campos magnéticos estáticos. O aumento da concentração de magnetita resultou na precipitação da fibroína da seda, por isso, a quantidade de magnetita utilizada foi mínima, 1% em peso, permitindo uma quantidade máxima de fibroína da seda para a amostra FS50/PHEMA50. Para avaliar a biocompatibilidade das amostras, foi verificado o impacto do campo magnético (intensidade de 120 mT) externo na morfologia, no crescimento e distribuição celular (MC3T3-E1) nos *scaffolds*. A biocompatibilidade *in vitro* dos *scaffolds* com composições de FS20/PHEMA80, FS30/PHEMA70 e FS40/PHEMA60 foram avaliadas, todos contendo 1% de magnetita. Dentre os *scaffolds* testados, o FS40/PHEMA60 foi o que apresentou melhores propriedades biológicas. Destaca-se também que o campo magnético interfere na orientação do citoesqueleto celular de acordo com as forças magnéticas presentes. A proliferação celular foi aumentada sob o efeito do campo magnético, principalmente na presença das nanopartículas de magnetita. Além disso, foram observadas alterações celulares devido a exposição ao campo magnético. Já a mineralização da hidroxiapatita foi observada em todas as composições (TANASA *et al.*, 2020).

Seguindo essa linha de aplicação biomédica, Panseri *et al.* (2012) produziram *scaffolds* magnéticos constituídos por hidroxiapatita e magnetita (Fe_3O_4). O pó comercial de hidroxiapatita (HA) foi calcinado a 1000°C por 2 horas para reduzir a área de superfície e preparar suspensões estáveis. As suspensões foram preparadas através da mistura de água deionizada, dispersante sal de ácido carbônico (Dolapix CE-64) 1,5% em peso e pós de HA e magnetita. Após agitação durante 8h a 13 rpm, foi obtida uma suspensão homogênea e adicionado o agente espumante Sodium Trideceth-7 Carboxylate (Dermocin BS) 1,4% em peso. Depois de 12h, uma pasta espumosa formada foi

depositada em moldes de drenagem de água, permitindo a configuração do sistema espumado e seca à temperatura ambiente por 48h. O tratamento térmico foi realizado a 1200°C por 1 h. Foram produzidas diferentes composições de *scaffolds* magnéticos HA/Mgn (95/5, 90/10 e 50/50) em peso. O estudo avaliou a biocompatibilidade *in vitro* desses *scaffolds* magnéticos usando células humanas do tipo osteoblastos, com e sem aplicação de um campo magnético. De forma geral, os resultados mostraram alta biocompatibilidade, sem efeitos negativos devido a presença de magnetita ou uso de um campo magnético estático. Foi comprovada uma maior proliferação celular para a amostra HA/Magnetita 90/10 aos 7 e 14 dias após a inoculação das células *in vitro*. Com isso, a amostra 90/10 foi selecionada para ser testada *in vivo* com a utilização do campo magnético. Como resultado, foi observado um novo tecido ósseo mineralizado dentro da estrutura porosa interconectada do *scaffold* após 4 semanas de implantação, sugerindo uma boa histocompatibilidade do material desenvolvido. Dessa forma, os autores concluíram que este tipo de *scaffold* tem uso potencial na regeneração do tecido ósseo e abre novas perspectivas para a aplicação do campo magnético no cenário clínico de substituição óssea.

Uma pesquisa semelhante foi realizada por Bock *et al.* (2010), porém eles obtiveram *scaffolds* de hidroxiapatita/colágeno na proporção (70:30) e de colágeno puro, ambos revestidos com ferrofluidos. As amostras foram reticuladas com 1,4 butanodiol diglicidil éter. Posteriormente, os *scaffolds* foram imersos em 1 mL de ferrofluido (dispersão aquosa de nanopartículas de magnetita) por 15 min para permitir o revestimento por capilaridade, depois foram novamente liofilizados. Observou-se que após a obtenção do revestimento por imersão, as nanopartículas são integradas nas estruturas dos *scaffolds*, proporcionando a magnetização. A caracterização magnética mostrou um maior potencial de carga das amostras de HA/Colágeno em comparação com a de colágeno puro. Foi realizado um teste de adesão e proliferação de células-tronco da medula óssea humana, *in vitro*, para avaliar a biocompatibilidade desses novos *scaffolds* magnéticos. As células viáveis aumentaram em número do dia 5 ao dia 15 para as duas composições, indicando biocompatibilidade adequada.

4.3 Scaffolds Quitosana/Hidroxiapatita

Entre os diferentes tipos de biomateriais, os biopolímeros e as biocerâmicas são atualmente mais estudados para aplicação na regeneração do tecido ósseo devido a uma melhor resposta tecidual quando em comparação com outros biomateriais (BIGHAM *et al.*, 2019). A quitosana e a hidroxiapatita são materiais em destaque na produção de *scaffold* para uso na engenharia tecidual óssea e na liberação de fármacos.

A quitosana é um biopolímero, obtida através da desacetilação da quitina em meio alcalino, também pode ocorrer em meio ácido, entretanto é pouco utilizada devido à susceptibilidade das ligações glicosídicas à hidrólise ácida. As estruturas químicas da quitina e da quitosana são similares com diferença apenas nos grupos químicos do carbono-2 dos anéis glicosídicos. A quitina apresenta um grupo acetil (-CO-CH₃) e a quitosana um grupo amina (-NH₂) nesta posição (Figura 3). Sabe-se que o nível de desacetilação da quitosana interfere nas propriedades físicas, químicas e biológicas, bem como na restauração óssea (PIGHINELLI, KUCHARSKA, 2013, BALAGANGADHARAN *et al.*, 2017, ANJOS, 2018, ROLIM *et al.*, 2018).

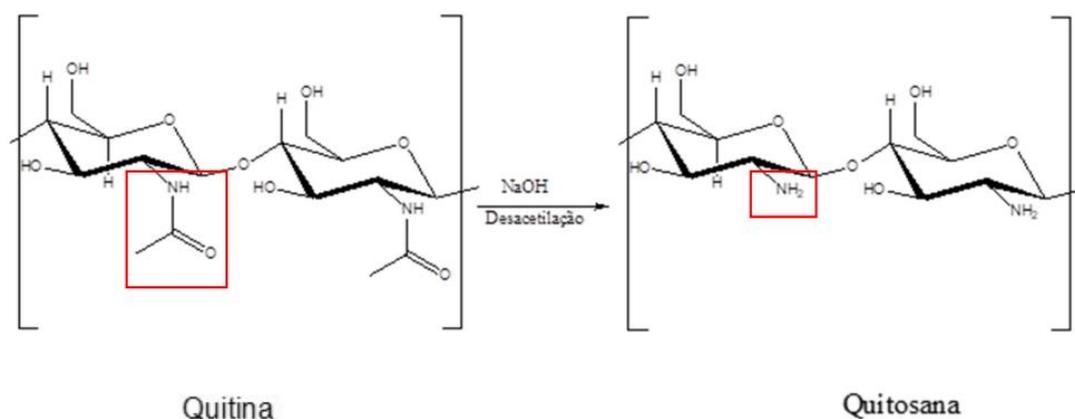


Figura 3. Desacetilação da quitina para obtenção da quitosana (ANJOS, 2018)

A quitosana é um dos polissacarídeos mais abundante na natureza, presente no exoesqueleto de crustáceos e insetos, na parede celular de fungos e bactérias. É um biomaterial de importância clínica devido a sua similaridade com as glicosaminoglicanas, componente da matriz extracelular e sua propriedade osteocondutora. É compatível para aplicações ortopédicas como biomatriz, por apresentar características biofuncionais adequadas para deposição da matriz extracelular, estimulando a proliferação celular,

neovascularização e deposição de minerais do tecido ósseo, além de atoxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade (BALAGANGADHARAN *et al.*, 2017, ROLIM *et al.*, 2018).

Já a hidroxiapatita é uma biocerâmica de fosfato de cálcio, fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, com relação molar de Ca/P = 1,67, quando pura pode se apresentar de duas formas cristalina: monoclinica e hexagonal. A HA hexagonal é composta, principalmente, por seis tetraedros do grupo PO_4^{3-} , dez íons de cálcio (Ca^{2+}) distribuídos assimetricamente em dois sítios, que diferem pelo número de cálcio e pela disposição desses na célula unitária (GSHALAEV, DEMIRCHAN, 2012, PIGHINELLI, KUCHARSKA, 2013, DOROZHKIN, 2017, ANJOS, 2018). Esta biocerâmica vem sendo estudada devido à similaridade com a composição inorgânica do osso (Tabela 1), por possuir excelentes propriedades como biodegradabilidade, biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade, permitindo o aumento da aderência e da multiplicação de células ósseas quando comparadas com outros materiais, além de favorecer a adesão do *scaffold* ao osso remanescente (FOX *et al.*, 2012, PIGHINELLI, KUCHARSKA, 2013, OLIVEIRA *et al.*, 2015, PICCIRILLO, CASTRO, 2017, ANJOS, 2018, GHASSEMI *et al.*, 2018).

Tabela 1. Composição mineral do osso e da hidroxiapatita

Composição química	Osso (%)	Hidroxiapatita (%)
Cálcio	37,0	39,03
Fósforo	16,0	18,7
Carbonato	4,0	2,0
Magnésio	0,4	0
Sódio	0,6	0,12
Potássio	0,05	< 0,05

Fonte: Anjos (2018)

A hidroxiapatita interfere positivamente na regeneração tecidual óssea. Entretanto, as baixas propriedades mecânicas, incluindo baixa tenacidade à fratura e falta de ductilidade, limita suas aplicações clínicas. Com isso, o compósito de quitosana, hidroxiapatita e um terceiro componente pode melhorar significativamente suas propriedades mecânicas e biológicas (HEIDARI *et al.*, 2016).

Compósitos de fosfato de cálcio e polímeros associam a integridade mecânica e a biotividade em um único biomaterial aumentando as propriedades físicas, químicas e biológicas: adesão e proliferação celular, porosidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, absorção de proteína e mineralização. Pois, esses materiais utilizados isoladamente não atingiram os requisitos de suporte ósseo. Assim, a combinação adequada entre materiais cerâmicos e poliméricos melhoraria o desempenho dos *scaffolds* tornando-se promissores (GHASSEMI *et al.*, 2018).

DONG *et al.* (2018) sintetizaram *scaffolds* bioativo de hidroxiapatita-quitosana-sílica, através do método sol-gel, e realizaram a caracterização físico-química. Com isso, eles constataram que a quitosana foi homogeneamente hibridizada com o material inorgânico e os *scaffolds* possuíam estruturas porosas interconectadas. As nanopartículas de hidroxiapatita, formadas *in situ*, se dispersaram uniformemente sobre a matriz polimérica, reduzindo a absorção de água, além de aumentar a resistência mecânica em comparação ao *scaffold* quitosana-sílica. Os testes de compressão mostraram que os *scaffolds* em condições úmidas apresentavam forças compressivas de 10–13 MPa e módulos elásticos de 21–27 MPa. O ensaio de mineralização foi realizado usando uma solução que simula o fluido corpóreo (SBF). Os autores constataram que a adição de HA aumentou a atividade biológica, melhorando a adesão e a proliferação celular, assim como a osteocondutividade.

NAZEER *et al.* (2017) também prepararam e caracterizaram nanocompósitos de quitosana/hidroxiapatita. A hidroxiapatita foi sintetizada através do processo sol-gel e foram preparadas soluções de Qui/HA com teores de HA de 5, 10 e 20% em peso. A adição de nanopartículas de HA levou à formação de *scaffolds* homogêneos após a secagem. Os padrões de DRX dos *scaffolds* com proporções de 10 e 20% em peso de HA apresentaram picos de Qui/HA intercalados, devido à incorporação de nanopartículas de HA entre camadas de quitosana, estruturas uniformes e bem organizadas. Os *scaffolds* de Qui/HA podem ser considerados materiais promissores para aplicações na engenharia de tecidos ósseos, por promover adesão, proliferação e diferenciação osteogênica de células.

O estudo de HEIDARI *et al.* (2016) mostrou que a quitosana, hidroxiapatita e magnetita têm sido amplamente empregadas no tratamento de doenças ósseas. Na presente pesquisa, as propriedades mecânicas, químicas e biológicas da Qui pura, Qui/HA, Qui/HA/magnetita e Qui/magnetita foram avaliadas. Os autores concluíram que, embora todos esses compósitos possuam biocompatibilidade *in vitro*, a adição de hidroxiapatita e magnetita à matriz de quitosana melhorou visivelmente as propriedades

mecânicas em comparação a quitosana pura. Sendo que as amostras de Qui/magnetita possuíram a maior tenacidade e resistência à flexão (34 MPa). Enquanto que as amostras de Qui/HA apresentaram módulo de flexão mais alto (2,6 GPa). Ainda, observou-se que a adição de partículas de HA a matriz de Qui aumentou sua resistência à compressão. Em relação as propriedades magnéticas, o valor de magnetização de saturação (M_s) foi 3,04 emu/g que é menor que o da nanopartícula de magnetita (27,77 emu/g). Isso pode ser atribuído ao fato de que os domínios magnéticos das partículas foram impedidos pela ligação molecular com quitosana e hidroxiapatita. Por fim, os resultados indicaram também que a inserção de nanopartículas magnéticas não tem efeito adverso na biocompatibilidade *in vitro* dos sistemas estudados.

CAPÍTULO V
MATERIAIS E MÉTODOS

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Preparação dos pós cerâmicos

5.1.1 Síntese da Hidroxiapatita

A hidroxiapatita foi sintetizada por co-precipitação de soluções aquosas com a utilização de hidróxido de cálcio (74,10 g/mol) com pureza de 95% (Dinâmica Química Contemporânea LTDA) e ácido fosfórico (98 g/mol) com pureza de 85% (SIGMA-ALDRICH), mantendo a razão molar para cálcio/fósforo em 1,67. A síntese foi realizada a 70 °C e em pH 10, que foi mantido por meio da adição da solução de hidróxido de potássio (Dinâmica Química Contemporânea LTDA). Em seguida, o precipitado foi envelhecido por 24 horas. Decorrido esse período, o mesmo foi filtrado e lavado abundantemente com água destilada, para a eliminação dos precursores da reação remanescente, até o pH estabilizar em 7,0. Finalmente, o precipitado foi seco em estufa por aproximadamente 24 h à 100 °C, macerado em almofariz de ágata e peneirado em 140 mesh. Com rendimento de 82,5% e obtenção de 16,5 g de HA.

5.1.2 Síntese da Manganita

As amostras de $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ foram sintetizadas pelo método sol-gel, que garante alta homogeneidade dos produtos (RABELO *et al.*, 2011). Os reagentes usados foram: Nitrato de Manganês Tetrahidratado $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Neon Comercial LTDA), Nitrato de Lantânio Hexahidratado $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Dinâmica Química Contemporânea LTDA) e Nitrato de Estrôncio $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (Dinâmica Química Contemporânea LTDA). Os sais metálicos foram dissolvidos em água destilada com diferentes níveis de dopagem de Sr ($x = 0; 0,2; 0,6$ e 1), conforme apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade de massa de sais metálicos utilizados na preparação de $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$

Reagentes	Massa (g)			
	Sr ₀	Sr _{0,2}	Sr _{0,6}	Sr ₁
Nitrato de Manganês	6,23	6,58	7,35	7,99

Nitrato de Lantânio	11,30	9,44	5,18	0,0
Nitrato de Estrôncio	0,0	1,11	3,64	6,73
Ácido Cítrico	30,09	29,91	32,82	36,35

Como agentes gelificantes foram adicionados Ácido Cítrico (AC) $C_6H_8O_7$ (Neon Comercial LTDA) e Etilenoglicol (EG) $C_2H_6O_2$ (Dinâmica Química Contemporânea LTDA) numa razão em massa AC / EG (60:40). Os reagentes foram solubilizados em água a $70^\circ C$ e adicionados com intervalos de 30 min, seguindo a sequência: nitrato de manganês, nitrato de lantânio, nitrato de estrôncio e, por fim, o etilenoglicol. A quantidade de água e reagentes seguiram cálculos prévios, de acordo com a proporção de massa das amostras. Após a adição de etilenoglicol, a temperatura foi elevada para $90^\circ C$ durante aproximadamente 2h com agitação constante, resultando na poliesterificação com a formação do gel polimérico (RABELO *et al.*, 2011).

O gel polimérico resultante foi aquecido na temperatura $300^\circ C$, com taxa de aquecimento de $5^\circ C/min$, dando origem ao pó precursor. Esse pó foi posto em cadinhos de alumina e submetido, individualmente, a diferentes tratamentos térmicos (700 , 800 e $900^\circ C$) durante 4h. Para isso, utilizou-se uma taxa de aquecimento de $10^\circ C/min$ (RABELO *et al.*, 2011).

5.2 Preparação dos *Scaffolds*

Foram preparados *scaffolds* com diferentes composições, conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3. Quantidade em massa dos materiais utilizados na preparação dos *scaffolds*.

Composição dos <i>scaffolds</i>	Massa dos componentes (g)					
	Qui	HA	LaMnO ₃	La _{0,8} Sr _{0,2} MnO ₃	La _{0,4} Sr _{0,6} MnO ₃	SrMnO ₃
Qui/HA/LaMnO ₃	0,125	0,1	0,025	0	0	0
Qui/HA/La _{0,8} Sr _{0,2} MnO ₃	0,125	0,1	0	0,025	0	0
Qui/HA/La _{0,4} Sr _{0,6} MnO ₃	0,125	0,1	0	0	0,025	0

Qui/HA/ SrMnO ₃	0,125	0,1	0	0	0	0,025
-------------------------------	-------	-----	---	---	---	-------

A síntese dos *scaffolds* foi realizada através do método de adição dos pós cerâmico a solução polimérica, ou seja, por mistura física (RESENDE, 2010, LIMA *et al.*, 2018). Inicialmente foi preparada uma solução de quitosana 2% (m/v) usando ácido acético a 1% (v/v), e as nanopartículas das cerâmicas, de acordo com a composição de cada *scaffold* (Tabela 3) foram dispersas na solução polimérica sob agitação. Contudo, para uma melhor dispersão das cerâmicas, os pós tanto da HA quanto da manganita (900°C) correspondente foram adicionados, individualmente, a cada gel de quitosana. Vale ressaltar que foi garantida a manutenção das concentrações tanto do gel de quitosana quanto das massas das cerâmicas, atendendo as composições descritas para cada formulação, conforme consta na Tabela 3. Os géis obtidos, para cada formulação, foram vertidos em moldes e, em seguida, as amostras foram congeladas em freezer. Após o congelamento, elas foram imersas em nitrogênio e, por fim, liofilizadas por 48 horas.

5.3 Neutralização e Reticulação dos *Scaffolds*

Depois da liofilização, os *scaffolds* foram neutralizados (pH entre 6 e 6,5) através da imersão em solução de hidróxido de sódio NaOH (0,1% m/v)/etanol C₂H₆O (50% v/v) e lavados com água destilada até atingir o pH 7,0. Em seguida foram reticulados pela imersão em uma solução de tripolifosfato de sódio 1% (m/v) por 3h em temperatura controlada de 37°C, sendo finalmente lavados com água destilada, congelados em freezer e novamente liofilizados durante 24h.

5.4 Caracterização Físico-Química

5.4.1 Análise por Difração de Raios X (DRX)

Os pós cerâmicos e *scaffolds* de HA e Manganita (com diferentes concentrações de estrôncio) foram caracterizados por difração de raios X (DRX), utilizando-se o difratômetro (Shimadzu LabX XRD-6000) com radiação Cu K α , operando a 40 kV e 30 mA, modo continuous scan com passos de 2°/minuto na faixa de $2\theta = 10-80^\circ$.

5.4.2 Análise por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para identificar os modos vibracionais dos grupamentos químicos das amostras, em pó e *scaffolds*, obtidas na forma de pastilhas de KBr. Utilizou-se o Spectrum Two FTIR da espectrômetro Perkin-Elmer na faixa de 400-4000 cm^{-1} do Núcleo de Energias Renováveis e Eficiência Energética de Sergipe (NEREES).

5.4.3 Análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos *scaffolds* foi analisada através de imagens obtidas no microscópio eletrônico de varredura (MEV-JEOL JSM-5700) usando detector de elétrons secundários. Os *scaffolds* foram congelados em nitrogênio líquido com o intuito de fraturá-los e verificar a porosidade interna na superfície de fratura, além de analisar as superfícies das amostras não fraturadas. Antes da análise, eles foram metalizados com ouro.

5.4.4 Análise do Tamanho de poro

Os poros foram medidos a partir das micrografias dos *scaffolds* obtidas no MEV, as dimensões de área e diâmetro foram avaliadas através do software ImageJ. Para isso, foram analisadas três imagens de cada superfície dos *scaffolds* (superfície superior, inferior e de fratura), para cada tipo de *scaffold* estudado e superfície. Os dados foram organizados em tabelas que apresentam a média e frequência do diâmetro e área dos poros para cada composição estudada.

5.4.5 Análise das Medidas magnéticas

As medidas magnéticas foram obtidas utilizando um magnetômetro de amostra vibrante (VSM), previamente calibrado e com campo magnético de até 5 Tesla, na faixa de temperatura de 2 a 300 K (Departamento de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Norte). Após, foi realizada a medição da massa de cada amostra e seu resultado apresentado em emu/g.

5.4.6 Resistência à compressão

O ensaio de compressão foi utilizado para testar a carga máxima suportada pelos *scaffolds*, de acordo com as normas: ASTM D1621-10 e ASTM F2450-10. Para isso, foram produzidos *scaffolds* cilíndricos com diâmetro de 5,1 mm e altura de 9,1 mm. Foi registrado a força e o deslocamento do prato compressor superior através dos dados da máquina universal de ensaios mecânicos, com célula de carga de 5 kN, na velocidade de compressão constante de 0,1mm/min. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada tipo de *scaffold*.

A resistência à compressão foi calculada a partir da divisão entre a tensão máxima e a área inicial, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\sigma = F/A$$

Sendo σ é a tensão de ruptura (MPa), F é a força (N) necessária para a fratura e A é a área da seção reta dos corpos-de-prova (mm²).

5.4.7 Análise termogravimétrica (TGA)

As análises de perdas de massa sob aquecimento foram realizadas para os *scaffolds*: Qui/HA/LaMnO₃, Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃, Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ e Qui/HA/SrMnO₃. Utilizou-se o equipamento Shimadzu, modelo: TGA-50 do Laboratório de Química Multiusuários (CLQM). As curvas das análises termogravimétricas foram obtidas com fluxo constante de nitrogênio a 20 mL.min⁻¹ e taxa de aquecimento constante a 10 °C.min⁻¹, em cadinho de alumina e massa de amostra de aproximadamente 5mg.

5.4.8 Análise estatística

A análise dos dados e significância estatística dos resultados foram avaliadas através do teste ANOVA. O nível de significância estatística foi de $p < 0,05$ unidirecional.

CAPÍTULO VI
RESULTADOS E DISCUSSÃO

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Análises das amostras em pó

6.1.1 Caracterização por DRX

A Figura 4 mostra o padrão de DRX da hidroxiapatita produzida, sendo identificados os principais picos que correspondem aos planos (002), (211), (112), (300), (130), (222), (213), com 2θ igual a: 25,9°; 31,9°; 32,2°; 33,2°; 40,1°; 46,9°; 49,6° respectivamente. Não foi detectada a presença de fases secundárias; o padrão está de acordo com a ficha cristalográfica da hidroxiapatita hexagonal, JCPDS 08-1442. Portanto, a síntese foi bem sucedida, obtendo-se pó de HA como fase única.

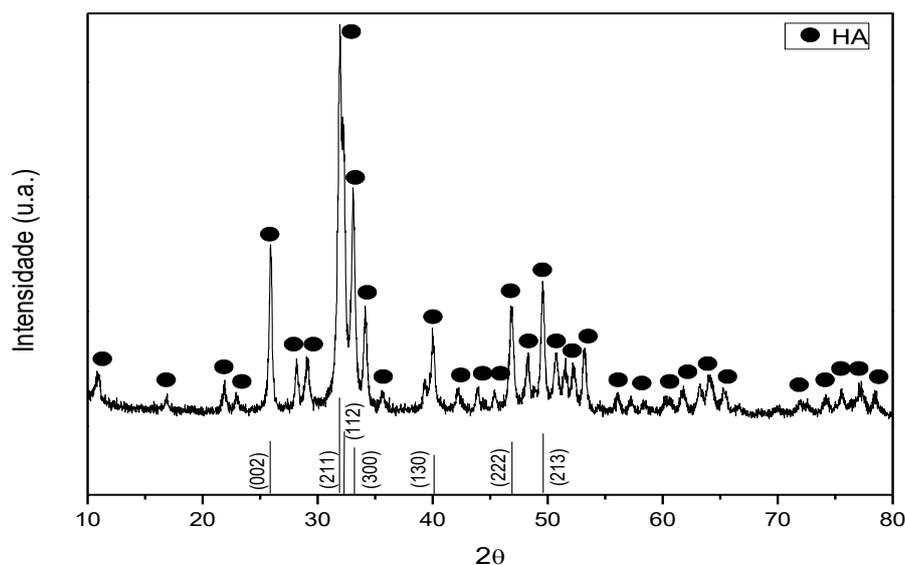


Figura 4. Padrão de DRX do pó de hidroxiapatita

Os pós da manganita de lantânio pré-calcinados a temperatura de 300°C apresentam um padrão amorfo conforme mostra a Figura 5. Resultado semelhante foi reportado por Shlapa *et al.* (2020), que identificaram a presença de um pó amorfo depois da pirólise das amostras de manganita de lantânio dopada com estrôncio a 200°C, com a formação de fase cristalina monofásica a partir da calcinação a 600°C, evidenciada pela presença de picos da estrutura perovskita nos padrões apresentados. Os resultados do

estudo de Silva *et al.* (2007) também confirmaram que as amostras de manganita de lantânio pré-calcinadas a 350°C têm características amorfas com propensão para a formação de fases cristalina e apenas a 600°C nota-se a formação de picos cristalinos. Chen *et al.* (2011) também corroboram o achado aqui apresentado (Figura 5), mostrando amostras de manganita de lantânio calcinadas a 360°C de padrão amorfo que cristalizam em uma estrutura perovskita quando calcinadas a 700°, 750° e 800°C, também de acordo com os demais estudos previamente citados.

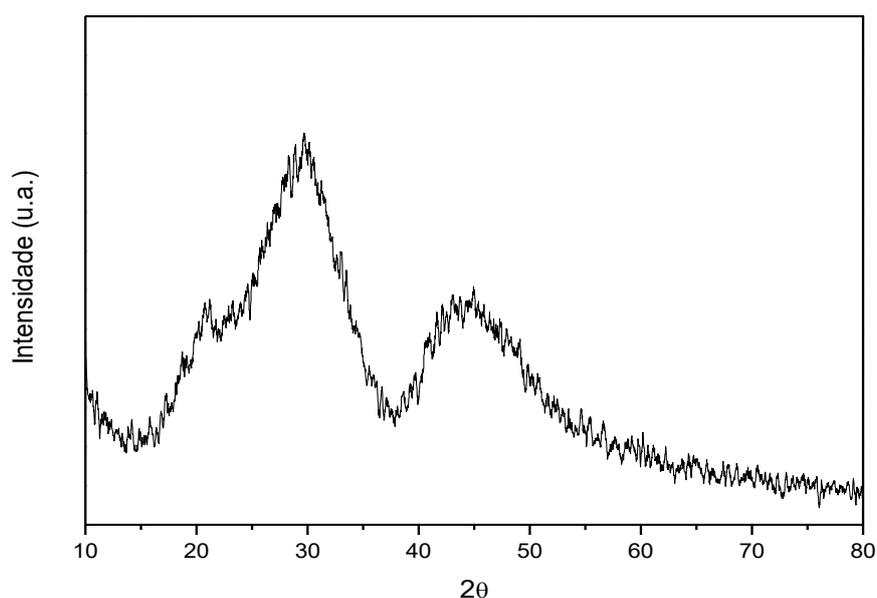


Figura 5. Padrão de DRX da manganita de lantânio a 300°C

A Figura 6 mostra os resultados de DRX dos pós de manganita calcinados às temperaturas de 700°C, 800°C e 900°C. Observa-se uma mudança no perfil dos padrões de DRX quando comparados às amostras calcinadas a 300°C, pois houve diminuição da fase amorfa com o tratamento térmico e aumento da organização da rede cristalina. Todas as amostras cristalizaram na estrutura da perovskita romboédrica e os principais picos correspondem aos planos (012), (104), (202), (024), (122), (214), (208), (128) em valores de 2θ igual a: 23,0°; 32,6°; 40,4°, 46,7°; 52,5°; 58,1°; 68,8°; 78,1°, respectivamente, de acordo com as fichas cristalográficas da Manganita de lantânio, JCPDS 08-2324 e 08-4394. Vale destacar a presença minoritária do hidróxido de lantânio (JCPDS 00-0909) apenas na amostra tratada a 900°C, corroborando com o resultado relatado por Silva *et al.* (2007), que identificaram e atribuíram a um possível excedente de lantânio na

preparação. Possivelmente, essa fase foi formada durante o processo de resfriamento da amostra, já que na temperatura de tratamento a formação da mesma é inviável. Resultado semelhante foi apresentado por Ghosh *et al.* (2005), que também detectou a fase de hidróxido de lantânio a 980°C na análise de DRX.

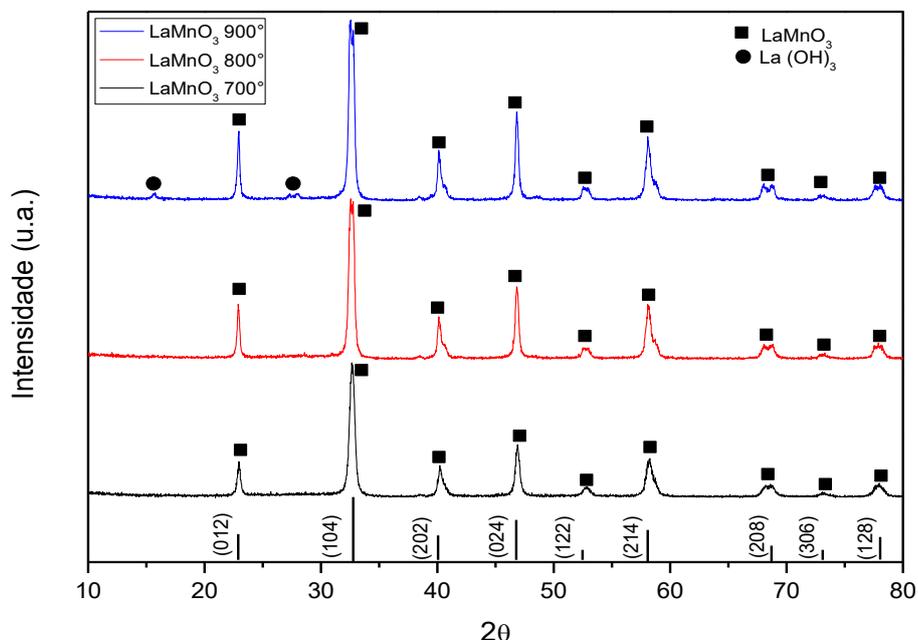


Figura 6. DRX da Manganita de lantânio calcinada a 700°C, 800°C e 900°C.

Kumar *et al.* (2018) apresentaram padrão de DRX semelhante para as amostras de LaMnO_3 tratadas termicamente a 700° e 800° que exibiram estrutura romboédrica com picos característicos em 23,07°, 32,65°, 40,19°, 46,88°, 52,72°, 58,09°, 68,68° atribuídos aos planos (012), 104), (202), (024), (122), (214) e (208) confirmado a partir do cartão JCPDS 89-8775. Dhama *et al.* (2014) confirmaram que LaMnO_3 calcinada nas temperaturas de 600°, 700° e 800° cristalizaram na estrutura romboédrica, resultado similar ao nosso trabalho, uma vez que a síntese não foi realizada em atmosfera controlada. Nesse último caso, seria possível obter a LaMnO_3 estequiométrica e na estrutura ortorrômbica, devido a inexistência de vacâncias de oxigênio. As amostras de LaMnO_3 podem apresentar excesso de oxigênio associado a dopagem e a produção sob atmosfera de oxigênio, resultando na LaMnO_3 não estequiométrica com formação de íons Mn^{4+} e alteração da estrutura de ortorrômbica para romboédrica devido as vacâncias catiônicas.

Vale ressaltar que a mudança no estado de oxidação do manganês (Mn^{+3} - Mn^{+4}) é bastante comum nas sínteses de manganita de lantânio, com ou sem dopagem, e sem controle de atmosfera. Sendo que a fase polimorfa mais estável da $LaMnO_3$ é dependente da concentração de Mn^{4+} . Por exemplo, quando a concentração de Mn^{4+} é de 0-12%, 18-30% e mais de 30%, a estrutura de $LaMnO_3$ torna-se ortorrômbica, romboédrica e cúbica, respectivamente (GHOLIZADEH *et al.*, 2015).

Além disso, outro aspecto que influi na estabilidade dos polimorfos de manganita de lantânio, como destacado por Tarragó (2012), é a temperatura. Por exemplo, $LaMnO_3$ tratada termicamente em altas temperaturas, aproximadamente $1400^{\circ}C$, estabiliza-se na estrutura ortorrômbica. Entretanto, quando tratadas em baixas temperaturas, aproximadamente $900^{\circ}C$, estabiliza na estrutura romboédrica. Assim, a temperatura usada no tratamento térmico da $LaMnO_3$ produzida nesse trabalho (até $900^{\circ}C$) possibilitou a sua estabilização na estrutura romboédrica.

A Figura 7 apresenta os dados de DRX para as amostras dopadas com diferentes proporções de Sr: $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$, $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$, em comparação com o DRX da $LaMnO_3$ e $SrMnO_3$ tratadas termicamente a $900^{\circ}C$. Os resultados demonstraram que as amostras dopadas com Sr também cristalizaram com pico compatíveis com o padrão de $LaMnO_3$ na estrutura romboédrica, no entanto, com menor intensidade. Os picos observados em 2θ igual a: $23,03^{\circ}$; $32,84^{\circ}$; $40,39^{\circ}$, $47,06^{\circ}$; $52,5^{\circ}$; $58,3^{\circ}$ estão de acordo com as fichas cristalográficas da Manganita de lantânio, JCPDS 50-0299 e 08-2324. A proporção de estrôncio nas amostras dopadas, principalmente, $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$ não promoveu transformações de fases, da manganita de lantânio para a manganita de estrôncio, bem como não afetou na formação de fases secundárias. Esses resultados sugerem que todo o estrôncio foi solubilizado na matriz de manganita de lantânio, embora Tran *et al.* (2020) tenha observado comportamento contrário, ou seja, formação de fase secundária após inserção de 0,5 moles de Sr.

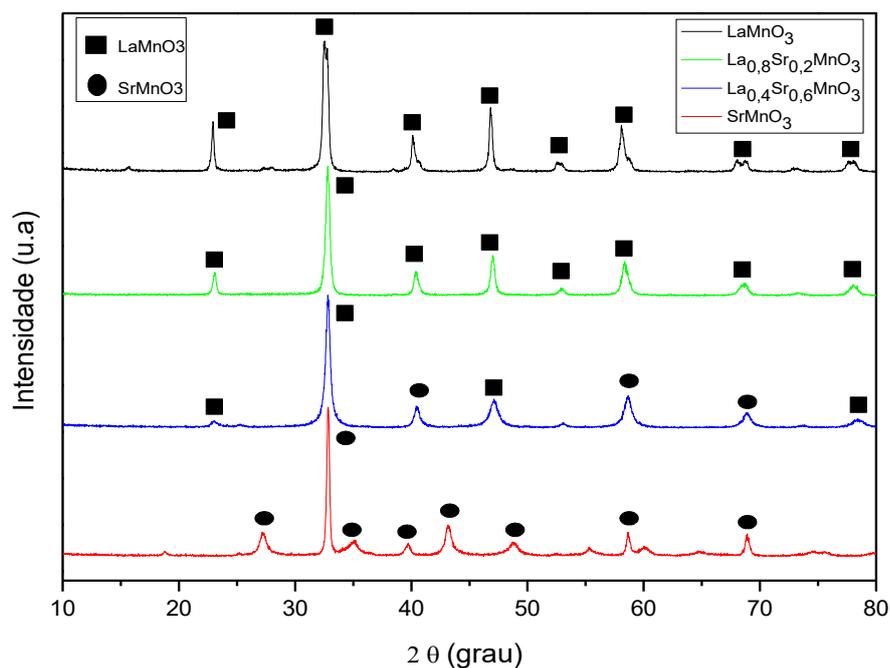


Figura 7. DRX dos pós cerâmicos: LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$, SrMnO_3 a 900°C .

Já em relação ao padrão de DRX da SrMnO_3 , também na Figura 7, observou-se a presença dos seguintes picos em 2θ : $27,4^\circ$; $32,8^\circ$; $43,2^\circ$ e $58,6^\circ$. Os quais são característicos da SrMnO_3 na estrutura hexagonal, de acordo com as fichas ICSD 00-024-1213 e 00-024-1221. Resultados similares aos de Abbas *et al.* (2017) que caracterizam também a SrMnO_3 em fase única da perovskita hexagonal calcinadas a 1000°C . Segundo os autores a fase perovskita SrMnO_3 tem temperatura de calcinação limite, permanecendo estável numa determinada faixa de temperatura, sendo o limite de estabilidade para a estrutura da perovskita de SrMnO_3 de 900 a 1045°C . Djani *et al.* (2018) relatam picos semelhantes de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS 50-0298 e afirmam que a SrMnO_3 cristalizaram em uma estrutura hexagonal, dados compatíveis com os registros das fichas cristalográficas reportadas na presente pesquisa.

6.1.2 Caracterização dos Pós por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os resultados da Espectroscopia no Infravermelho indicaram os grupos químicos presentes nas amostras estudadas. A Figura 8 apresenta o espectro de FTIR do pó de HA, as bandas em 3432 e 1642 cm^{-1} são atribuídas a grupos funcionais característicos de vibrações de alongamento de íons OH^{-1} , devido a presença de água. A banda em 1420 cm^{-1} corresponde a vibrações de CO_3^{-2} e as bandas 1060 e 587 cm^{-1} são relacionadas ao grupo PO_4^{-3} . Esses resultados são semelhantes aos dos estudos de Keshri *et al.* (2014) e Lou *et al.* (2015) que analisaram o FTIR do pó de HA, identificando as bandas nos mesmos intervalos espectrais.

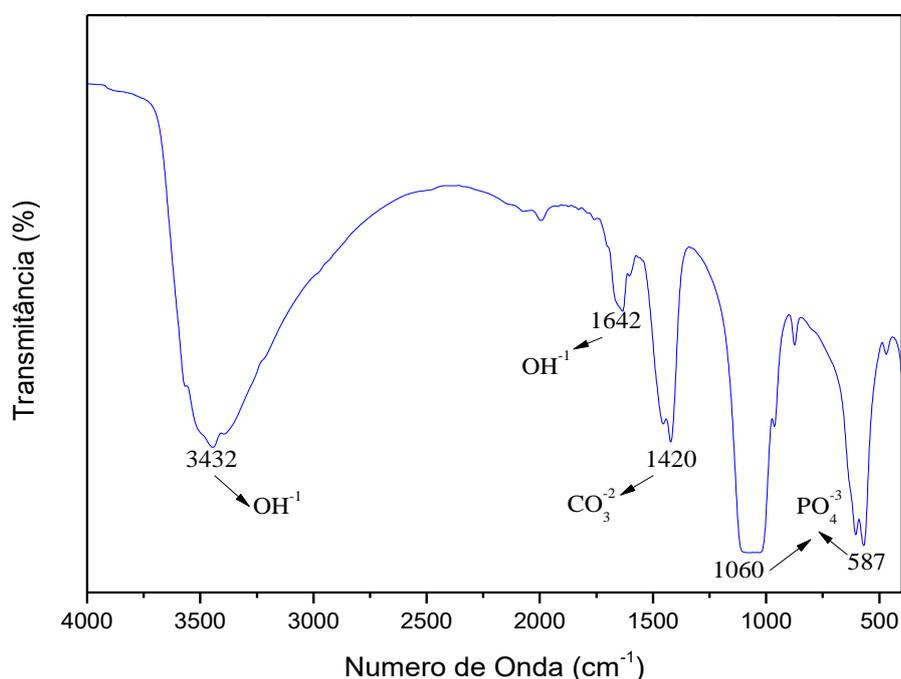


Figura 8. Espectros de FTIR do pó de HA verde.

A Figura 9 apresenta os espectros de FTIR dos pós de LaMnO_3 a 900°C, 800°C e 700°C, evidenciando os grupos funcionais que confirmam a composição LaMnO_3 com bandas de alongamento metal-oxigênio (M-O) em 610 a 430 cm^{-1} , as bandas na faixa de 1610 a 1230 cm^{-1} atribuídas a ligação C-O que podem corresponder a resíduos de citrato/etilenoglicol devido ao método sol-gel (DJANI *et al.*, 2018, HERNANDEZ *et al.*, 2015). Os resultados mostram que nos pós sintetizados a 800° e 900°C as bandas associadas ao carbonato, na faixa de 1610 a 1230 cm^{-1} , apresentam uma leve diminuição. Tem sido relatado que o teor de carbonato diminui e até desaparece em altas temperaturas de calcinação, quando o tratamento térmico é realizado em temperaturas superiores a 1000

°C é possível remover todos esses carbonos associados à síntese de manganita (KAMAN *et al.*, 2016, TURKY *et al.*, 2017).

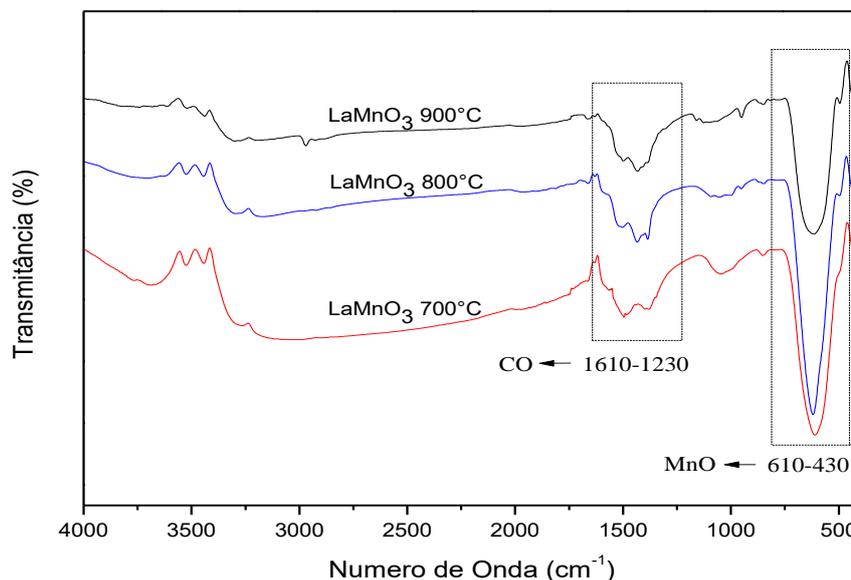


Figura 9. Espectros de FTIR dos pós de LaMnO_3 calcinados em diferentes temperaturas: 700°, 800° e 900°C.

A Figura 10 mostra os espectros de FTIR dos pós de manganita calcinados a 900°C com diferentes concentrações de Sr, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, além dos de SrMnO_3 e LaMnO_3 , mostraram bandas localizadas na região de 610 cm^{-1} atribuída ao alongamento Mn-O (metal-oxigênio). Nota-se que LaMnO_3 apresenta uma banda de absorção larga na região de 610 cm^{-1} ; já a SrMnO_3 apresenta duas bandas em 650 cm^{-1} e 542 cm^{-1} ; portanto, quando a quantidade de lantânio é mais elevada ($\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$) o perfil do FTIR corresponde ao do espectro de LaMnO_3 , com uma banda de absorção larga na região de 610 cm^{-1} . Por outro lado, quando a quantidade de estrôncio é superior à do lantânio ($\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$), o perfil fica similar ao da SrMnO_3 , que apresenta duas bandas em 650 cm^{-1} e 542 cm^{-1} (RABELO *et al.*, 2011, THORAT *et al.*, 2012, KAMAN *et al.*, 2016).

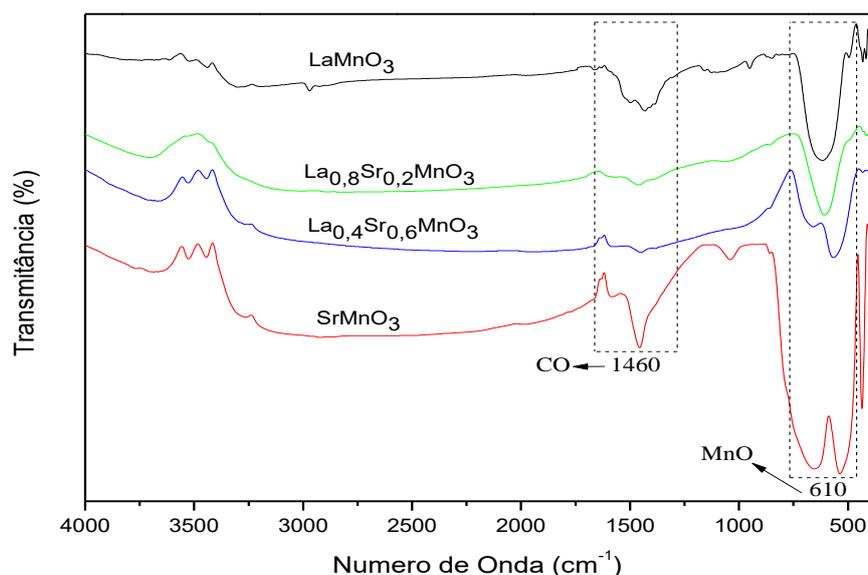


Figura 10. Espectros de FTIR dos pós das manganitas: LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e SrMnO_3 calcinadas a 900°C .

As bandas em 1460 cm^{-1} correspondem ao alongamento C-O, que deve estar associado aos resíduos dos reagentes usados na rota de síntese, cuja amplitude é maior nos pós sem dopagem, LaMnO_3 e SrMnO_3 , quando comparada as manganitas dopadas com estrôncio. Nas amostras $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ ocorre o estiramento dessas bandas na região de 1460 cm^{-1} , que está relacionada ao alongamento C-O (RABELO *et al.*, 2011, THORAT *et al.*, 2012, PAULO *et al.*, 2014, KAMAN *et al.*, 2016, EHIEROMOSELE *et al.*, 2017, DJANI *et al.*, 2018). A Tabela 4 apresenta os principais grupos químicos relacionados aos materiais estudados.

Tabela 4. Principais grupos químicos associados aos materiais estudados.

Material	Frequência (cm^{-1})	Grupo Químico
HA	3432 e 1642	OH
	1420	CO_3^{-2}
	1060 e 587	PO_4^{-3}
Manganitas	1460	CO
	610-430	Mn-O

Os resultados reportados corroboram com Li *et al.* (1998), Kaman *et al.* (2016) e Ehi-Eromosele *et al.* (2017), que apresentaram estudos de FTIR para amostras de manganita (LaSrMnO_3) destacando a formação de compostos óxidos, vibrações de

alongamento em diferentes regiões da rede cristalina e a banda em torno de 578 cm^{-1} que corresponde às vibrações Mn-O. O estudo de Rabelo *et al.* (2011) também mostra o espectro infravermelho do pó (LaSrMnO_3) com banda intensa relacionada à ligação metal-oxigênio em 600 cm^{-1} , indicando a formação do respectivo óxido e ligações que envolvem o movimento interno de uma mudança no comprimento da ligação Mn-O-Mn, confirmando os resultados identificados nesta pesquisa.

6.2 Análises dos *Scaffolds*

6.2.1 Caracterização dos *scaffolds* por DRX

A Figura 11 mostra os padrões de DRX dos *scaffolds* reticulados com diferentes composições: Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$; Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$; Qui/HA/ LaMnO_3 ; Qui/HA/ SrMnO_3 . Observou-se a presença de picos largos característicos da HA em 2θ entre $30,5^\circ$ a $33,9^\circ$, para todas as composições dos *scaffolds* estudados e picos característicos da manganita no mesmo intervalo, mas apresentando menor intensidade, quando comparados com picos da hidroxiapatita e manganita pura. Entretanto, a ausência de picos característicos da quitosana não significa que o polímero não esteja na composição, como é um material mais amorfo não apresentou picos evidentes nos padrões de DRX dos *scaffolds*, como já evidenciado em outros estudos (HEIDARI *et al.*, 2016, DONG *et al.*, 2018).

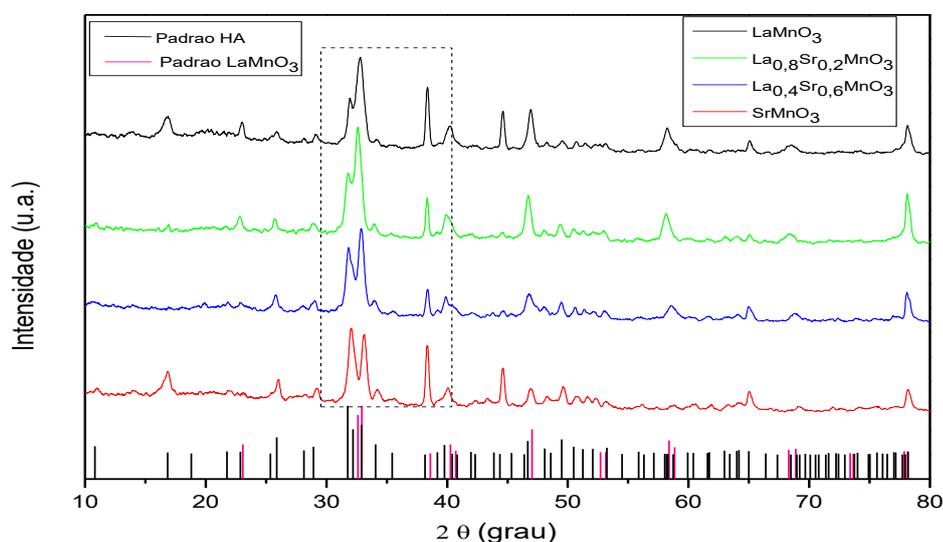


Figura 11. DRX dos *scaffolds* reticulados: Qui/HA/LaMnO₃; Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃; Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ e Qui/HA/SrMnO₃.

6.2.2 Caracterização dos *scaffolds* por Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 12 mostra os espectros dos *scaffolds* reticulados com diferentes composições: Qui/HA/LaMnO₃; Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃; Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ e Qui/HA/SrMnO₃. Pode-se observar bandas características de grupos químicos de HA, manganita e quitosana. As bandas na faixa de 3715 a 3250 cm⁻¹ são características de ambos materiais (quitosana e hidroxiapatita) atribuídas à vibração de alongamento O-H e alongamento N-H (quitosana). Bandas características da quitosana também foram identificadas em 3020 a 2820 cm⁻¹ que correspondem aos modos de vibração de alongamento C-H e grupos amida (quitosana) e ligações C-O (manganita) foram confirmados na faixa de 1750 a 1220 cm⁻¹ (GOMATHI *et al.*, 2017, TOMAZ, *et al.*, 2018, SILVESTRO *et al.*, 2020). As bandas na faixa de 1210 a 850 cm⁻¹ correspondente a vibrações de alongamento dos grupos PO₄, característicos da HA. As bandas na faixa de 750 a 450 cm⁻¹ são atribuídas as ligações metal-oxigênio característica da manganita (GIERSZEWSKA, OSTROWSKA-CZUBENKO, 2016, GOMATHI *et al.*, 2017, TOMAZ, *et al.*, 2018, XU *et al.*, 2018).

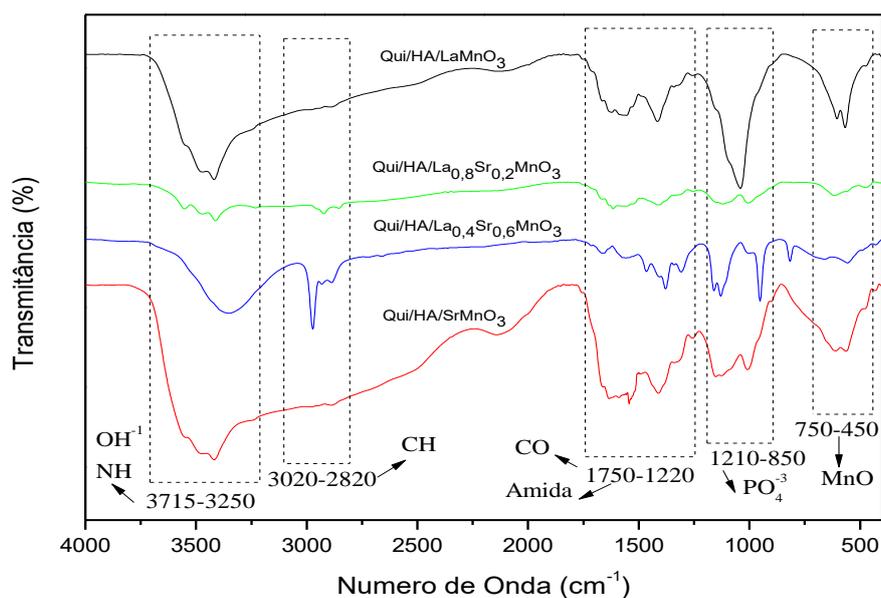


Figura 12. Espectros de FTIR dos *Scaffolds* reticulados: Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃; Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃; Qui/HA/LaMnO₃ e Qui/HA/SrMnO₃.

A Tabela 5 apresenta os principais grupos químicos para os materiais estudados.

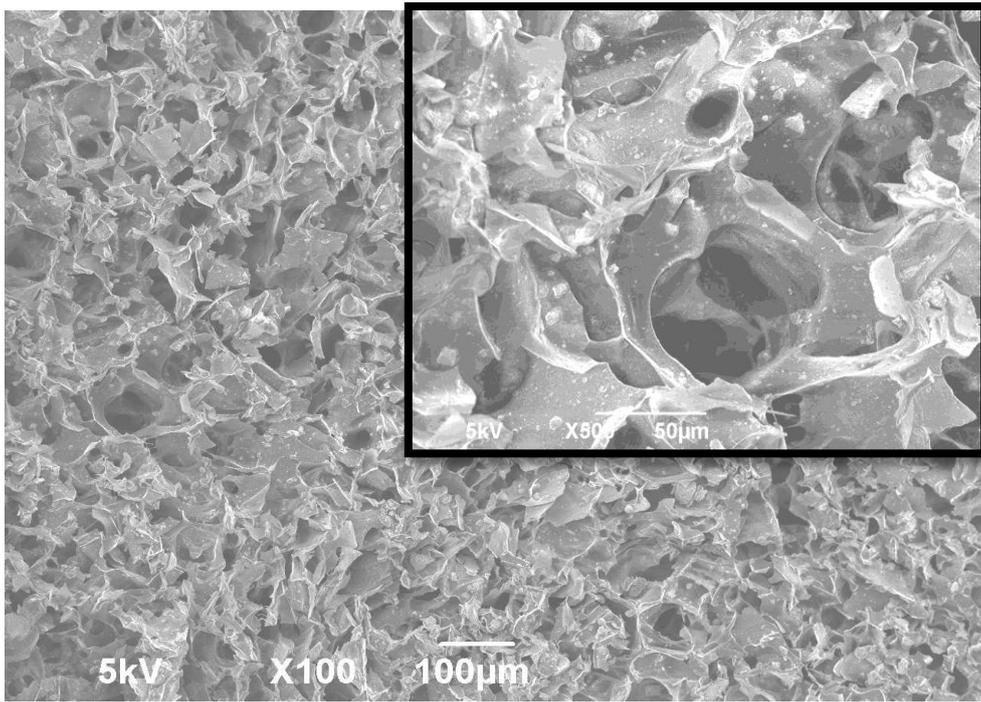
Tabela 5. Principais grupos químicos dos materiais estudados.

Material	Frequência (cm ⁻¹)	Grupo Químico
HA	3715 e 3250	OH
	1210 e 850	PO ₄ ⁻³
Qui	3715 a 3250	O-H e alongamento N-H
	3020 a 2820	C-H
	1750 a 1220	Amida
Manganitas	750-450	Mn-O
	1750 a 1220	C-O

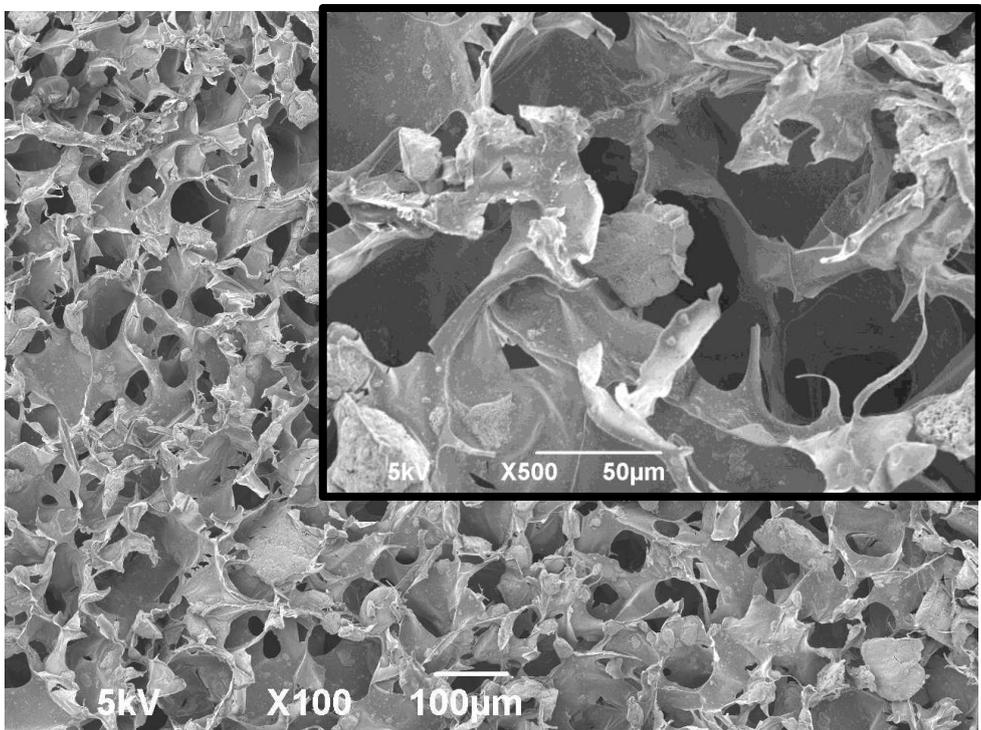
As análises de DRX e FTIR confirmaram os picos e bandas referentes aos materiais em estudo. Esses resultados foram também obtidos por outros autores, em que as intensidades dos picos aumentam com a elevação da temperatura de calcinação da manganita (STÖTZEL *et al.*, 2009, AZEVEDO, GORGULHO *et al.*, 2015). O aumento da intensidade dos picos está relacionado à maior cristalinidade do material, as bandas dos espectros corroboraram com os resultados obtidos pela difração de raios X, de acordo com as análises torna-se evidente que os teores de compostos orgânicos diminuem e até desaparecem em altas temperaturas de calcinação (LOU *et al.*, 2015, TURKY *et al.*, 2017).

6.2.3 Caracterização dos *scaffolds* por MEV

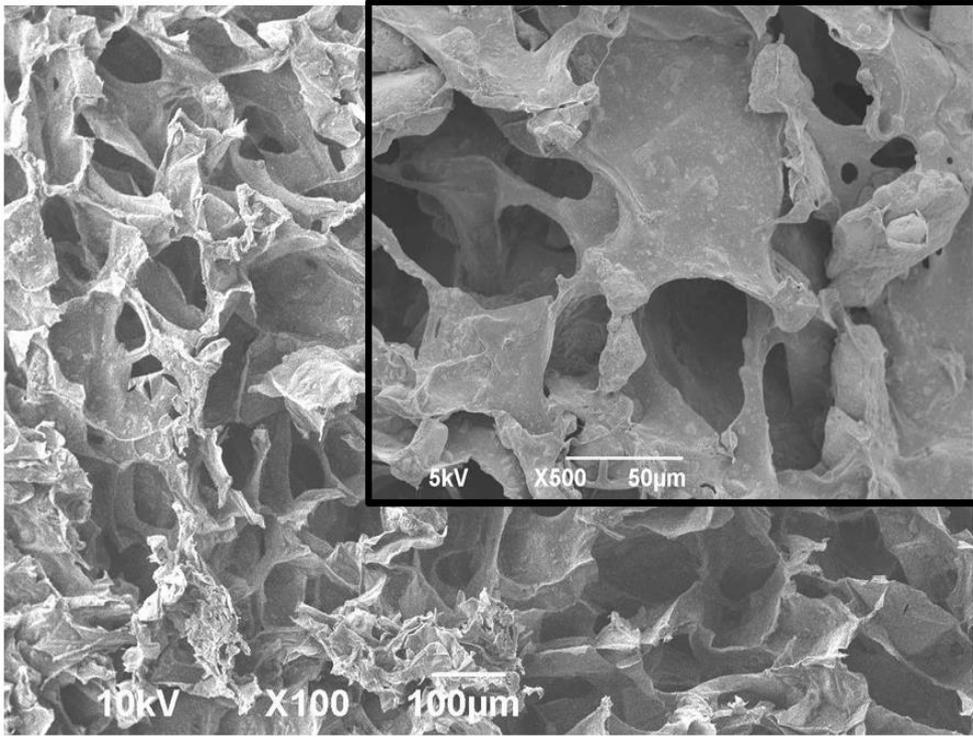
As micrografias das amostras obtidas no MEV confirmaram que houve formação dos poros em todos os *scaffolds*, independente da composição (Figura 13). Vale ressaltar que a porosidade do *scaffold* possibilita a penetração das células e o fluxo de nutrientes, permitindo a síntese de uma nova matriz óssea por osteoblastos (LIU *et al.*, 2016). No mais, esses resultados demonstram que o processo de liofilização, que consiste em sublimar o solvente da estrutura fazendo uso de pressão e temperatura muito baixa para evitar que a fase rica em polímero se dissolva, foi efetivo na formação de poros. Pois os espaços antes ocupados pelas moléculas de água deram origem aos poros à medida que o solvente sublimava (PANDE *et al.*, 2016, PETRAUSKAITE *et al.*, 2016).



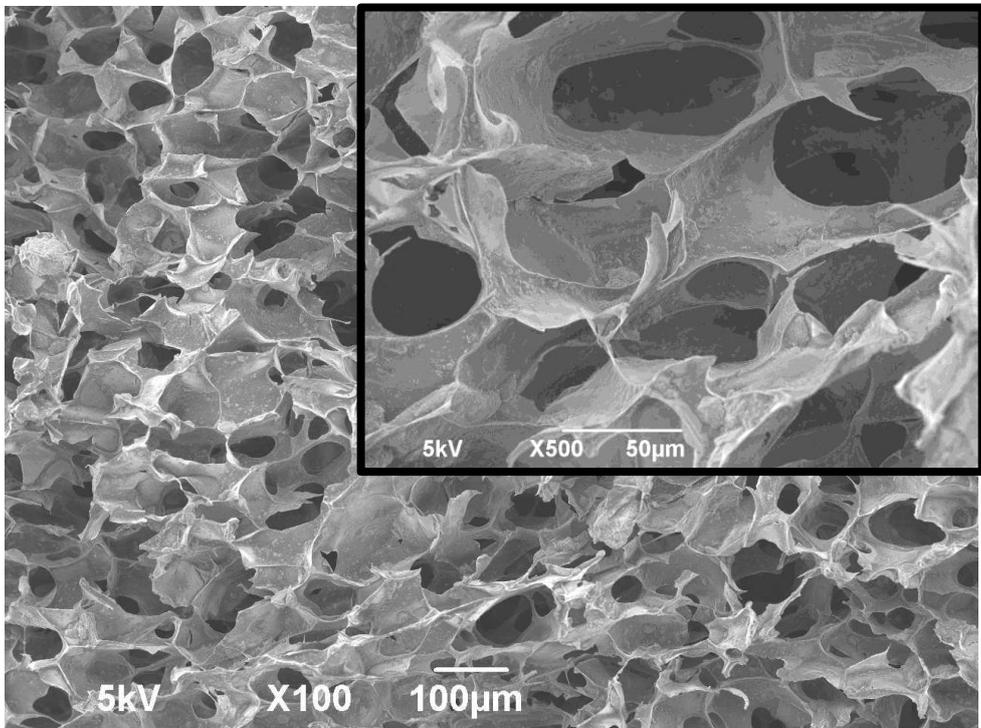
(A)



(B)



(C)



(D)

Figura 13. Micrografia obtidas no MEV da superfície de fratura: (A) *scaffold* Qui/HA/LaMnO₃; (B) *scaffold* Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ e (C) *scaffold* Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃; (D) *scaffold* Qui/HA/SrMnO₃.

De forma geral, pode-se afirmar que as superfícies ficaram mais rugosas em virtude da presença das partículas cerâmicas e que, ao analisar as diferentes micrografias obtidas em diferentes regiões das amostras, muitos poros apresentaram dimensão em torno de 50 µm. Contudo, deve-se proceder com uma análise de imagem para termos um valor estatístico da distribuição de tamanho de poros para cada *scaffold* estudado.

6.2.3.1 Porosidade

A Figura 14 apresenta as micrografias de corte transversal dos *scaffolds* que mostram a distribuição heterogênea de poros por área (superfície superior, inferior, e de fratura) para ambos tipos de amostras. A técnica de imagem com a utilização da microscopia eletrônica de varredura permitiu analisar os *scaffolds* com uso de um software de processamento de imagem, o ImageJ, para medir a porosidade média, o tamanho dos poros, estimar a área e proporção dos poros para os diferentes tipos de amostra. A distribuição e interconectividade dos poros na estrutura dos *scaffolds* são importantes para o processo de adesão, crescimento celular, passagem de fluidos e nutrientes de maneira eficiente (HOSSEINKHANI *et al.*, 2014).

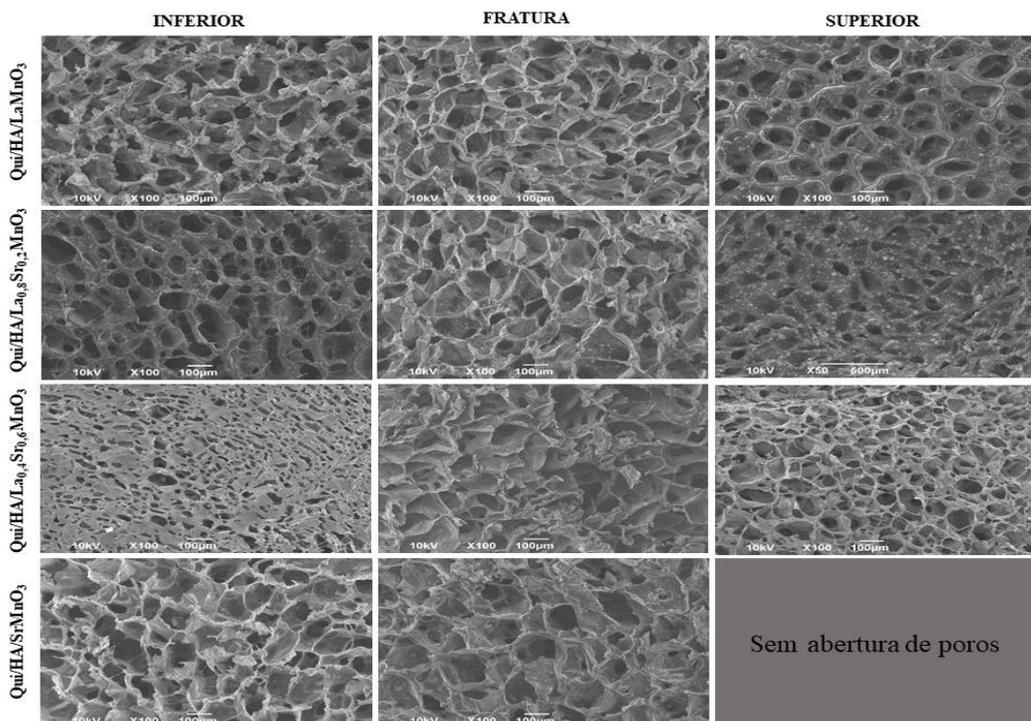


Figura 14. Micrografias das superfícies porosas dos *scaffolds* Qui/HA/LaMnO₃, Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃, Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, Qui/HA/SrMnO₃: superfície inferior, superior e de fratura

Os *scaffolds* Qui/HA/LaMnO₃ e Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ possuem maior número de poros quando consideradas as três superfícies analisadas (superior, inferior e de fratura). Sendo que o *scaffold* Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ apresentou maior quantidade de poros na superfície superior. Em contrapartida, não foi visualizada a abertura de poros na superfície superior do *scaffold* Qui/HA/SrMnO₃. Em relação a proporção da distribuição de poros por área total das diferentes superfícies dos *scaffolds*, os resultados foram aproximados, com menor distribuição de poros para os *scaffold* Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ que foi de 10,91% e 9,07% para as superfícies inferior e de fratura, respectivamente, de acordo com a Tabela 6.

Tabela 6. Número médio e proporção da distribuição de poros por área total das diferentes superfícies dos *scaffold*: Qui/HA/LaMnO₃, Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃, Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, Qui/HA/SrMnO₃.

Porosidade						
Superfície <i>Scaffold</i>	Número médio			Porcentagem da área total (%)		
	Superior	Inferior	Fratura	Superior	Inferior	Fratura
Qui/HA/LaMnO ₃	80,00 ±9,27	84,33 ±4,27	86,66 ±13,19	37,78 ±1,52	35,80 ±1,41	35,77 ±8,47
Qui/HA/La _{0,8} Sr _{0,2} MnO ₃	185,33 ±16,67	86,33 ±8,73	72,00 ±10,23	27,81 ±1,29	36,75 ±5,28	42,29 ±1,99
Qui/HA/La _{0,4} Sr _{0,6} MnO ₃	129,66 ±8,33	70,00 ±11,04	38,00 ±2,82	42,25 ±6,32	10,91 ±2,44	9,07 ±1,84
Qui/HA/SrMnO ₃	0	93,66 ±1,24	65,33 ±0,93	0	44,53 ±1,14	30,98 ±1,82

A literatura destaca que os parâmetros estruturais de um *scaffold*, como porosidade e tamanho de poros, desempenham papel fundamental para um ótimo desempenho biológico no reparo e regeneração óssea. O osso natural é constituído por espaços internos vazios, os poros, assim *scaffolds* altamente porosos e com

interconectividade entre os poros possibilitam a migração, penetração e crescimento celular na sua estrutura, pois fornece área de superfície adequada para a interação dos biomateriais com as células e tecidos circundantes (CUNNINGHAM; DUNNE, 2012; TRAUTMANN *et al.*, 2018; ZULKIFLI *et al.*, 2019).

Em relação ao tamanho dos poros, conforme mostra a Figura 15, os *scaffolds* têm poros distribuídos de forma assimétrica entre 50-310 μm . No entanto, os *scaffolds* apresentaram maior proporção de tamanhos de poros na faixa de 50-190 μm para todos os tipos de *scaffold*. Os *scaffolds* LaMnO_3 , SrMnO_3 e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ apresentaram proporções de tamanho de poros semelhantes, em contrapartida os *scaffolds* de $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ exibiram a maior proporção na faixa de 70 μm e nas demais faixas a proporção foi inferior, em comparação com resultados dos outros tipos de *scaffolds*. A literatura aborda esta faixa como ótima para crescimento de fibroblastos e osteócitos em fase inicial (CUNNINGHAM; DUNNE, 2012; TRAUTMANN *et al.*, 2018; ZULKIFLI *et al.*, 2019).

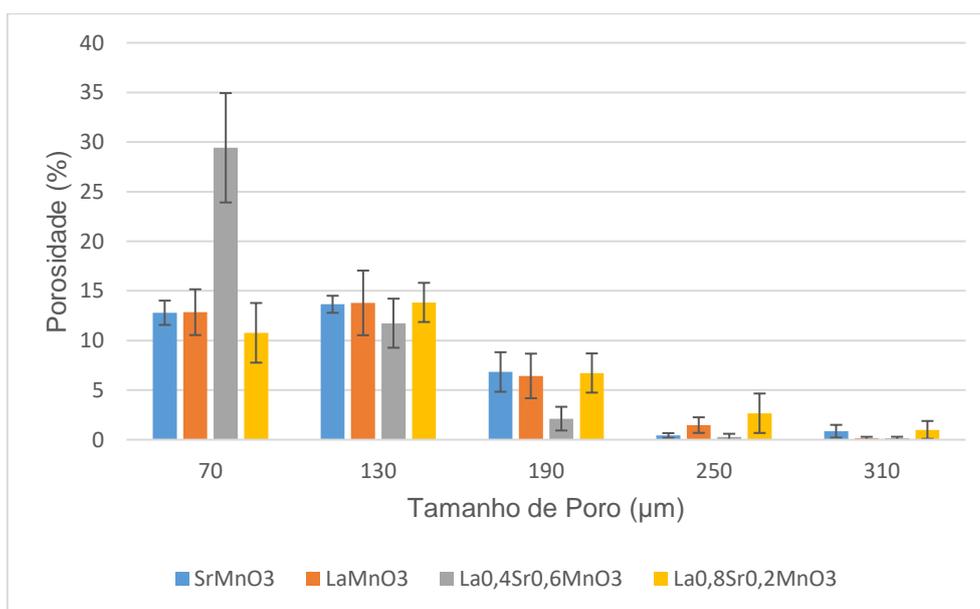


Figura 15. Distribuição de tamanho de poros nas diferentes amostras.

Os tamanhos dos poros podem ser classificados em: macroporosidade ($>50\mu\text{m}$) e microporosidade ($< 50\mu\text{m}$). A microporosidade pode induzir a diferenciação celular ao invés de proliferação, devido à baixa concentração de oxigênio e nutrientes, reduzindo a vascularização e levando à condrogênese, entretanto favorece a interconectividade dos poros, eleva a área de superfície específica, com mais sítios para adsorção de proteínas,

permitindo a fixação celular. A macroporosidade contribui para proliferação e o crescimento celular por favorecer a oxigenação, nutrição das células e vascularização para o novo tecido. Assim, o tamanho de poros pode interferir no desenvolvimento do tecido circundante (MOHAMMAD *et al.*, 2021).

A proporção de porosidade é outro fator que interfere no aumento do crescimento do tecido ósseo. No entanto, a proporção de porosidade não é igual para todos tipos de ossos. O osso cortical é mais denso com aproximadamente 20% de porosidade, já o osso trabecular apresenta porosidade superior a 90% e bastante vascularização, com isso o sítio de defeito ósseo deve ser considerado para determinação do tamanho e distribuição adequada dos poros. A taxa de degradação do *scaffold* também está associada à porosidade, pois a quantidade maior de poros favorece a liberação iônica devido ao aumento da reatividade superficial (MOHAMMAD *et al.*, 2021).

A pesquisa de Wang *et al.* (2020) mostrou resultados semelhantes aos apresentados neste estudo, os autores destacaram as propriedades físico-químicas de *scaffolds* magnéticos de quitosana-hidroxiapatita dopada com lantânio, como tamanho de poro e a funcionalidade química na estimulação de vias imunológicas ou inflamatórias e na formação de novo tecido ósseo. Os *scaffolds* apresentaram macroporos interconectados com diâmetro de 100–300 μm e as nanopartículas foram dispersas uniformemente ao longo dos *scaffolds*. Os resultados mostraram que os *scaffolds* magnéticos estimularam o recrutamento de células-tronco mesenquimais da medula óssea de rato e a modulação de respostas imunes ao *scaffold* por meio da polarização de macrófagos, diminuindo, assim, a resposta inflamatória e proporcionando um microambiente para a regeneração óssea.

6.2.4 Análise das Medidas Magnéticas

As medidas magnéticas dos pós cerâmicos, LaMnO_3 , SrMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$, são apresentadas na Figura 16. A histerese apresenta o comportamento dos materiais quando induzidos por um campo magnético externo. Nota-se que as manganitas, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, apresentaram magnetização de histerese em forma de S, no entanto, essa última tem maior magnetização de saturação. Por outro lado, as manganitas de lantânio (LaMnO_3) e de estrôncio (SrMnO_3) apresentaram ausência de magnetização de histerese.

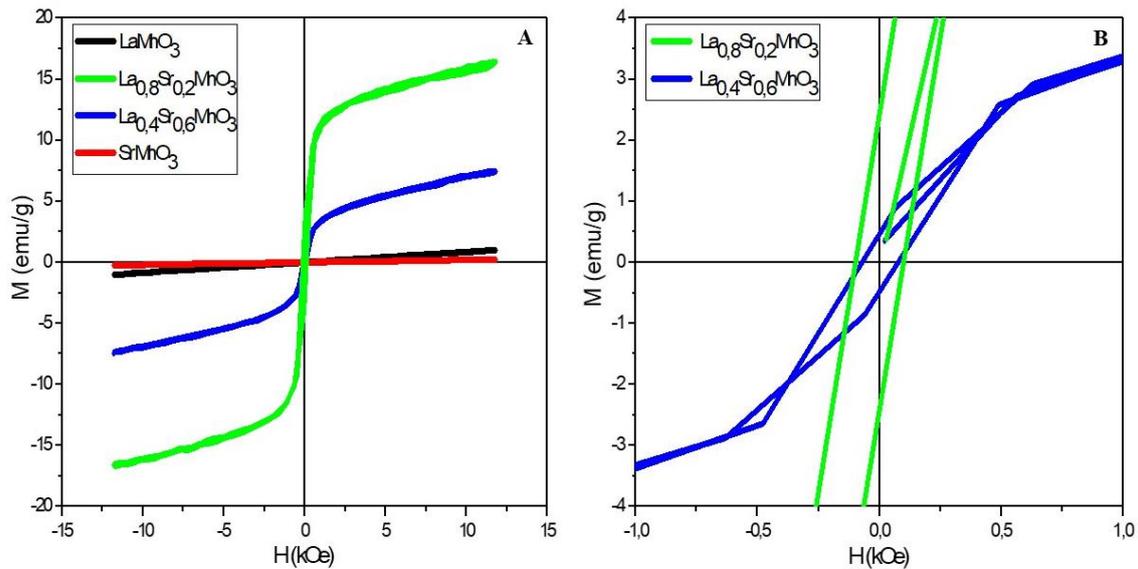


Figura 16. Variação da magnetização dos pós cerâmicos com o campo magnético: (A) LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e SrMnO_3 , e (B) amplificação das regiões de magnetização para ambos os pós, $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$.

Esse resultado pode ser explicado devido a manganita LaMnO_3 , não dopada ser um material isolante e antiferromagnético à temperatura ambiente e até mesmo após dopagem com estrôncio até aproximadamente $\text{Sr} = 0,17$, nenhum efeito magnético foi evidenciado, conforme relatado por Paulo (2014). Ainda, segundo o mesmo autor, acima desta concentração de Sr o material pode apresentar uma transição para o estado ferromagnético, que perdura até aproximadamente $\text{Sr} = 0,5$, quando apresenta uma transição para o estado antiferromagnético ou paramagnético.

A dopagem nos sítios da estrutura perovskita (ABO_3) pode alterar a rede cristalina, com a adição de um cátion no sítio A ou B, sendo que os cátions como Ca^{2+} e Sr^{2+} substituem preferencialmente os sítios A, por apresentarem raio atômico maior. As substituições nos sítios modificam a condutividade elétrica e propriedades magnéticas do material. Na manganita de lantânio dopada com estrôncio ($\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$) ocorre a substituição parcial dos íons trivalentes de La^{3+} por íons Sr^{2+} , que são divalentes. O íon divalente Sr^{2+} entra na posição local do íon La^{3+} , sendo o x a concentração do dopante Sr. Essa substituição induz a transição de valência de Mn^{3+} para Mn^{4+} , com o intuito de manter a neutralidade de cargas. Com isso, vários fatores podem alterar o arranjo atômico levando a deformações, tais como: a concentração do dopante, ligações entre os octaedros MnO_6 , pressão parcial de oxigênio e a temperatura de tratamento térmico. Portanto, esses

fatores interferem nas propriedades estruturais das manganitas de lantânio (JU *et al.*, 1997, TARAN *et al.*, 2005).

A interação de dupla troca (DE) entre pares de íons Mn^{3+} e Mn^{4+} , nas estruturas das $LaSrMnO_3$, é responsável pelo ferromagnetismo e propriedades metálicas nestes óxidos de manganês. Nesse mecanismo, um alinhamento paralelo dos spins de manganês é necessário antes que os elétrons possam ser transferidos entre os íons para fornecer transporte de carga. Este mecanismo qualitativamente explica porque o estado ferromagnético é metálico (PAULO, 2014, TURKY *et al.* 2017).

A Figura 17 apresenta a histerese magnética dos *scaffolds* com as seguintes composições: Qui/HA/ $LaMnO_3$, Qui/HA/ $SrMnO_3$, Qui/HA/ $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$ e Qui/HA/ $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$. Observa-se que mesmo depois de adicionada a Qui-HA, o comportamento magnético da manganita foi mantido para as amostras $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$, e $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$.

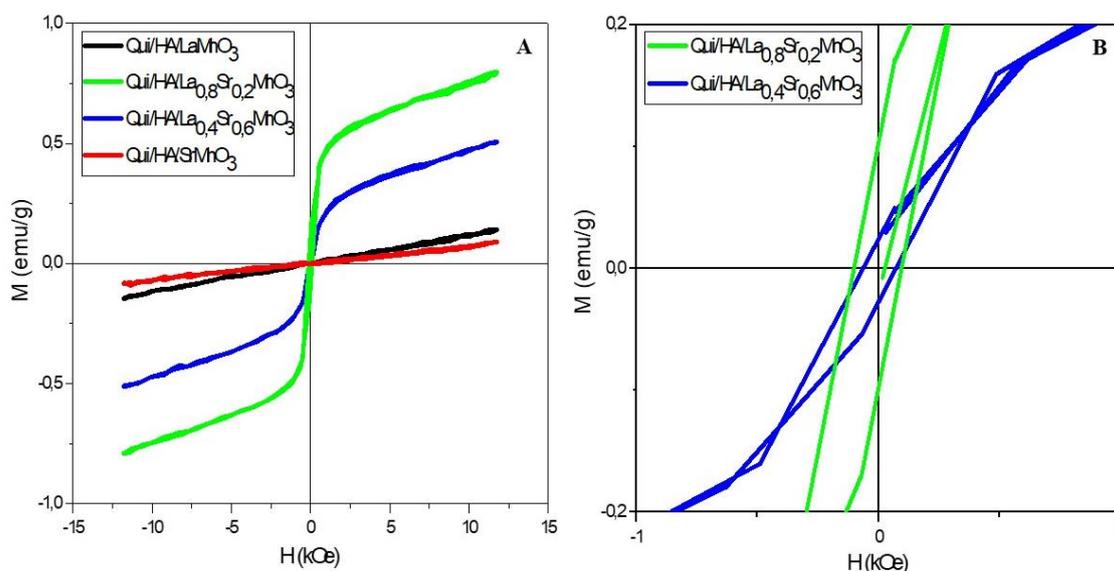


Figura 17. Variação da magnetização dos *scaffolds* com o campo magnético: (A) Qui/HA/ $LaMnO_3$, Qui/HA/ $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$, Qui/HA/ $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$, Qui/HA/ $SrMnO_3$ e (B) amplificação das regiões de magnetização para os *scaffolds*: Qui/HA/ $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$, Qui/HA/ $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$.

Os parâmetros magnéticos, como magnetização de saturação (M_s), magnetização remanescente (M_r) e campo coercivo (H_c) dos pós e dos *scaffolds* são apresentados na Tabela 7. Nota-se que as composições $La_{0,4}Sr_{0,6}MnO_3$ e $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$ apresentam histerese, nos formatos de pós e de *scaffolds*, no entanto, a amostra $La_{0,8}Sr_{0,2}MnO_3$

mostrou maior magnetização de saturação e magnetização remanescente, independentemente, de estar na forma de pó ou de *scaffold* (Tabela 7).

Tabela 7. Variação da magnetização com campo magnético das amostras em pó e *scaffolds*: LaMnO₃, La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃, La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, SrMnO₃.

Amostras	Pó			<i>Scaffold</i>		
	Ms (emu/g)	Mr (emu/g)	Hc (kOe)	Ms (emu/g)	Mr (emu/g)	Hc (kOe)
LaMnO ₃	0	0	0	0	0	0
La _{0,8} Sr _{0,2} MnO ₃	16,050	2,384	-0,010	0,805	0,100	-0,102
La _{0,4} Sr _{0,6} MnO ₃	7,351	0,448	-0,071	0,509	0,022	-0,066
SrMnO ₃	0	0	0	0	0	0

Os resultados registrados para as amostras LaMnO₃ e SrMnO₃ podem estar associados a ausência de defeitos nas suas redes cristalinas, pois a magnetização desses materiais ocorre devido a interferência da dupla troca de pares de íons no ordenamento estrutural da rede cristalina. Turkey *et al.* (2017) afirmaram que os pós de manganita dopados com Sr apresentaram baixa magnetização de saturação e remanescente para as amostras La_{0,5}Sr_{0,5}MnO₃ (Ms 3,76 emu/g e Mr 0,022 emu/g) e La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ (Ms 1,42 emu/g e Mr 0,063 emu/g).

Vale salientar que houve uma redução significativa nos parâmetros de magnetização, Mr e Ms, dos *scaffolds* contendo manganitas em comparação com os pós de manganitas dopadas com Sr. Os pós de La_{0,4}SrMnO₃ e La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ mostraram valores mais elevados de magnetização de saturação e de magnetização remanescente, isso pode ser explicado devido ao material no formato de pó apresenta-se puro. Já nos *scaffolds* as manganitas são incorporadas a matriz de quitosana com hidroxapatita e a interação com os materiais reduz os parâmetros magnéticos. Pois, o magnetismo, provavelmente, está relacionado a interação de dupla troca, um dos fatores importantes que ordena o comportamento nas amostras de manganita dopada com Sr. De acordo com Keshri *et al.* (2014), no caso das manganitas, o arranjo ordenado das ligações Mn–O–Mn é destruído e as ligações formam agrupamentos. Este fenômeno dá uma evidência de ferromagnetismo.

Seguindo esta mesma linha, Li *et al.* (2019) apresentaram resultado de teste magnético com valor superior aos registros do presente trabalho, a magnetização de saturação foi de 3,89 emu/g para os *scaffolds* magnéticos de poli(ácido láctico-co-

glicólico)/HA/magnetita. Kim *et al.* (2014) também mostraram resultados de análises magnéticas com valores semelhantes, os *scaffolds* magnéticos de policaprolactona com 5% e 10% de magnetita apresentaram magnetização de saturação de 1,6 e 3,1 emu/g, respectivamente. Embora a percentagem em massa das partículas magnéticas usadas no presente estudo tenha sido igual ou próxima a dos estudos apresentados acima, a magnetização de saturação dos *scaffolds* foi mais baixa. Isso pode ter correlação com a diferença na composição química das partículas magnéticas estudadas.

De forma geral, observa-se uma coerência dos resultados dessa pesquisa em comparação com os estudos da literatura, já que as manganitas dopadas apresentaram magnetização, diferente das manganitas puras, LaMnO_3 e SrMnO_3 . As manganitas: $\text{La}_{0,4}\text{SrMnO}_3$ e $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$, na forma de pó, mostraram valores mais elevados de magnetização de saturação e de magnetização remanescente, devido ao material se apresentar puro no formato de pó e nos *scaffolds* ocorre a interação com outros materiais reduzindo assim os parâmetros magnéticos.

6.2.5 Resistência à compressão

A Figura 18 apresenta os resultados do ensaio mecânico de resistência a compressão para os *scaffolds* com diferentes composições: Qui/HA/ LaMnO_3 , Qui/HA/ SrMnO_3 , Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,4}\text{MnO}_3$, com e sem reticulação. Observa-se curvas com região elástica de baixos valores de tensão. Do grupo de *scaffolds* sem reticulação, o Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,4}\text{MnO}_3$ apresentou maior valor de tensão 4,34 MPa e o *scaffold* de Qui/HA/ SrMnO_3 o menor valor, 0,61 MPa. Já os valores de tensão para Qui/HA/ LaMnO_3 e Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ foram mais próximos, 1,06 e 1,55 MPa, respectivamente.

As curvas das amostras reticuladas apresentaram um aumento significativo nos valores de tensão. Nas amostras Qui/HA/ LaMnO_3 o valor aumentou de 1,06 para 2,45 MPa; na Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ os valores foram de 1,55 MPa para 2,05 MPa e na Qui/HA/ SrMnO_3 aumentou de 0,61 para 1,43 MPa. Em contrapartida, o valor da tensão para $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,4}\text{MnO}_3$ diminuiu para 0,56 MPa. Fidélis (2014) afirma que a reticulação e a incorporação de materiais cerâmicos podem melhorar as propriedades mecânicas dos *scaffolds*, isto foi confirmado através do presente estudo, já que após a reticulação os

scaffolds apresentaram elevações significativas nos valores de tensão com consequente melhora da resistência a compressão, exceto para os *scaffolds* Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,4}MnO₃.

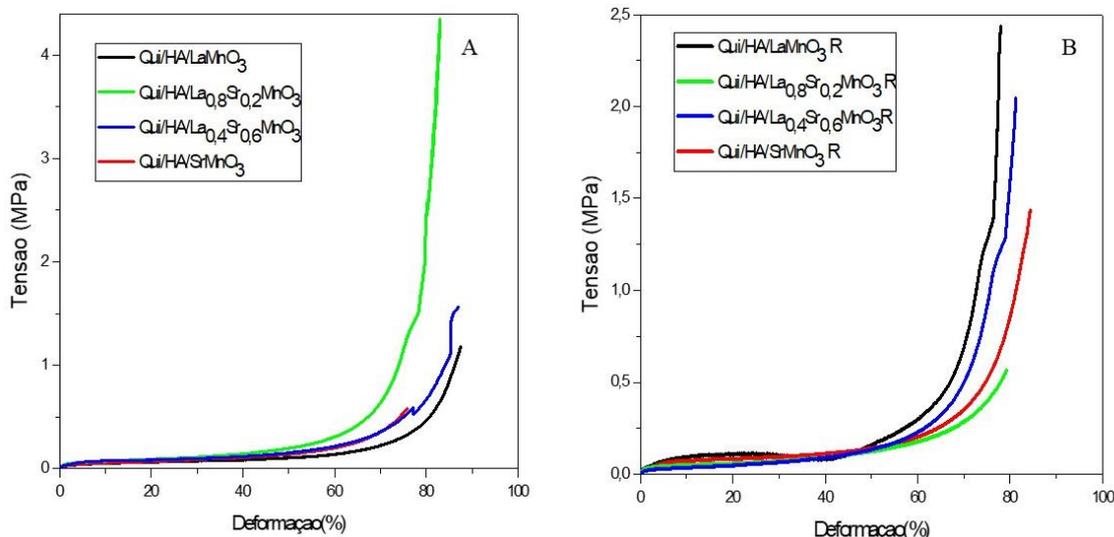


Figura 18. Curvas de tensão-deformação para os *scaffolds*: Qui/HA/LaMnO₃, Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,4}MnO₃, Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ e Qui/HA/SrMnO₃ sem reticular (A) e reticulados (B).

Através da análise das curvas podemos observar que os *scaffolds* estudados apresentaram características estruturais elástica. A região elástica linear pode ser atribuída a flexão das paredes dos poros. Posteriormente, nota-se um platô, começando a compactação dos poros em aproximadamente 40% de deformação. Nesta etapa, o material comprimido preenche os poros, ocorrendo uma elevada absorção de energia. Após a etapa de platô, observa-se a elevação gradual da tensão a partir de 50% de deformação para ambos *scaffolds* sem e com reticulação, etapa denominada de densificação (FOOK, 2012, FIDÉLIS, 2014, ZHU *et al.*, 2014).

Estes resultados podem estar relacionados tanto aos materiais usados na síntese dos *scaffolds*, quanto a microestrutura, porosidade, tamanho e distribuição dos poros. Segundo Salerno e Netti (2014), a elevada proporção de poros é desejada para facilitar a adesão celular e crescimento tecidual, no entanto os poros interferem diminuindo as propriedades mecânicas. O estudo de Fidelis (2014) destaca que os *scaffolds* produzidos com média de porosidade superior a 55%, pode interferir diretamente na resistência mecânica das amostras, pois causa instabilidade durante o teste de compressão, devido ao

aumento da flexão das paredes dos poros. O autor afirma que o *scaffold* não precisa ter propriedades idênticas ao tecido reparado, entretanto, é necessário proporcionar um ambiente mecânico suficiente.

Por outro lado, o estudo de Barbosa (2015) mostra que as tensões suportadas pelas amostras variaram de 3,13 a 4,86 MPa para *scaffolds* com porosidade entre 74 a 76%. Para o autor os valores são adequados para implantes utilizados em osso trabecular, por exemplo, que não exigem alta resistência mecânica. Volkmer (2012) também estudou a produção e caracterização de *scaffolds* de hidroxiapatita e os resultados são compatíveis com os da presente pesquisa, os *scaffolds* apresentaram porosidade de 37 a 73,5% e a compressão variou de 1,9 a 5,45 MPa.

Neste sentido, Kim *et al.* (2014) também realizaram ensaios de compressão nos *scaffolds* magnéticos de policaprolactona e magnetita. Eles evidenciaram uma resposta elástica do material a tensão aplicada, comportamento típico de materiais porosos no curso de densificação e colapso dos poros sob compressão. A incorporação das nanopartículas nos *scaffolds* aumentou a resistência à deformação sob uma carga compressiva, demonstrando que as nanopartículas desempenharam um papel significativo na resistência a compressão dos *scaffolds*.

Outro estudo semelhante com *scaffolds* magnéticos, de poli(ácido láctico-co-glicólico)/HA/magnetita para uso na engenharia tecidual óssea, mostrou resultados próximos aos relatados nesta pesquisa, em relação ao ensaio de resistência a compressão. Por exemplo, o *scaffold* de poli(ácido láctico-co-glicólico)/HA apresentou resistência a compressão de 3,40 MPa, enquanto que no de poli(ácido láctico-co-glicólico)/HA/magnetita a resistência foi de 3,74 MPa (LI *et al.*, 2019).

6.2.6 Análise termogravimétrica (TGA)

A Figura 19 apresenta os resultados da análise de TGA/DTG dos *scaffolds* com diferentes composições: (A) Qui/HA/LaMnO₃, (B) Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, (C) Qui/HA/SrMnO₃ e (D) Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃. Na Figura 20A, nota-se uma perda total de massa de 45% para os *scaffolds* Qui/HA/LaMnO₃, que pode ser associada à decomposição da quitosana. A primeira perda de massa de aproximadamente 5,39% entre 25 e 90°C é atribuída a desidratação do material. Entre 255°C e 400°C ocorre uma perda de massa mais acentuada de 21,62% atribuída a decomposição da matéria orgânica

proveniente da quitosana, apresentando temperatura de máxima perda de massa (DTG) em 312 °C.

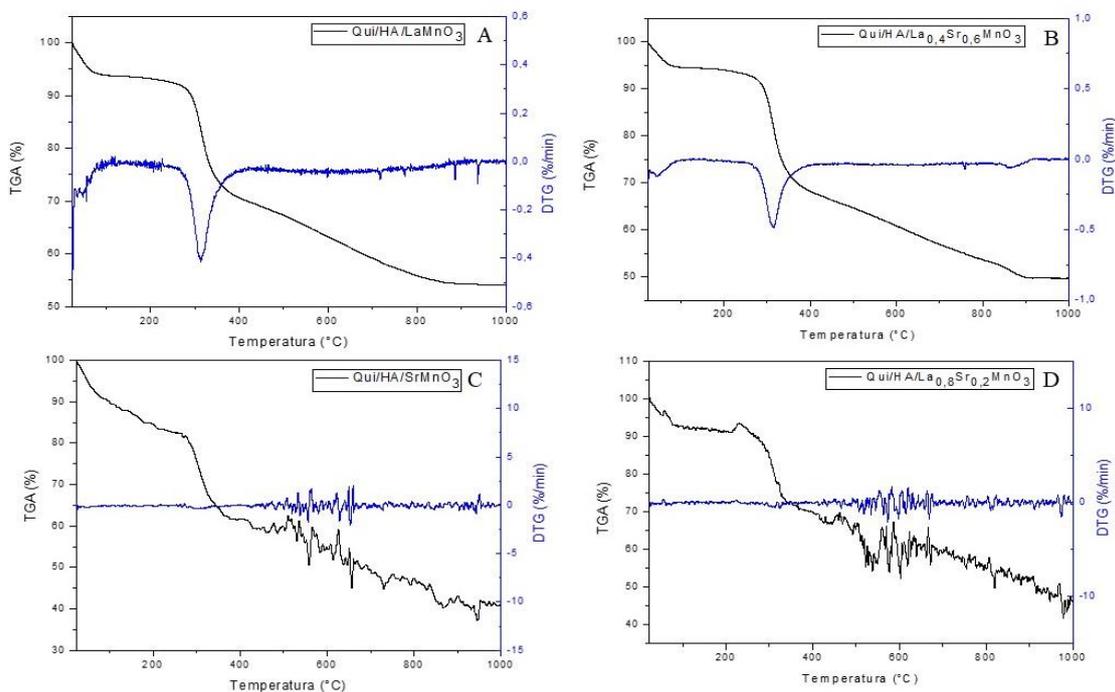


Figura 19. Análise TGA/DTG dos *scaffolds*: (A) Qui/HA/LaMnO₃, (B) Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, (C) Qui/HA/SrMnO₃ e (D) Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃.

Na Figura 19B observamos a análise do *scaffold* Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, que apresenta perda total de massa de 49% devido decomposição da quitosana. A perda inicial de massa de ocorre entre 25°C e 90°C sendo de aproximadamente 4,89 %, associada a perda de água do material. O maior percentual de perda de massa ocorreu de 255°C à 400°C com perda de 24,74% devido a decomposição da quitosana. E a temperatura de máxima perda de massa (DTG) coincidiu com da Qui/HA/LaMnO₃ que foi 312 °C.

A perda total de massa próxima a 50% para Qui/HA/LaMnO₃ e Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, associada a decomposição da quitosana, corresponde a proporção de quitosana (50%), inicialmente, usada na síntese destes *scaffolds*. A proporção de massa resultante corresponde aos materiais cerâmicos, hidroxiapatita e manganita, que também são componentes dos *scaffolds*.

Os resultados da presente pesquisa corroboram com dados relatados por Kakazu e Malmonge (2014), que estudaram a decomposição de *scaffolds* de quitosana, destacando duas etapas de perda de massa, a primeira perda de massa de 10% em temperatura próxima a 100°C, processo que relaciona a desidratação do material, pois é

um biopolímero bastante hidrofílico e as moléculas de água fazem ligações de hidrogênio com os grupamentos amino e hidroxila do material. A segunda que ocorre de 250°C a 300°C com uma perda de massa mais acentuada de aproximadamente 40%, sendo destacado como o intervalo de degradação da quitosana.

Outra pesquisa também apresentou dados compatíveis com os resultados apresentados neste trabalho. A TGA da quitosana mostrou uma perda de massa total de 50% também com duas etapas significativas na decomposição do material. Uma perda de massa próxima a 8% com temperatura máxima de 56,7°C, relacionada com a evaporação de água, já que os polissacarídeos tendem a absorver água. A segunda perda, mais acentuada, de 40,59% que atinge perda máxima em 279 °C, relacionada à decomposição dos materiais (FIDÉLIS, 2014).

Por fim, em relação a porcentagem de massa resultante, após a análise termogravimétrica, observou-se que os *scaffolds* de Qui/HA/LaMnO₃ e Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃ apresentaram 55% e 51%, respectivamente. Essas massas correspondem aos materiais cerâmicos, hidroxiapatita e manganita, presentes nos *scaffolds*, sugerindo que houve a decomposição da quitosana e que a quantidade teórica (50% fase orgânica + 50% fase inorgânica) ficou próxima ao valor experimental (*scaffolds* Qui/HA/LaMnO₃, 45% fase orgânica e 55% fase inorgânica; *scaffolds* Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, 49% fase orgânica e 51 % de fase inorgânica).

Wang *et al.* (2020), também investigaram a degradação de *scaffolds* magnéticos de Qui-HA dopada com lantânio a partir da análise das curvas TG-DTA, relatando uma perda de peso de aproximadamente 5% observada a 50-250 °C, associada a perda de água; e em 250-550 °C houve uma perda de peso de 50% devido ao processo de degradação da quitosana, dados similares aos resultados da presente pesquisa, que registrou perdas de massas em temperaturas aproximadas as referidas pelos autores.

As Figuras 19C e 19D apresentam os resultados para os *scaffolds* de Qui/HA/SrMnO₃ e Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃ que, inicialmente, seguiam padrões de perda de massa semelhantes aos resultados dos *scaffolds* de Qui/HA/LaMnO₃ e Qui/HA/La_{0,4}Sr_{0,6}MnO₃, apesar da presença de ruídos em ambas as curvas. Ainda assim, pôde-se estimar o percentual de fase orgânica para os *scaffolds* de Qui/HA/SrMnO₃ e Qui/HA/La_{0,8}Sr_{0,2}MnO₃, que foi de 55% e 48%, respectivamente.

CAPÍTULO VII

CONCLUSÃO

7. CONCLUSÃO

Os pós cerâmicos tanto da hidroxiapatita quanto das manganitas, assim como os *scaffolds* foram obtidos com êxito, conforme os dados da análise de DRX e FTIR. As análises de DRX mostraram obtenção de hidroxiapatita hexagonal em fase única. E que as manganitas de lântanio (LaMnO_3 , $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ e $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$) cristalizaram na estrutura da perovskita romboédrica; já a manganita de estrôncio (SrMnO_3) apresentou a estrutura hexagonal em fase única.

As micrografias obtidas no MEV mostraram a abertura de poros, significativa distribuição por área para os diferentes tipos de amostras. Os tamanhos de poros entre 50-310 μm estão de acordo com a faixa registrada na literatura como sendo boa para adesão, comunicação celular e para crescimento de fibroblastos e osteócitos em fase inicial.

Em relação ao magnetismo, apenas as amostras Qui/HA/ $\text{La}_{0,4}\text{Sr}_{0,6}\text{MnO}_3$ e Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ apresentaram magnetização, nos formatos de pós e de *scaffolds*, resultado que pode ser associado ao processo de dupla troca nas manganitas dopadas com estrôncio. No entanto, a amostra Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,2}\text{MnO}_3$ mostrou maior magnetização de saturação e magnetização remanente, independentemente de estar na forma de pó, M_s de 16,050 emu/g e M_r de 2,384 emu/g, ou de *scaffold*, M_s de 0,805 emu/g e M_r de 0,100 emu/g.

Através do ensaio de resistência a compressão foi possível observar curvas com regiões elásticas, com Qui/HA/ $\text{La}_{0,8}\text{Sr}_{0,4}\text{MnO}_3$ apresentando maior valor de tensão (4,34 MPa) e SrMnO_3 o menor valor (0,61 MPa).

A análise termogravimétrica demonstrou perda de massa associada à desidratação dos materiais e à decomposição de componentes orgânicos como: carbonatos, nitratos e polímeros.

Por fim, pode-se afirmar que estudos sobre *scaffolds* magnéticos de hidroxiapatita-manganita de lantânio dopada com estrôncio tornam-se importantes para o desenvolvimento científico, pelo seu potencial tecnológico e por serem promissores para o tratamento de perdas ósseas, na área de oncologia e na liberação de fármacos.

CAPÍTULO VIII
REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. K., ATIQ, S., RIAZ, S. *et al.* “Thermally activated variations in conductivity and activation energy in SrMnO₃”, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 2017.
- ANGULO, D. E. L., SOBRALA, P. J. A. “The Effect of Processing Parameters and Solid Concentration on the Microstructure and Pore Architecture of Gelatin-Chitosan Scaffolds Produced by Freeze-Drying”, *Materials Research*, v. 19, pp. 839-845, 2016.
- ANJOS, F. S. C. “Síntese e caracterização de materiais à base de quitosana: aplicação em adsorção de bsa”, Tese, Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, pp. 1-155, 2018.
- ASTM D1621-10. “Standard Test Method for Compressive Properties Of Rigid Cellular Plastics”, 2010.
- ASTM F2450-10. “Standard Guide for Assessing Microstructure of Polymeric Scaffolds for Use in Tissue Engineered Medical Products”, 2010.
- AZEVEDO A. G. S., STRECKER, K., GORGULHO, H. F. “Efeito da temperatura em processos de sinterização de pós de hidroxiapatita”, *Cerâmica*, v. 61, pp. 52-59, 2015.
- BABAEI, M., GHAEI, A., NOURMOHAMMADI, J. “Poly (sodium 4-styrene sulfonate)-modified hydroxyapatite nanoparticles in zein-based scaffold as a drug carrier for vancomycin”, *Materials Science and Engineering C*, v. 100, pp. 874-88, 2019.
- BALAGANGADHARAN, K., DHIVYA, S., SELVAMURUGAN, N. "Chitosan based nanofibers in bone tissue engineering", *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 104, pp. 1372-1382, 2017.
- BARBOSA, W. T. “Obtenção e caracterização de scaffolds de hidroxiapatita a partir do método sol-gel”, Dissertação, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, 2015.
- BIGHAM, A., AGHAJANIAN, A. H., BEHZADZADEH, S. *et al.* “Nanostructured magnetic Mg₂SiO₄-CoFe₂O₄ composite scaffold with multiple capabilities for bone tissue regeneration”, *Materials Science e Engineering C*, v. 99, pp. 83–95. 2019.
- BOCK, N., RIMINUCCI, A., DIONIGI, C., *et al.* “A novel route in bone tissue

- engineering: magnetic biomimetic *scaffold*”, *Acta Biomater*, v. 6, 2010.
- CHEN, Y., ZHU, J., ZHANG, S. *et al.* “Preparation and Characterization of Lanthanum Strontium Manganite Thin Films by Metal-Organic Chemical Liquid Deposition”, *Rapid Communications of the American Ceramic Society*, 2011.
- CHIBA, R.I; Vargas, R.A.I; Andreoli, M.I; *et al.* “Catodo para célula a combustível de óxido sólido: Síntese e caracterização de manganito de lantânio dopado com estrôncio”, *Revista Matéria*, v. 12, n. 3, pp. 428 – 437, 2007.
- COJOCARU, F. D., BALAN, V., POPA, M. I. *et al.* “Biopolymers – Calcium phosphates composites with inclusions of magnetic nanoparticles for bone tissue engineering”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 125, pp. 612–620, 2019.
- CUNNINGHAM, E., DUNNE, N. “Comparative Characterisation of 3-D Hydroxyapatite *Scaffolds* Developed Via Replication of Synthetic Polymer Foams and Natural Marine Sponges”, *Journal of Tissue Science & Engineering*, v.1, n. 1, pp. 1-9, 2012.
- DHAMA, R., NAYEK, C., THIRMAL, C. *et al.* “Enhanced magnetic properties in low doped $\text{La}_{1-x}\text{Ba}_x\text{MnO}_{3+\delta}$ ($x=0, 0.1$ and 0.2) nanoparticles” *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 364, pp. 125-128, 2014.
- DIAS, C. S. B. “Estudo de vórtice magnético em nanopartículas para aplicações em hipertermia magnética”, Tese, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Física Gleb Wataghin, pp. 1-183, 2014.
- DJANI, F., NOUREDDINE, I., MARTINEZ ARIAS, A. M. *et al.* “Characterization of $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ($0 \leq X \leq 0.2$) nanopowders synthesized by diferente methods”, *UPB Scientific Bulletin*, v. 80, 2018.
- DONG, Y., LIANG, J., CUI, Y. *et al.* “Fabrication of novel bioactive hydroxyapatitechitosan-silica hybrid *scaffolds*: Combined the sol-gel method with 3D plotting technique”, *Carbohydrate Polymers*, v. 197, pp. 183-193, 2018.
- DOROZHKIN, S. V., “Calcium orthophosphates (CaPO_4): Occurrence and properties”. *Morphologie*, 2017.
- EHI-EROMOSELE, C. O., ITAA, B. I., IWEALA, E. E. J. *et al.* “Silica coated LSMO magnetic nanoparticles for the pH-Responsive delivery of 5-Fluorouracil anticancer drug”, *Colloids and Surfaces*, v. 530, pp.164–171, 2017.
- ELTOM, A., ZHONG, G., MUHAMMAD, A. “*Scaffold* Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review”, *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019.

- FIDÉLES, T. B. “Desenvolvimento de *scaffolds* de quitosana para aplicação na engenharia de tecidos”, Tese, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, pp. 1-122, 2014.
- FILHO, A. C. G. “Estudo da estrutura e propriedades magnéticas de ferritas de Ni²⁺/Zn²⁺ dopadas com Nd³⁺”, Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Física, pp. 1-106, 2014.
- FOOK, A.C.B.M. “Desenvolvimento de Arcabouços Compósitos Hidroxiapatita-Biopolímero para Engenharia de Tecidos”. Tese, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, 2012.
- FOX, K., TRAN, P. A., TRAN, N. "Recent advances in research applications of nanophase hydroxyapatite", *ChemPhysChem*, v. 13, n. 10, pp. 2495-2506, 2012.
- GE, J., ZHAI, M., ZHANG, Y. *et al.* “Biocompatible Fe₃O₄/chitosan *scaffolds* with high magnetism”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 128, pp. 406-413, 2019.
- GHASSEMI, T., SHAHROODI, A., EBRAHIMZADEH, M. H. *et al.* "Current Concepts in *Scaffolding* for Bone Tissue Engineering", *Archives of Bone and Joint Surgery*, v. 6, n. 2, pp. 90-99, 2018.
- GHOLIZADEH, A. “X-Ray Peak Broadening Analysis in LaMnO₃+ δ Nano-Particles with Rhombohedral Crystal Structure”, *Journal of Advanced Materials and Processing*, v.3, n. 3, pp. 71-83, 2015.
- GHOSH, A., SAHU, A. K., GULNAR, A. K. *et al.* “Synthesis and Characterization of Lanthanum Strontium Manganite”, *Scripta Materialia*, v. 52, pp. 1303-1309, Feb. 2005.
- GIERSZEWSKA, M., OSTROWSKA-CZUBENKO, J. “Chitosan-based membranes with different ionic crosslinking density for pharmaceutical and industrial applications”, *Carbohydrate Polymers*, v. 153, pp. 501–511, 2016
- GOMATHI, T., PRASAD, P. S., SUDHA, P. N. *et al.* “Size optimization and in vitro biocompatibility studies of chitosan nanoparticles”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v.104, 2017.
- GSHALAEV V. S.; DEMIRCHAN, A. C. “Hydroxyapatite: synthesis, properties, and applications (Biomaterials - Properties, Production and Devices)”, *Biomedical*, v. 1, 2012.
- HAJINASAB, A., SABER-SAMANDARI, S., AHMADI, S. *et al.* “Preparation and characterization of a biocompatible magnetic *scaffold*

- for biomedical engineering”, *Materials Chemistry and PhysiQUIT*, v. 204, pp. 378-387, 2018.
- HE, J., HU, H., ZENG, X. “A magnetic hydroxyapatite composite *scaffold*based magnetic therapy for bone repair: na experimental study in canis lupus familiaris” *Regenerative Biomaterials*, v. 39, 2017.
- HE, X., LIU, Y., YUAN, X. *et al.* "Enhanced healing of rat calvarial defects with MSCs loaded on BMP-2 releasing chitosan/alginate/hydroxyapatite *scaffolds*", *PLoS ONE*, v. 9, n. 8, 2014.
- HEIDARI, F., BAHROLOLOOM, M. A., VASHAEE, D. *et al.* “In situ preparation of iron oxide nanoparticles in natural hydroxyapatite/chitosan matrix for bone tissue engineering application”. *Ceramics International*, v. 41, pp. 3094–3100, 2016.
- HOSSEINKHANI, M.; MEHRABANI, D.; KARIMFAR, M. “Tissue Engineered *Scaffolds* in Regenerative Medicine”, *World J Plast Surg*, v. 3, n. 1, pp. 3-7, 2014.
- ISOLA, J. G. M. P., CASTRO, P. “Estrutura e regeneração óssea: revisão de literatura”, *Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária*, v. 18, 2012.
- JESUS, A. C. B. “Síntese e Caracterização de Nanoestruturas Fe₃O₄ e Fe₃O₄@Ag para Estudos com Hipertermia Magnética”, Dissertação, Universidade Federal de Sergipe, Programa de Pós-Graduação em Física, pp. 1-89, 2018.
- JU, H. L., SOHN, L. “Role of grain boundaries in double exchange manganite oxides La_{1-x}A_xMnO₃ (A = Ba, Ca)”, *Solid State Commun.*, v. 102, pp. 463-466, 1997.
- KALITA, V. M., POLISHCHUK, D. M., KOVALCHUK, D. G. *et al.* “Interplay between superparamagnetic and blocked behavior in an ensemble of lanthanum-strontium manganite nanoparticles”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 19, pp. 27015-27024, 2017.
- KAMAN, O., DEDOURKOVA, T, KOKTAN, J. *et al.* “Silica-coated manganite and Mn-based ferrite nanoparticles: a comparative study focused on cytotoxicity”, *J Nanopart Res*, 2016.
- KANDASAMY, G. “Recent advancements in manganite perovskites and spinel ferrite-based magnetic nanoparticles for biomedical theranostic applications”, *Nanotechnology*, v. 30, 2019.
- KESHRI, S., KUMARB, V., WISNIEWSKI, P. *et al.* “Synthesis and characterization of LSMO manganite-based biocomposite”, *Phase Transitions*, v. 87, pp. 468–476, 2014.
- KIM, J., SINGH, R. K., SEO, S. *et al.* “Magnetic scaffolds of polycaprolactone with functionalized magnetite nanoparticles: physicochemical, mechanical, and biological

- properties effective for bone regeneration”, *Royal Society of Chemistry Adv.*, v. 4, 2014.
- KULKARNI, V.M., BODAS, D., PAKNIKAR, K. M. *et al.* “Lanthanum strontium manganese oxide (LSMO) nanoparticles: a versatile platform for anticancer therapy”. *RSC Adv.*, v.5, 2015.
- KUMAR, R. D., THANGAPPAN, R., JAYAVEL, R. “Enhanced visible light photocatalytic activity of LaMnO₃ nanostructures for water purification”, *Res Chem Intermed*, v. 44, pp. 4323-4337, 2018.
- LI, M., JIANHENG LIU, J., CUI, X. *et al.* “Osteogenesis effects of magnetic nanoparticles modified-porous scaffolds for the reconstruction of bone defect after bone tumor resection”, *Regenerative Biomaterials*, v. 6, pp. 73-381, 2019.
- LI, K. B., CHENG, R. S., WANG S. G. *et al.* “Infrared transmittance spectra of the granular perovskite La_{2/3}Ca_{1/3}MnO₃”, *J Phys: Condens Matter*, v. 10, pp.4315–4322, 1998.
- LIMA, L. M. J., TAVARES, S. D., RESENDE, X. C. “Desenvolvimento de arcabouço de hidroxiapatita, quitosana e ranelato de estrôncio para utilização como enxerto ósseo”. In: 4º Encontro Nordeste de Ciência e Tecnologia de Polímeros, Aracaju-SE, 2018.
- LIU, M., ZHENG, H., CHEN, J., *et al.*, “Chitosan-chitin nanocrystal composite scaffolds for tissue engineering”. *Carbohydrate Polymers*, v.152, pp.832–840, 2016.
- LOU, W., YIWEN DONG, Y., ZHANG, H. *et al.* “Preparation and Characterization of Lanthanum-Incorporated Hydroxyapatite Coatings on Titanium Substrates”, *Int. J. Mol. Sci*, v. 16, pp. 21070-21086, 2015.
- MANZOOR, S., AHMED, A., RASHID, A. U. *et al.* “Study of Magnetothermal Properties of Strontium Doped Lanthanum Manganite Nanoparticles for Hyperthermia Applications”, *Transactions On Magnetism*, v. 49, n. 7, 2013.
- MARCONE, E., SCHIMASSEK, R., NEDER, V. M. ”Enxertos e membranas na odontologia: Revisão da literatura”, *Revista de Odontologia da Braz Cubas*, v. 10, n.1, 2020.
- MOHAMMADI, H., SEPANTAFAR, M., MUHAMAD, N. *et al.* “How Does Scaffold Porosity Conduct Bone Tissue Regeneration?”, *Adv. Eng. Mater*, v. 23, 2021.
- MONDAL, S., PAL, U. “3D hydroxyapatite scaffold for bone regeneration and local drug delivery applications”, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 53, pp.101-131, 2019.

- NAZEER, M. A., YILGOR, E., YILGOR, I. "Intercalated chitosan/hydroxyapatite nanocomposites: Promising materials for bone tissue engineering applications", *Carbohydrate Polymers*, v. 175, pp. 38-46, 2017.
- OLIVEIRA, S. S. L., OLIVEIRA, H. M. L., FOOK, M. V. L. "Arcabouços obtidos por agregação de esferas de quitosana/hidroxiapatita", *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 3, n. 3, pp. 128-136, 2015.
- ORTOLANI, A., BIANCHI, M., MOSCA, M. *et al.* "The prospective opportunities offered by magnetic *scaffolds* for bone tissue engineering: a review". *Joints*, v. 4 pp. 228-235, 2017.
- ORYAN, A., KAMALI, A., MOSHIRI, A. *et al.* "Chemical crosslinking of biopolymeric *scaffolds*: Current knowledge and future directions of crosslinked engineered bone *scaffolds*", *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 107, pp. 678-688, 2018.
- PANDE, V., KHARDE, A., BHAWAR, P. *et al.* "*Scaffolds*: Porous *Scaffold* for Modulated Drug Delivery", *Austin Therapeutics*, v. 3, 2016.
- PANSERI, S., CUNHA, C., D'ALESSANDRO, T. *et al.* "Magnetic Hydroxyapatite Bone Substitutes to Enhance Tissue Regeneration: Evaluation In Vitro Using Osteoblast-Like Cells and In Vivo in a Bone Defect", *PLoS ONE*, v.7, 2012.
- PAULO, V. I. M. "Influência do método de preparação sobre as propriedades magnéticas de manganitas $La_{1-x}Sr_xMnO_3$ ", Dissertação, Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, pp. 1-103, 2014.
- PAWELEC, K. M., HUSMANN, A., BEST, S. M. *et al.* "Altering crystal growth and annealing in ice-templated *scaffolds*", *J Mater Sci*, v. 50, pp. 7537-7543, 2015.
- PETRAUSKAITE, O., JUODZBALYS, G., VISKELIS, P. *et al.* "Control of the porous structure of cellulose-based tissue engineering *scaffolds* by means of lyophilization", *Cellulose Chem. Technol.*, v. 50, pp. 23-30, 2016.
- PICCIRILLO, C. L., CASTRO, P. M. "Calcium hydroxyapatite-based photocatalysts for environment remediation: Characteristics, performances and future perspectives", *Journal of Environmental Management*, v. 193, pp. 79-91, 2017.
- PIGHINELLI, L., KUCHARSKA, M. "Chitosan-hydroxyapatite composites", *Carbohydrate Polymers*, v. 93, n. 1, pp. 256-262, 2013.
- PRZEKORA, A., PALKA, K., GINALSKA, G. "Biomedical potential of chitosan/HA and chitosan/ β -1,3-glucan/HA biomaterials as *scaffolds* for bone regeneration-A

- comparative study", *Materials Science and Engineering C*, v. 58, pp. 891-899, 2016.
- RABELO, A. A., MACEDO, M. C., MELO, D. M. A. *et al.* "Synthesis and Characterization of $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_{3\pm\delta}$ Powders Obtained by the Polymeric Precursor Route". *Materials Research*, v.14, pp. 91-96, 2011.
- RABELO, S. S. "Filmes de manganita de lantânio dopados com estrôncio para utilização em pilhas a combustível do tipo PACOS-TP", Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2009.
- RABELO, S.S., VENANCIO, S.A., PAES, H.R., *et al.* "Influência do substrato nas propriedades estruturais e morfológicas de filmes de manganita de lantânio dopados com estrôncio depositados por spray-pirolise" *Revista Matéria*, v. 12, pp. 44-53, 2007.
- RASHID, A. U., AHMED, A., AHMAD, S. N. *et al.* "Study of specific absorption rate of strontium doped lanthanum manganite nanoparticles for self-controlled hyperthermia applications", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 347, pp. 39-44, 2013.
- REHAB, E. A., NGIDAA, M. F., ZAWRAHA, R. M. *et al.* "Hydrothermal synthesis, sintering and characterization of nano La manganite perovskite doped with Ca or Sr", *Ceramics International*, v. 45, pp. 4894-4901, 2019.
- RESENDE, C. X. "Desenvolvimento de Compósito Dupla-Camada à base de Quitosana para Aplicação em Reconstrução Tecidual", Tese, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2010,
- ROLIM, A. E., KAMALI, A., MOSHIRI, A. H. *et al.* "Chitosan scaffolds-Physico-Chemical and biological properties for bone repair". *Revista Virtual de Química*, v. 10, pp. 211-228, 2018.
- RUSSO, A., BIANCHI, M., SARTORI, M. *et al.* "Bone regeneration in a rabbit critical femoral defect by means of magnetic hydroxyapatite macroporous scaffolds", *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, v. 106, pp. 546-554, 2018.
- SALERMO, A., NETTI, P.A. "Optimal design and manufacture of biomedical foam pore structure for tissue engineering", *Biomedical Foams for Tissue Engineering Applications*, 2014.
- SAPIR-LEKHOVITSER, Y., ROTENBERG, M. Y., JOPP, J. "Magnetically actuated tissue engineered scaffold: insights into mechanism of physical stimulation",

Nanoscale. Author manuscript, 2017.

- SARAVANAN, S., SAMEERA, D. K., MOORTHY, A. *et al.* "International Journal of Biological Macromolecules Chitosan *scaffolds* containing chicken feather keratin nanoparticles for bone tissue engineering", *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 62, pp. 481-486, 2013.
- SHI, D., SHEN, J., ZHANG, Z. *et al.* Preparation and properties of dopamine-modified alginate/chitosan–hydroxyapatite *scaffolds* with gradient structure for bone tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 107, 2019.
- SHLAPA, Y., SOLOPAN, S., BELOUS, A. "Nanoparticles of $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ($0.23 \leq x \leq 0.25$) manganite: Features of synthesis and crystallochemical properties", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, v. 510, 2020.
- SHUAI, C., Cheng Y., Yang, W. "Magnetically actuated bone *scaffold*: Microstructure, cell response and osteogenesis", *Composites Part B*, v. 192, 2020.
- SILVA, W. J., MELO, D. M. A., SOARES, S. F. C. X. *et al.* "Síntese de Manganita de Lantânio com Substituição Parcial do La por Sr pelo Método Citrato", *Revista Matéria*, v. 12, pp. 65 – 71, 2007.
- SILVESTRO, I., FRANCOLINI, I., LISIO, V. D. *et al.* "Preparation and Characterization of TPP-Chitosan Crosslinked *Scaffolds* for Tissue Engineering" *Materials*, v.13, 2020
- SOLEYMANI, M., EDRISSI, M., ALIZADEH, A. M. "Tailoring $\text{La}_{1-x}\text{Sr}_x\text{MnO}_3$ ($0.25 \leq x \leq 0.35$) nanoparticles for self-regulating magnetic hyperthermia therapy: an *in vivo* study", *Journal of Materials Chemistry B*, v.5, n.24, pp.4705-4712, 2017.
- STÖTZEL, C., MÜLLER, F. A., REINERT, F., "Ion adsorption behaviour of hydroxyapatite with different crystallinities", *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, v. 74, 2009.
- TANASA, E., ZAHARIA, C., HUDITA, A. "Impact of the magnetic field on 3T3E1 preosteoblasts inside SMART silk fibroin-based *scaffolds* decorated with magnetic nanoparticles", *Materials Science e Engineering C*, v.110, 2020.
- TARAN, S., CHAUDHURI, B. K. "Critical exponents of the $\text{La}_{0.7}\text{Sr}_{0.3}\text{MnO}_3$, $\text{La}_{0.7}\text{Ca}_{0.3}\text{MnO}_3$ and $\text{Pr}_{0.7}\text{Ca}_{0.3}\text{MnO}_3$ systems showing correlation between transport and magnetic properties", *J. Appl. Phys.*, v. 98, 2005.
- TARRAGÓ, D. P. "Síntese de manganita dopada com estrôncio e cobaltita dopada com antimônio e caracterização microestrutural", Dissertação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas,

- Metalúrgica e Materiais, pp. 1-124, 2012.
- THORAT, N. D., SHINDE, K. P., PAWAR, S. H. “Polyvinyl alcohol: an efficient fuel for synthesis of superparamagnetic LSMO nanoparticles for biomedical application”, *Dalton Transactions*, v. 41, 2012.
- TOMAZ, A. F., CARVALHO, S. M. S., BARBOSA, R. C. *et al.* “Ionically Crosslinked Chitosan Membranes Used as Drug Carriers for Cancer Therapy Application”, *Materials*, v.11, 2018
- TORGBO, S., SUKYAI, P. “Fabrication of microporous bacterial cellulose embedded with magnetite and hydroxyapatite nanocomposite *scaffold* for bone tissue engineering”, *Materials Chemistry and Physics*, v. 237, 2019.
- TRAN, T. H., PHI, T. H., NGUYEN, H. N. *et al.* “Sr doped LaMnO₃ nanoparticles prepared by microwave combustion method: A recyclable visible light photocatalyst”, *Results in Physics*, v. 19, 2020.
- TRAUTMANN, A.; RUTH, M.; LEMKE, H. *et al.* “polymerization based large *scaffolds* for adhesion and proliferation studies of human primary fibroblastos”, *Optics and Laser Technology*, v. 106, pp. 474-480, 2018.
- TURKY, A. O., RASHAD, M. M., HASSAN, A. M. *et al.* “Optical, electrical and magnetic properties of lanthanum strontium manganite La_{1-x}Sr_xMnO₃ synthesized through the citrate combustion method”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 19, pp. 6878-6886, 2017.
- VOLKMER, T. M. “Obtenção e caracterização de hidroxiapatita porosa pelo método gelcasting de esponjas para uso como implantes”. Dissertação, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, 2006.
- WANG, Q., TANG, Y., KE, Q. *et al.* “Magnetic lanthanum-doped hydroxyapatite/chitosan *scaffolds* with endogenous stem cellrecruiting and immunomodulatory properties for bone regeneration”. *J. Mater. Chem. B*, v. 8, 2020.
- WU, S., LIU, X., YEUNG, K. W. K. *et al.* "Biomimetic porous *scaffolds* for bone tissue engineering", *Materials Science and Engineering R: Reports*, v. 80, n. 1, pp. 1-36, 2014.
- XIA, Y., SUN, J., ZHAO, L. “Magnetic field and nano-*scaffolds* with stem cells to enhance bone regeneration”, *Biomaterials*, v.183, 2018.
- XU, Y., HAN, J., CHAI, Y. *et al.* “Development of porous chitosan/tripolyphosphate *scaffolds* with tunable uncross-linking primary amine content for bone tissue

- engineering”, *Materials Science & Engineering C*, v. 85, pp.182–190, 2018.
- ZHAO, Y., FAN, T., CHEN, J. *et al.* “Magnetic bioinspired micro/nanostructured composite *scaffold* for bone regeneration”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v.174, pp. 70–79, 2019.
- ZHU, Y., JIANG, P., LUO, B. *et al.* “Dynamic protein corona influences immunomodulating osteogenesis in magnetic nanoparticle (MNP)-infiltrated bone regeneration *scaffolds* in vivo”, *Nanoscale*, v. 11, 2019.
- ZHU, Y., WAN, Y., ZHAN, J. *et al.* ”Manufacture of layered collagen/chitosan-polycaprolactone *scaffolds* with biomimetic microarchitecture”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 113, pp. 352-360, 2014.
- ZULKIFLI, F.; HUSSAIN, F.; HARUN, W. *et al.* “Highly porous of hydroxyethyl cellulose biocomposite *scaffolds* for tissue engineering”, *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 122, pp. 562-571, 2019.