



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
GRUPO DE BIOPOLÍMEROS E FOTOQUÍMICA

Thiago Nunes Palhares

**Desenvolvimento de resinas compósito para impressão 3D
por fotopolimerização aplicada à engenharia tecidual**

São Carlos - SP

Maio de 2023

Thiago Nunes Palhares

**Desenvolvimento de resinas compósito para impressão 3D
por fotopolimerização aplicada à engenharia tecidual**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós- Graduação do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Físico-Química

Candidato: Thiago Nunes Palhares

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro

São Carlos - SP

Maio de 2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura: 
Data: 22/08/2023

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Palhares, Thiago Nunes

Desenvolvimento de resinas compósito para impressão 3D por fotopolimerização aplicada à engenharia tecidual / Thiago Nunes Palhares. — São Carlos, 2023.
136 f.

Tese (Doutorado em Físico-Química) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2023.
Edição revisada

Orientadora: Profa. Dra. Carla Cristina Schmitt Cavalheiro

1. Engenharia tecidual. 2. Impressão 3D. 3. Fotopolimerização. 4. Policaprolactona. 5. Silanização. I. Título.

Wilneide do C. M. Maiorano - CRB: 3978/8



DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha filha, Luna, que com apenas seis meses de idade já preenche seu apaixonado pai de motivação e alegria.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus. Ele que permitiu que as oportunidades fossem possíveis, que o conhecimento aflorasse e que me segurou firme nos momentos difíceis.

À minha mãe Lucilene Nunes Palhares, que nunca enxergou obstáculos para assegurar um futuro promissor aos seus filhos. A quem me deu força, se desdobrou sem medir esforços e deu base para tudo aquilo que eu conquistei e ainda que ainda será almejado.

Ao meu falecido pai Wellington Rodrigues Palhares, que desde sempre enxergou meu potencial e moldou em nós, seus filhos, o conceito de trabalho duro, comprometido e dedicado. Sempre deixou claro que é estudando que se conquista as oportunidades.

À minha irmã Thaís Nunes Palhares, que em momentos difíceis se tornou presente, um instrumento de Deus e segurou forte em minhas mãos para que eu não cedesse em momentos difíceis.

Ao meu irmão Wellington Nunes Palhares, que sempre foi alguém ao qual admirei, e que me deu incentivo e apoio para que concluísse esse doutorado.

À minha melhor amiga, companheira, noiva e futura esposa, Luana Ingrid Góes dos Santos, e mãe de minha filha, Luna Góes Palhares, nosso bem mais precioso. Agradeço o apoio amoroso em todas as minhas “aventuras”, ideias disruptivas e suportar o peso que muitas vezes sobre caiu em seus ombros, para que eu pudesse me dedicar a essa tese e que ela fosse possível. Ainda, à sua mãe, Marliete Góes dos Santos, por estar presente e nos suportar nesta nova fase de nossas vidas.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Carla Cristina Schmitt Cavalheiro, por ter acreditado nas mais diversas ideias, me dado a liberdade por criar, expandir e apoiar sem impedimentos todo o conteúdo nesta tese. Que disponibilizou de tempo, recurso e espaço necessários

para o desenvolvimento de tal conquista. Além da hospitalidade, apoio e confiança depositados.

À amiga Alessandra Poli, que sempre esteve me apoiando nos bastidores seja fazendo conversas paralelas, análises, interpretando resultados, discutindo e revisando “as coisas da mente” que eu a apresentava.

Ao Prof. Dr. Eder Tadeu Cavalheiro, que disponibilizou recursos, equipamento, maquinário e equipe (LATEQS) para que esta tese fosse possível.

Ao amigo Anderson Arandas, desde o princípio preocupado, acolhedor, apoiador e sempre solícito quando fosse necessário.

À amiga Gabriela Rodrigues, por todo o suporte na mão de obra, manhãs que teve que madrugar e o esforço dedicado para que os experimentos saíssem no horário e do jeito planejado.

Ao amigo João Lovo, pela disponibilidade sem restrições de poder me receber, discutir os conceitos e diversos assuntos que permearam por esta tese. Além de ter sido proativo e fundamental na materialização de protótipos e ferramental usados.

Ao companheiro Marco Horn, que de bom grado se deslocou de longe, disponibilizado de tempo e conhecimento para os ensaios de cinética fossem possíveis e calculados.

À amiga Eliada Andrade, que sempre esteve disposta a entender minhas dificuldades, dar suporte nos experimentos, discutir os resultados e pela hospitalidade dada sem comedimento.

Ao amigo Renan Bernardes, que sempre esteve de prontidão e solícito em ajudar nos aparatos dos experimentos, dar suporte nos diversos softwares de análise de dados e interpretação de resultados.

À amiga Ana Luiza Moura, pela disponibilidade e apoio dado durante as etapas da pesquisa. Além das conversas diversas que davam força para continuar até o fechamento desta tese.

Ao amigo Vinicius Luna, por toda resenha, o ânimo e motivação gerado ao longo deste período de doutorado. Também, pelo suporte pessoal e técnico quando procurado.

Ao amigo Ziom Drake, que trouxe não somente a importância do preparo intelectual, mas como também a dedicação e a parceria no preparo físico.

À amiga Silvia Albuquerque, a qual dispôs das mais diversas forças e energias para eu poder alcançar a conclusão deste trabalho. A quem posso contar a qualquer momento para falar de família, religião, assuntos pessoais ou para “oxigenar” as ideias para os projetos que sempre surgem à nossa frente.

À amiga Prof^a Dr^a. Sara Gemini, por dispor dos recursos, tempo e notório conhecimento para que os resultados biológicos desta tese fossem efetivados. Além de estar sempre disposta para falar e discutir sobre novas possibilidades de ensaios e trabalhos.

Ao mestre e amigo Prof Dr. Ricardo Michel, que foi o responsável pelo conhecimento por tudo que sei sobre impressão 3D, e após anos na área, ainda me suporta e traz novidades que fazem toda a diferença. Sou grato por tantas portas abertas que encontrei pelo seu entusiasmo ao ensinar e repassar o conhecimento de forma tão prazerosa.

À amiga, Denize Vilela, que sempre me mostra novidades e aplicações da impressão 3D na saúde, a qual me possibilitou encontrar novas formas de abordar este tema nesta tese.

Ao excelentíssimo Dr. Jorge Vicente Lopes, a quem tenho como exemplar de profissional a ser seguido e pessoa de caráter indiscutível. Agradeço pelas possibilidades e liberdade ao qual me possibilitou explorar na impressão 3D.

Aos companheiros Claudio Morassuti, Izaque Maia e Marina Donaire do CTI Renato Archer pelo suporte e ensinamento dado no ensaio de microtomografia. Sem dúvidas, a ajuda de vocês fez toda diferença.

Ao meu coordenador, Prof. Dr. Renato Rozental, que nunca criou ressalvas sobre a realização deste doutorado. Pelo contrário, incentivou, deu apoio e abriu novas oportunidades de trabalho que trouxeram mais notoriedade à minha carreira profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

À Fundação de Amparo à Pesquisa Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio, processo nº 2019/22217-8.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

"Todas as vezes que a sorte me procurou,
ela me encontrou trabalhando."

Pablo Picasso

RESUMO

A impressão 3D tem sido amplamente utilizada na engenharia tecidual para criar implantes com diferentes formatos, tamanhos e propriedades mecânicas. Neste contexto, a impressão 3D pode ser utilizada para a fabricação de arcabouços, que são estruturas tridimensionais que servem como suporte para o crescimento de células e tecidos. Nesta tese, foi desenvolvida resina compósito fotopolimerizável de policaprolactona (PCL) funcionalizadas por grupamentos metacrilato. A escolha deste polímero se deve pelo fato de ser classificado como biocompatível e bioabsorvível. Estas características são potencializadas pela adição de cargas biocerâmicas, como a hidroxiapatita (HAp) que, também, promove a bioatividade em tecidos ósseos e dentários. Ainda, a superfície de HAp foi funcionalizada com 3-aminopropiltrimetoxisilano (APTES), permitindo maior interação da matriz polimérica e a carga inorgânica. Assim, a partir desta resina compósito investigou-se as propriedades mecânicas e físico-químicas, molhabilidade, biocompatibilidade, adesão celular e indução de produção de matriz extracelular. Para a impressão 3D, as peças apresentaram boa definição e imprimibilidade. A resina com as melhores propriedades mecânicas foi obtida com uma carga de 10% (m/m) de HAp-Si (PCLMA10S), resultando em melhorias significativas em relação à resina pura (PCLMA). O módulo de Young aumentou para $71,1 \pm 2,1$ MPa (+30,7%), a resistência à compressão para $269,4 \pm 35,0$ MPa (+81,9%) e a deformação na ruptura para $52,7 \pm 1,1\%$ (+11,2%). Além disso, um estudo foi realizado para avaliar a porosidade e a arquitetura da estrutura impressa. Os resultados demonstraram uma boa qualidade, reprodutibilidade e capacidade de impressão de arcabouço giroide com porosidade de 78,3% e tamanho de poro de aproximadamente 0,66 mm quando o absorvedor de luz foi adicionado à resina (PCLMA10SO_r). Portanto, a resina desenvolvida mostrou ser adequada para impressão 3D por fotopolimerização e apresenta características promissoras para aplicações na engenharia tecidual.

Palavras-chave: Engenharia tecidual, impressão 3D, fotopolimerização, policaprolactona, silanização.

ABSTRACT

3D printing has been widely used in tissue engineering to create implants with different shapes, sizes, and mechanical properties. In this context, 3D printing can be used to manufacture scaffolds, which are three-dimensional structures that serve as a support for cell and tissue growth. In this thesis, a photopolymerizable composite resin of polycaprolactone (PCL) functionalized with methacrylate groups was developed. The choice of this polymer is due to its classification as biocompatible and bioabsorbable. These characteristics are enhanced by the addition of bioceramic fillers, such as hydroxyapatite (HAp), which also promotes bioactivity in bone and dental tissues. Furthermore, the surface of HAp was functionalized with 3-aminopropyltrimethoxysilane (APTES), allowing for a greater interaction between the polymer matrix and the inorganic filler. Thus, this composite resin was investigated for its mechanical and physicochemical properties, wettability, biocompatibility, cell adhesion, and induction of extracellular matrix production. For 3D printing, the parts exhibited good definition and printability. The resin with the best mechanical properties was obtained with a 10% (w/w) loading of HAp-Si (PCLMA10S), resulting in significant improvements compared to the pure resin (PCLMA). The Young's modulus increased to 71.1 ± 2.1 MPa (+30.7%), the compressive strength to 269.4 ± 35.0 MPa (+81.9%), and the fracture strain to $52.7 \pm 1.1\%$ (+11.2%). Additionally, a study was conducted to evaluate the porosity and architecture of the printed structure. The results demonstrated good quality, reproducibility, and the ability to print a giroide scaffold with a porosity of 78.3% and a pore size of approximately 0.66 mm when a light absorber was added to the resin (PCLMA10SO_r). Therefore, the developed resin has shown to be suitable for 3D printing by photopolymerization and exhibits promising characteristics for tissue engineering applications.

Keywords: Tissue engineering, 3D printing, photopolymerization, polycaprolactone, silanization.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	27
2.1. OBJETIVO GERAL	27
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1. Tecido ósseo.....	28
3.2. Arcabouços	29
3.3. Impressão 3D.....	32
3.3.1. Arcabouços por impressão 3D	32
3.3.2. Processos e tecnologias de impressão 3D.....	32
3.3.3. Impressão 3D por fotopolimerização	33
3.4. RESINAS PARA FOTOPOLIMERIZAÇÃO OU FOTOCURA.....	39
3.4.1. Processos de fotopolimerização de resinas para impressão 3D	39
3.4.2. Fotoiniciador	43
3.4.3. Bloqueadores ou absorvedores de luz	44
3.4.4. Materiais biocompatíveis e bioabsorvíveis	46
3.4.5. Compósitos.....	48
4. MATERIAL E MÉTODOS	52
4.1. REAGENTES UTILIZADOS.....	52
4.2. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS	52
4.3. FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA	53
4.4. Síntese de hidroxiapatita.....	54
4.5. Funcionalização por silanização (APTES) de Hidroxiapatita.....	55
4.6. Difração de Raios-X (DRX) de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada	55
4.7. Funcionalização por metacilação de poli(ϵ -caprolactona) diol	56
4.8. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	57
4.9. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	57
4.9.1. Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada	57

4.9.2. Resina de poli(ϵ -caprolactona) dimetacrilada	57
4.10. Determinação da massa molar média por cromatografia de permeação em gel (GPC) de poli(ϵ -caprolactona) diol e poli(ϵ -caprolactona) dimetacrilada	57
4.11. Preparação de resinas fotocuráveis de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	58
4.12. Reologia das resinas fotocuráveis de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	59
4.13. Análise Termogravimétrica / Termogravimétrica Derivativa (TG/DTG) de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	60
4.14. Radiometria das fontes de luz	60
4.15. Tensiometria/Molhabilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	60
4.16. Ensaio de Dureza Shore A de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	61
4.17. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV-EDX)	62
4.17.1. Morfologia dos corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	62
4.18. Análise biológica em corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	62
4.18.1. Cultura celular	62
4.18.2. Preparo dos corpos de prova para testes com cultura celular.....	63
4.18.3. Ensaio de Adesão Celular	63
4.18.4. Ensaio de indução de matriz extracelular na superfície de corpos de prova	63
4.18.5. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura....	63
4.19. Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	64

4.20.	Fotocalorimetria de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	64
4.21.	Processo de Impressão 3D por fotopolimerização de corpos de prova para ensaios mecânicos e arcabouços porosos	64
4.21.1.	Ensaio de Compressão de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	65
4.21.2.	Imprimibilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	66
4.21.3.	Impressão 3D de Arcabouços de estrutura giroide.....	66
4.21.4.	Microtomografia (microCT)	67
5.	RESULTADO E DISCUSSÃO	68
5.1.	Caracterização de Hidroxiapatita.....	68
5.1.1.	Análise de Difração de Raios-X (DRX) de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada	68
5.1.2.	Espectroscopia Vibracional de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) de pó de Hidroxiapatita, Hidroxiapatita Silanizada e APTES.....	69
5.1.3.	Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estado sólido de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada	71
5.1.4.	Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Diferencial (DTG) de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada.....	72
5.2.	Caracterização de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	73
5.2.1.	Espectroscopia Vibracional de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) de resina de PCLdiol, PCLMA e MAAh	73
5.2.2.	Determinação do grau substituição por metacilação de PCLdiol por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	74
5.2.3.	Determinação de massa molar por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) de resina de PCLdiol e PCLMA	76
5.2.4.	Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Diferencial (DTG) de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	78

5.2.5. Reologia das resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	79
5.2.6. Radiometria do LED da impressora 3D e espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) de resina de PCLMA, compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações e absorvedor de luz Orange II.....	81
5.2.7. Fotocalorimetria de resina de PCLMA, compósitos com hidroxiapatita e hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações e absorvedor de luz Orange II	82
5.3. Caracterização dos corpos de prova curados de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações..	86
5.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV-EDS).....	89
5.4. Análise biológica em corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	94
5.4.1. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura do ensaio de adesão celular	94
5.4.2. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura do ensaio de indução de matriz extracelular.....	95
5.5. Processo de Impressão 3D por fotopolimerização de corpos de prova para ensaios mecânicos e arcabouços porosos	96
5.5.1. Ensaio de Compressão de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	96
5.5.2. Imprimibilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.....	100
5.5.3. Impressão 3D de Arcabouços	103
5.5.4. Microtomografia (microCT) do arcabouço giroide modelo 2 de PCLMA10SO _r	107
6. CONCLUSÃO	113
7. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS	117
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	118

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática de mudanças nas propriedades mecânicas de tecido e biomateriais usados para regeneração óssea (Adaptado de: SUZUKI; IKADA, 2010)	25
Figura 2- Crescimento do número de publicações científicas por ano em impressão 3D aplicada à engenharia tecidual (Adaptado de: SANTONI et al. 2022)	26
Figura 3 – Exemplo de arcabouço PLA + 5%HAp a) vista lateral seccionado, e b) vista superior (Fonte: Autoria própria)	29
Figura 4 – Esferoide de células aderida em arcabouço de PLA + 5%HAp (Fonte: Autoria própria).....	30
Figura 5 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização SLA	36
Figura 6 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização DLP	37
Figura 7 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização LCD	38
Figura 8 - Diagrama de Jablonski, etapas de processo de fotopolimerização e reação paralela por inibição de oxigênio (Adaptado de: (O'BRIEN; BOWMAN, 2006))	40
Figura 9 - Mecanismo fotopolimerização via radical livre com entrecruzamento das cadeias poliméricas (Adaptado de: (LEPRINCE; PALIN; HADIS; DEVAUX et al., 2013))	41
Figura 10 - Demonstração de ligações de reticulação com densidades diferentes de metacrilatos (Adaptado de: (VAN HOORICK; TYTGAT; DOBOS; OTTEVAERE et al., 2019)).....	43
Figura 11 - Estrutura química do fotoiniciador Irgacure 369.....	44
Figura 12 - Moléculas de azocompostos de Orange G e Orange II	45
Figura 13 - Reação de abertura de anel de PCL.....	46
Figura 14 Reação de HAp e APTES (adaptado de: (MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER et al., 2015))	51
Figura 15 - Fluxograma de metodologia adotada.....	54
Figura 16 - Reação de funcionalização por silanização de APTES em HAp (Fonte: adaptado KATAOKA, SHIBA, TAGAYA, 2019)(T.; K.; M, 2019)	55
Figura 17 - Reação de metacrilização de PCLdiol.....	56

Figura 18 – Curva padrão do GPC.....	58
Figura 19 – Banho de UV em molde de silicone	61
Figura 20 - Modelo 3D do corpo de prova de compressão	65
Figura 21 - Vistas do modelo Giroide a) $\rho = 1,2$ mm (modelo 1); e b) $\rho = 0,6$ mm (modelo 2)	66
Figura 22 – Arcabouço giroide (modelo 2) impresso 3D em PCLMA10SOOr.....	67
Figura 23 - Possíveis orientações de HAp funcionalizado por APTES (Fonte: adaptado de (ACRES; ELLIS; ALVINO; LENEHAN et al., 2012))	68
Figura 24 – DRX de HAp e HAp-Si	69
Figura 25 – FTIR de HAp, HAp-Si e APTES	70
Figura 26 – RMN de estado sólido de ^{29}Si e ^{13}C de HAp e HAp-Si.....	71
Figura 27 - Curva de TG e DTG de HAp e HAp-Si.....	72
Figura 28 - Espectros de FTIR de MAAh, PCLMA e PCLdiol.....	74
Figura 29 - Espectros de ^1H RMN de resina de PCLdiol, MAAh e PCLMA.....	75
Figura 30 - Curva de TG e DTG de resina de PCLMA e compósitos com hidroxiapatita e hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações	78
Figura 31 - Gráfico de viscosidade x Taxa de Cisalhamento das amostras à 25, 40 e 60 $^{\circ}\text{C}$	80
Figura 32 - Espectro de emissão do LED da impressora 3D e de absorção UV-Vis das resinas.....	81
Figura 33 - Curvas de conversão em função do tempo de resinas de PCLMA, PCLMA10, PCLMA10S e PCLMA10SOOr onde GC% é o grau de conversão.....	83
Figura 34 - Curvas de cinética de polimerização das resinas, onde Rp é a taxa de polimerização	85
Figura 35 - Ângulo de contato de pastilhas de amostras fotocuradas.....	86
Figura 36 - Dureza Shore A para PCLMA e compósitos.....	88
Figura 37 - MEV da secção transversal fraturada das amostras.....	89
Figura 38 - Análise de EDX pontual das partículas presentes na seccao das amostras de corpos de prova fraturados de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações	91

Figura 39 - Micrografia de seção fraturada das amostras com mapeamento por elemento (C, O, Ca e P).....	92
Figura 40 - Número de partículas e diâmetro de partículas	93
Figura 41 - Imagens de MEV de ensaio de adesão celular	94
Figura 42 - Imagens de MEV do ensaio de indução de matriz extracelular	95
Figura 43 - Corpos de prova de compressão de a) PCLMA e; b) PCLMA10S.....	96
Figura 44 - Curvas do módulo de tensão x deformação das amostras impressas	98
Figura 45 - Arcabouços giroide modelo 1 ($\rho = 1,2$ mm) impressos 3D em a) PCLMA e; b) PCLMA10S.	104
Figura 46 - Processo de impressão 3D por fotopolimerização LCD “ <i>bottom up</i> ”	105
Figura 47 - Arcabouços giroide modelo 2 impressos 3D em a) PCLMA; b) PCLMA10S; e c/d) PCLMA10SO _r	106
Figura 48 – MicroCT da impressão 3D de arcabouço giroide (modelo 2) em PCLMA10SO _r	108
Figura 49 – MicroCT de arcabouço giroide (modelo 2) impresso 3D a) em PCLMA10SO _r (laranja); b) destacando a dispersão de HAp-Si (verde).....	109
Figura 50 – a) Modelo CAD do arcabouço giroide modelo 2; b) Arquivo 3D obtido a partir de microCT impresso 3D em PCLMA10SO _r	110
Figura 51 – Comparação da diferença dimensional entre modelo 3D de referência e a arcabouço impresso em PCLMA10SO _r	111
Figura 52 - Análise de dados de distribuição Gaussiana da diferença dimensional de arcabouço giroide modelo 2 impresso 3D em relação ao modelo 3D projetado.	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores da massa molar numérica média (M_n), massa molar ponderal média (M_w) e dispersidade (\mathcal{D}).	77
Tabela 2 - Média do módulo de Young, do módulo de compressão e do deslocamento na ruptura.....	99
Tabela 3 - Média do diâmetro e da altura dos corpos de prova de compressão e erro associado	101

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	34
Equação 2	42
Equação 3	66
Equação 4	76
Equação 5	83
Equação 6	83
Equação 7	97
Equação 8	97

LISTA DE ABREVIATURAS

AM: Manufatura Aditiva
APTES: 3-aminopropiltrimetoxisilano
BAPO: Oxido de Bis-acilfosfina
CAD: *Computer-aided design*
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa
DCM: Diclorometano
Đ: Dispersidade
DTG: Análise Termogravimétrica Derivativa
FDA: *Food and Drug Administration*
FEP: Fluoretileno Propileno
FTIR: Infravermelho por Transformada de Fourier
GA: Glutaraldeído
GPC: cromatografia de permeação em gel
HAp: Hidroxiapatita
HAp-Si: Hidroxiapatita silanizada com APTES
HMDS: Hexametildissilazano
Irgacure 2959: 2-Hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona
Irgacure 369: 2-Benzil-2-(dimetilamino)-4'-morfolinobutirofenona
MAAh: Metacrilato anidrido
MEV-EDX: Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva
MicroCT - Microtomografia
M_n: massa molar numérica média
M_w: massa molar ponderal média
PCL: Poli(ε-caprolactona)
PCLdiol: Poli(ε-caprolactona) diol 530
PCLMA: PCL dimetacrilada pura
PCLMA10: PCLMA + 10% HAp (m/m)
PCLMA10S: PCLMA + 10% HAp-Si (m/m)

PCLMA10SOR: PCLMA + 10% HAp-Si (m/m) + 0,1% Orange II (m/m)

PCLMA25: PCLMA + 25% HAp (m/m)

PCLMA25S: PCLMA + 25% HAp-Si (m/m)

PCLtriol: Poli(ϵ -caprolactona) triol 300

PFA: Paraformaldeido

PLA: Poli(ácido láctico)

PPF: Poli(propileno fumarato)

PS: Penicilina-estreptomicina

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

SFB: Soro fetal bovino

TE: Engenharia Tecidual

TEA: Trietilamina

TG: Análise Termogravimétrica

THF: Tetraidrofurano

TPO: óxido de 2, 4, 6-trimetilbenzoildifenilfosfina

UV-Vis: Ultravioleta – Visível

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, ainda há grande carência de tecidos e órgãos como implantes para pacientes que sofreram com traumas, doenças e lesões. São realizados aproximadamente 2,8 milhões de casos de reparo ósseo anualmente em todo o mundo. Em 2018, o mercado global de implantes ósseos atingiu cerca de USD 53 bilhões e espera-se que alcance cerca de USD 75 bilhões até 2023 (GUPTA; MEENA, 2023; YANG; HE; E et al., 2020).

Visto a dificuldade de conseguir acesso oportuno e doador compatível, o amplo campo da Engenharia Tecidual (TE) tem como intuito prover substitutos temporários de tecidos biológicos que mimetizam e promovam a restauração tecidual até que sua função original seja restaurada. O conceito chave da TE está em estimular que as células naturais do corpo recuperem os tecidos, utilizando dispositivos biomédicos que substituam e integrem os mecanismos de regeneração (ELOMAA; PAN; SHANJANI; MALKOVSKIY *et al.*, 2015; KOTHAPALLI; SHAW; WEI, 2005; NAGHIEH; RAVARI; BADROSSAMAY; FOROOZMEHR *et al.*, 2016; PALHARES; DE MENEZES; KRONEMBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021; SKALAK; FOX, 1988; SUNDELACRUZ; KAPLAN, 2009).

Diante disto, as técnicas tradicionais, como enxertos alógenos e autólogos, são limitadas e devem ser substituídas por dispositivos implantáveis. Onde são absorvidos no corpo de maneira natural e de preferência sem a necessidade de segunda cirurgia para remoção. Estes substitutos têm alta gama de aplicação clínica como em arcabouços e *stents* coronários, seja para regeneração tecidual e/ou liberação de fármacos, por exemplo. Para obter tais dispositivos com alto desempenho, adaptação e tolerância, técnicas avançadas de fabricação devem ser usadas (BAO; PAUNOVIĆ; LEROUX, 2022; SHE; FAN; WANG; LI *et al.*, 2021; SINGH; BATHAEI; ISTIF; BEKER, 2020).

Diversas técnicas de fabricação foram desenvolvidas para a produção de dispositivos implantáveis, tendo em destaque a impressão 3D que é um processo de fabricação por adição de material por camadas sucessivas umas sob as outras ou por deposição controlada de material. Tal tecnologia dispõe da possibilidade de automação e, ao mesmo tempo, construção de geometrias complexas com precisão. À vista disso,

a utilização da impressão 3D em conjunto com softwares de modelagem 3D, *Computer-aided design* (CAD), e/ou técnicas de obtenção de imagens médicas por tomografia, permitem a fabricação de dispositivo paciente-específico (CHIA; WU, 2015; GIANNITELLI; ACCOTO; TROMBETTA; RAINER, 2014; KORPELA; KOKKARI; KORHONEN; MALIN *et al.*, 2013; ZHANG; XIAO, 2018).

Entre as várias abordagens de impressão 3D, a via fotoquímica é extremamente atraente, pois os objetos podem ser produzidos por meio de reações de fotopolimerização de monômeros/oligômeros, que possuem benefícios ambientais, econômicos e de produção. Assim, esta técnica se torna apropriada para a manufatura da anatomia exata de variados tecidos complexos com geometrias pré-estabelecidas e alta resolução (LE FER; BECKER, 2020; ZHANG; XIAO, 2018).

A impressão 3D possibilita a produção de matrizes porosas de geometrias complexas como os arcabouços, os quais têm a função de substituir temporariamente a região tecidual nativa. Uma vez implantadas no corpo, são absorvidos por trocas químicas em fluidos corporais, se degradando ao passo que novo tecido toma conta do volume ocupado (Figura 1), mantendo minimamente 100% das propriedades mecânicas do tecido. A aplicação está em suportar, aumentar, guiar e regular a proliferação celular, simulando as matrizes extracelulares feitas em materiais biocompatíveis poliméricos, cerâmicos ou, muitas vezes, o compósito destes. A biocompatibilidade é o resultado da interação entre um material e os tecidos vivos e fluidos corporais, caracterizada pela ausência de reações tóxicas e imunológicas. Em outras palavras, refere-se à capacidade de um material de interagir de maneira apropriada com o organismo hospedeiro em uma aplicação específica. (BAPTISTA; KRONEMBERGER; CORTES; CHARELLI *et al.*, 2018; ELOMAA; KESHI; SAUER; WEINHART, 2020; ESHRAGHI; DAS, 2012; PRABHAKARAN; VENUGOPAL; RAMAKRISHNA, 2009; SUDARMADJI; TAN; LEONG; CHUA *et al.*, 2011).

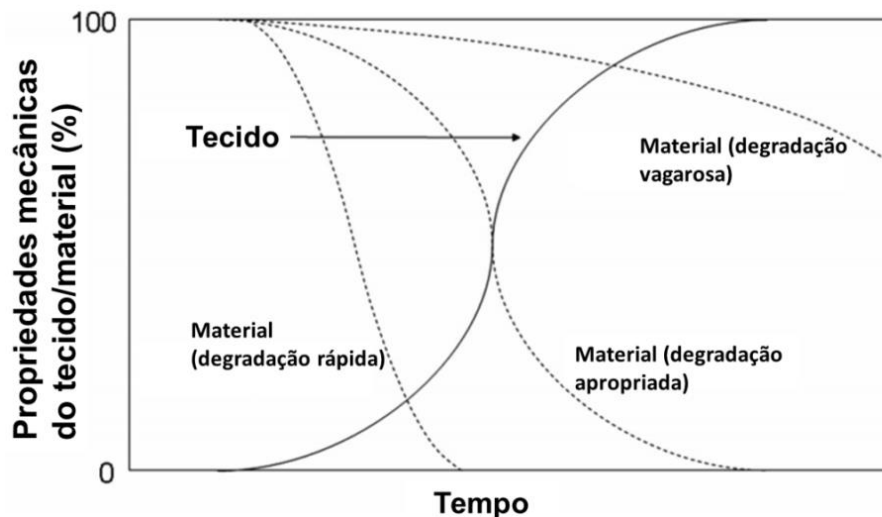


Figura 1 - Representação esquemática de mudanças nas propriedades mecânicas de tecido e biomateriais usados para regeneração óssea (Adaptado de: SUZUKI; IKADA, 2010)

Com este modelo de fabricação é possível aperfeiçoar as propriedades e adaptar as características do arcabouço à necessidade da região a ser implantada biomimeticamente. Ou seja, o arcabouço produzido atenderá as demandas únicas de cada paciente, tornando o tratamento regenerativo mais eficaz, confortável e sob medida. Este método garante precisão, construção de arquiteturas complexas, personalização, prototipagem rápida e relativo baixo custo para a fabricação dos artefatos (BAO; PAUNOVIĆ; LEROUX, 2022; CHUA; LEONG; TAN; WIRIA *et al.*, 2004; ROSENZWEIG; CARELLI; STEFFEN; JARZEM *et al.*, 2015; WIRIA; LEONG; CHUA; LIU, 2007; ZHANG; MAO; DU; JIANG *et al.*, 2016).

Visando isto como potencial, a impressão 3D aplicada à engenharia tecidual entre os anos de 2000 e 2020 teve número total de 9314 publicações científicas, sendo que 79% das publicações estão concentradas a partir do ano de 2017 (Figura 2). Concomitantemente, a partir do alto desenvolvimento das técnicas e dos (bio)materiais, a expectativa de crescimento mundial deste mercado é no valor de, aproximadamente, USD 586,1 milhões (2019) para USD 1657,4 milhões em 2024 e USD 1949,9 milhões em 2025. Taxa de crescimento essa na faixa de 20,4 a 21,9 % ao ano (SANTONI; GUGLIANDOLO; SPONCHIONI; MOSCATELLI *et al.*, 2022; TRIPATHI; MANDAL; BAURI; MAITI, 2023).

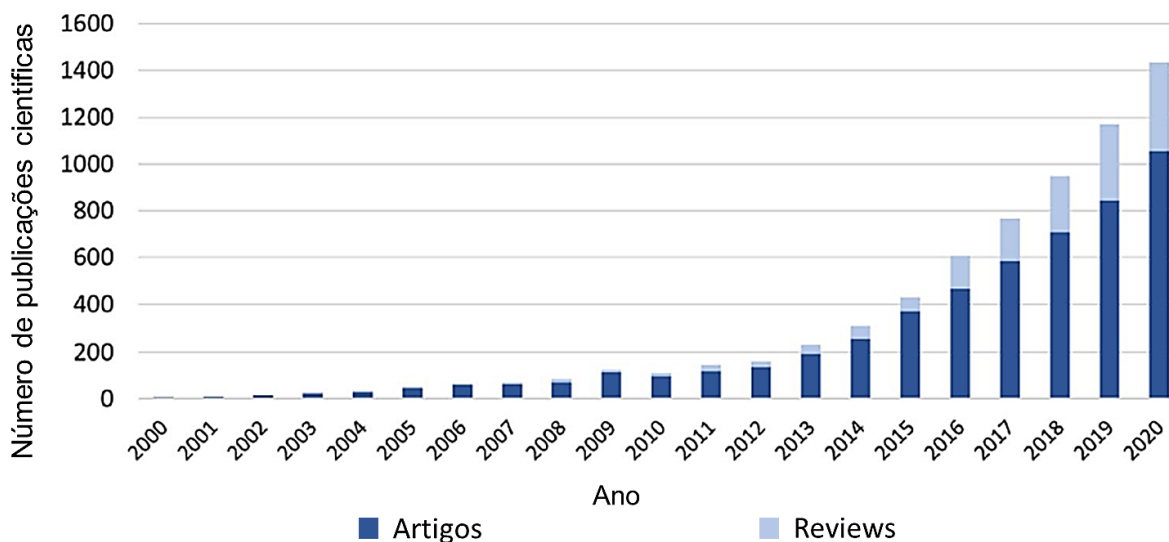


Figura 2– Crescimento do número de publicações científicas por ano em impressão 3D aplicada à engenharia tecidual (Adaptado de: SANTONI et al. 2022)

A crescente importância da impressão 3D no mercado de Engenharia Tecidual (TE) aumenta a necessidade de pesquisa e desenvolvimento em materiais que atendam às especificidades técnicas de fabricação e às exigências para enxertos adequados. No entanto, resinas apropriadas com características de biocompatibilidade e biodegradabilidade para aplicações biomédicas ainda são escassas. Esses materiais devem desempenhar funções físico-químicas, mecânicas e biológicas, incluindo biocompatibilidade, capacidade de reabsorção, rigidez apropriada e propriedades de superfície (como hidrofiliabilidade e adesão celular). Além disso, é fundamental que o processo de degradação e eventual eliminação desses materiais pelo organismo não cause sobrecarga em órgãos como rins, fígado, entre outros. Por fim, estas resinas devem ser mais profundamente desenvolvidas e melhoradas para cumprir seu papel de produzir substitutos eficientes (BAO; PAUNOVIĆ; LEROUX, 2022; GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; PAUNOVIC; BAO; COULTER; MASANIA *et al.*, 2021).

Esta tese de doutorado objetiva o desenvolvimento de resina compósito para impressão 3D por fotopolimerização aplicada à engenharia tecidual. A pesquisa envolveu o estudo de formulações de resinas compósitas de poli(ϵ -caprolactona) dimetacrilada

(PCLMA) contendo como carga hidroxiapatita silanizada (HAp-Si) para aprimorar as propriedades mecânicas e biológicas formando um novo biomaterial, além de estudar as condições de impressão 3D por fotopolimerização.

O foco principal é a aplicação dessas resinas na engenharia tecidual, visando a criação de estruturas de alta resolução biocompatíveis, como arcabouços porosos bioativos para o reparo e regeneração tecidual óssea/cartilaginosa.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver resina compósito (biomaterial) para impressão 3D por fotopolimerização aplicada à engenharia tecidual.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar HAp e silanizar com APTES;
- Funcionalizar o PCLdiol com MAAh;
- Obter resina fotopolimerizável contendo HAp ou HAp-Si como carga que sirvam como insumo para impressão 3D por fotopolimerização;
- Determinar a influência de HAp e HAp-Si e sua dispersão sobre as propriedades físicas e químicas da resina;
- Investigar a cinética de polimerização das resinas e a influência da adição de HAp e HAp-Si na cinética da reação;
- A partir dos materiais obtidos, avaliar os corpos de prova quanto às suas propriedades físico-químicas, mecânicas e térmicas;
- Avaliar a resposta biológica dos corpos de prova em relação à adesão celular e ao estímulo da matriz extracelular;
- Imprimir em 3D arcabouços porosos com boa imprimibilidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tecido ósseo

O tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo e o componente principal do esqueleto humano. Possui funções essenciais, tais como suporte aos tecidos moles, proteção dos órgãos internos, armazenamento de íons (cálcio e fósforo) e participação na locomoção através da ação dos músculos. Além disso, também desempenha funções regulatórias no metabolismo e nutrição do organismo. A matriz óssea é composta por regiões orgânicas, principalmente colágeno, e regiões inorgânicas, como fosfatos de cálcio, que conferem resistência mecânica e rigidez ao tecido (GEMINI-PIPERNI; TAKAMORI; SARTORETTO; PAIVA *et al.*, 2014; JURAK; WIACEK; LADNIAK; PRZYKAZA *et al.*, 2021; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022).

A matriz óssea passa por um processo contínuo de remodelamento para permitir o crescimento ósseo e a reparação de fraturas. O objetivo principal da remodelação óssea é renovar o tecido incrementando massa e propriedades mecânicas no local. A proliferação das células osteoprogenitoras e a sua posterior diferenciação são necessárias para a formação do tecido ósseo (DONNALOJA; JACCHETTI; SONCINI; RAIMONDI, 2020; LANGDAHL; FERRARI; DEMPSTER, 2016; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022).

O equilíbrio harmônico da atividade das células que compõem o tecido ósseo é fundamental para o desempenho adequado das suas funções. Células especializadas, como osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, desempenham diferentes papéis no processo de remodelamento ósseo. Os osteoblastos são responsáveis pela síntese e deposição de matriz óssea, enquanto os osteócitos são responsáveis por manter a matriz óssea e regular o metabolismo ósseo. Já os osteoclastos são células responsáveis pela reabsorção óssea e pela manutenção da homeostase do cálcio no corpo (GEMINI-PIPERNI; MILANI; BERTAZZO; PEPPELENBOSCH *et al.*, 2014; JURAK; WIACEK; LADNIAK; PRZYKAZA *et al.*, 2021; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022).

3.2. Arcabouços

Para a regeneração óssea, é necessário que haja equilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea. O uso de arcabouços, como estruturas de suporte feitas de materiais biocompatíveis e biodegradáveis, tem sido uma abordagem promissora na medicina regenerativa. Arcabouços são matrizes porosas com elevada área de superfície em relação ao seu volume e servem como substitutos para o crescimento celular (Figura 3) (EOSOLY; BRABAZON; LOHFELD; LOONEY, 2010; GIANNITELLI; ACCOTO; TROMBETTA; RAINER, 2014; WIRIA; LEONG; CHUA; LIU, 2007).

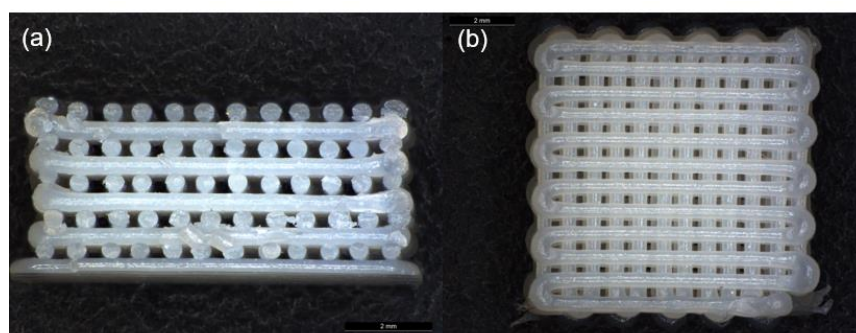


Figura 3 – Exemplo de arcabouço PLA + 5%HAp a) vista lateral seccionado, e b) vista superior (Fonte: Autoria própria)

Os arcabouços são implantados no local da lesão para permitir o crescimento das células de remodelagem óssea ao redor da estrutura, acelerando e melhorando a regeneração óssea. A maioria das células primárias precisam de suporte estrutural para ancorar, aderir e formar novo tecido pelo crescimento celular. Uma vez instaladas, as células secretam estruturas fibrosas de matriz extracelular compostas de proteínas e polissacarídeos formando malha porosa que fornece integridade estrutural e direciona o comportamento celular por interações biomecânicas (Figura 4) (BAPTISTA; KRONEMBERGER; CORTES; CHARELLI *et al.*, 2018; GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; JIAO; LUO; XIANG; MA *et al.*, 2019; KRONEMBERGER; DALMONICO; ROSSI; LEITE *et al.*, 2020; PALHARES; DE MENEZES; KRONEMBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021).

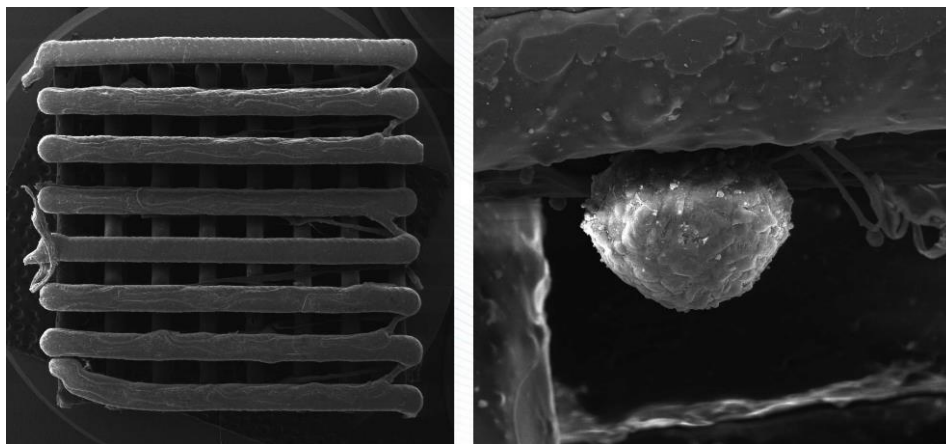


Figura 4 – Esferoide de células aderida em arcabouço de PLA + 5%HAp (Fonte: Autoria própria)

As matrizes teciduais naturais não apresentam composição e estruturas iguais, assim não há apenas um tipo de arcabouço ideal que atenda a todas as demandas. A arquitetura (morfologia e tamanho de poro), superfície/topografia, integridade mecânica e composição química (resposta biológica) deve variar para cada tipo de tecido a ser mimetizado. O material deve ser atóxico (inclusive produtos provenientes da degradação), biocompatível com células vivas, esterilizável e comercialmente reprodutível (DHARMADHIKARI; LIU; SHONTZ; WIET *et al.*, 2020; GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; KRONEMBERGER; DALMONICO; ROSSI; LEITE *et al.*, 2020; SHE; FAN; WANG; LI *et al.*, 2021).

A arquitetura do arcabouço, ou seja, sua estrutura física e características porosas, exerce uma grande influência no crescimento e desenvolvimento celular. Os poros presentes no arcabouço desempenham um papel crucial, pois determinam a permeabilidade, o fluxo de nutrientes e a troca de gases. Esses poros podem variar em tamanho e forma, e sua distribuição afeta a interconectividade do arcabouço.

Em escala microscópica, existem os microporos, que podem variar de dimensões nanométricas a micrométricas. Eles são definidos pelo volume existente entre as cadeias poliméricas e sua formação está relacionada à densidade de ligações cruzadas e à massa molar das cadeias poliméricas. Esses microporos desempenham um papel fundamental na regulação do transporte de moléculas e substâncias dentro do arcabouço, bem como na interação com as células.

Por outro lado, em escala macroscópica, temos os macroporos, que possuem dimensões que variam de micrométricas a milimétricas. A presença desses macroporos é determinada por propriedades físico-químicas, como viscosidade e temperatura, e também pelos parâmetros utilizados durante o processo de fabricação do arcabouço. Esses macroporos desempenham um papel importante na facilitação do transporte de fluidos, como sangue e nutrientes, além de fornecerem espaço para a colonização celular.

Em resumo, a arquitetura do arcabouço, composta por microporos e macroporos, desempenha um papel fundamental no crescimento celular, permitindo a permeação de nutrientes, a troca de gases e a interação adequada com as células. O controle cuidadoso dessas características porosas é essencial para o desenvolvimento de arcabouços biomateriais eficazes em aplicações na TE (PALHARES; DE MENEZES; KRONENBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021; SHE; FAN; WANG; LI *et al.*, 2021).

Conforme informado anteriormente, não há apenas um único arcabouço ideal para todos tecidos, desta maneira, o tamanho do macroporo do arcabouço varia tipicamente entre 150 – 800 μm . É desejado que a porosidade seja alta para melhor serem as respostas biológicas, pela proliferação celular, migração e transporte de nutrientes. Não obstante, em termos mecânicos, alta porosidade reduz drasticamente as propriedades mecânicas do arcabouço. Contudo, as propriedades mecânicas do arcabouço devem ser similares as do tecido aplicado, pois resistências muito baixas deformam com mais facilidade e perderá a função estrutural, já para resistências muito altas pode haver desgaste do tecido por fricção ou impacto. Diante disso, o projeto de arcabouço deve levar em conta o ponto ótimo entre porosidade e propriedades mecânicas (Figura 1) (JIAO; LUO; XIANG; MA *et al.*, 2019; WU; LIU; YEUNG; LIU *et al.*, 2014).

A aplicação do arcabouço está diretamente relacionada ao tipo de tecido ao qual será direcionado. Para tecidos como ossos e arcada dentária, são utilizados arcabouços feitos de materiais duros. Por outro lado, para tecidos moles, arcabouços flexíveis são mais desejáveis (CHARTRAIN; WILLIAMS; WHITTINGTON, 2018; ELOMAA; PAN; SHANJANI; MALKOVSKIY *et al.*, 2015; PALHARES; DE MENEZES; KRONENBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021).

3.3. Impressão 3D

3.3.1. Arcabouços por impressão 3D

Os arcabouços são tradicionalmente fabricados por técnicas convencionais das quais apesar de terem custo relativamente baixo, levam mais tempo para fabricação, sofrem por baixo controle da arquitetura, baixa reprodutibilidade e repetitividade, e ainda baixa resistência mecânica. Diante dessas informações, a impressão 3D se apresenta como excelente ferramenta para fabricação e produção de arcabouços. Esta se utiliza da combinação de *designs* complexos, novos materiais e robótica para a produção de objetos multiformes que atendam demanda específica e personalizada. De tal modo, pesquisas recentes vêm produzindo arcabouços por impressão 3D pelo seu excelente controle dimensional, tamanho de poros, interconectividade e resolução (PALHARES; DE MENEZES; KRONEMBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021; PAUNOVIC; BAO; COULTER; MASANIA *et al.*, 2021; SHE; FAN; WANG; LI *et al.*, 2021).

3.3.2. Processos e tecnologias de impressão 3D

A impressão 3D é definida pela norma ASTM F52900 – 21 (2021) como: “*Aplica o princípio de moldagem aditiva e, assim, constrói geometrias físicas tridimensionais (3D) através da adição sucessiva de material*”. A impressão 3D pode ser definida como uma forma do processo de manufatura aditiva (AM) e fabricar objetos e dispositivos por deposição controlada de material sucessivamente.

Esta norma padronizou sete processos chave de impressão 3D, nos quais se englobam tipos de técnicas de manufatura aditiva existentes:

1. *Binder jetting* – Um líquido aglutinante é utilizado para unir as partículas de grânulos ou pó dispersas. Este líquido pode ser colorido ou conter vários elementos em sua composição. Uma vez que a primeira camada é formada, outra fina camada de material é despejada para formar a próxima camada e assim por diante até que se forme o objeto por inteiro;
2. *Directed energy deposition* – Energia térmica focalizada como laser, raio de elétrons ou plasma são usados para depositar seletivamente o material.

O volume do objeto é produzido camada sobre camada pela união do material;

3. *Material extrusion* – Através de um bico, o material termoplástico ou viscoso é extrusado e depositado em uma superfície, formando o artefato camada sobre camada;
4. *Material jetting* – Material fotocurável é depositado gota a gota seletivamente em uma superfície formando a camada que será exposta à luz ultravioleta solidificando-a. Cada camada é submetida a este processo formando o artefato final;
5. *Powder bed fusion* – Energia térmica funde seletivamente grânulo ou pó dispersos em uma cuba. Uma vez que a primeira camada é formada, outra fina camada de material é despejada para formar a próxima camada e assim por diante até que o objeto por inteiro esteja completo;
6. *Sheet lamination* – Lâminas de material são unidas uma camada sobre a outra e seu contorno é removido por brocas, facas ou laser formando o objeto;
7. *Vat photopolymerization* – Líquido ou resina fotopolimerizável é seletivamente curado por luz UV, onde camada sobre camada é polimerizada pela exposição à luz no comprimento de onda específico.

3.3.3. Impressão 3D por fotopolimerização

Na esfera de AM a *Vat photopolymerization* ou Impressão 3D por fotopolimerização é um dos processos mais precisos. Foi desenvolvido pela *3D Systems Inc.* e surgiu como o pioneiro no mercado na década de 1980. Esta técnica utiliza como insumo resinas constituídas por monômeros/oligômeros fotossensíveis das quais curam sob a exposição de luz de fontes como laser, projetor ou lâmpada no comprimento de onda específico. Durante o processo de impressão, essas fontes enfocam padrões de imagens que desenham a camada a ser impressa, estas imagens são oriundas de modelos 3D previamente configurados para que cada imagem represente uma camada

de altura definida, que somada às outras subseqüentes forme o objeto planejado (QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; RONCA; RONCA; FORTE; ZEPPELELLI *et al.*, 2018).

A fabricação por essa via de impressão 3D apresenta um mecanismo que pode ser dividido em 4 etapas:

- i)** Projeto CAD do modelo 3D onde a forma e todas as dimensões são projetadas;
- ii)** Em software de fatiamento, o modelo 3D é seccionado e os parâmetros de impressão 3D são estabelecidos;
- iii)** O arquivo obtido é enviado para a impressora 3D que possui um reservatório contendo a resina, fonte de luz e um mecanismo de elevação (movimentação do eixo Z) para adição de cada camada projetada;
- iv)** O objeto finalizado passa por procedimento de pós-cura para terminação de monômeros livres residuais e aumento das propriedades mecânicas.

Os protótipos ou objetos de uso final são impressos em forma sólida e facilmente separadas da resina com alta definição, resolução e qualidade de superfície, podendo reproduzir modelos 3D de alta complexidade. Inclusive, é considerada uma técnica de impressão 3D de alta definição, com altura de camadas de 15 a 50 μm (LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017).

Para que haja a ligação entre as camadas no processo de cura, estas resinas obedecem a lei de absorção de Lambert-Beer (Equação 1) durante a impressão 3D.

$$C_d = D_p \ln \frac{E}{E_c} \quad (\text{Equação 1})$$

Na qual,

C_d = efetiva profundidade de cura;

D_p = efetiva profundidade de penetração de luz;

E = Energia da fonte de luz;

E_c = Energia de cura crítica da resina.

Estas variáveis determinam os parâmetros de impressão dos quais estão em função das características intrínsecas da resina e dos parâmetros do processo. A variável “ E_c ” depende da concentração de fotoiniciador e inibidores como oxigênio dissolvido, por exemplo. A variável “ E ” é influenciada pela quantidade e tipo de fotoiniciador, reatividade do monômero/oligômero, tempo de exposição à luz em cada camada e/ou potência da fonte de luz.. É desejado que o valor de “ E_c ” seja o menor possível com maiores valores de “ D_p ” para otimizar a espessura de cura, ou seja, baixos valores de energia e longa profundidade de penetração da luz permitem maior controle e precisão no processo. Durante a impressão 3D, a peça deve estar pouco acima do ponto de gel garantindo que haja ligações cruzadas entre camadas para manter minimamente a integridade dimensional e finalização do processo. No entanto, as ligações cruzadas não devem ser demasiadamente altas tornando o material muito duro, quebradiço e frágil (BAO; PAUNOVIĆ; LEROUX, 2022; GREEN; WORTHINGTON; THOMPSON; BUNN *et al.*, 2018; LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017; MURPHY; LIM; WOODFIELD, 2022; RONCA; RONCA; FORTE; ZEPPELELLI *et al.*, 2018; TIAN; ZHU; REN; LIU *et al.*, 2019; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMMA, 2016).

3.3.3.1. Técnicas de impressão 3D por fotopolimerização

O processo de impressão 3D por fotopolimerização possui três principais técnicas nomenclaturadas por:

1. *Stereolithography Appereance* (SLA);
2. *Digital Light Processing* (DLP);
3. *Liquid Crystal Display* (LCD).

Naturalmente, estas se utilizam de resina líquida viscosa fotossensível, tipicamente composta de monômeros/oligômeros funcionalizados, e fonte de luz geralmente na região do UV/Vis (350 a 430 nm) para produzir as peças desejadas. Esse processo converte o material fotossensível em um polímero sólido por onde a luz atinge a resina camada por camada seguindo o *design* estabelecido. Majoritariamente, o tipo

de luz é que determina a diferença principal entre essas técnicas para cura da resina (QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMA, 2016; WALLACE; WANG; THOMPSON; BUSSO *et al.*, 2014).

Impressão 3D por fotopolimerização tem como vantagem a necessidade de pouco material, alta resolução e baixo tempo relativo de impressão. Todavia, as propriedades estão diretamente ligadas à composição da resina utilizada, que comumente produz peças rígidas, quebradiças e de fácil deformação. Além disso, há baixa disponibilidade comercial de materiais biocompatíveis e biodegradáveis para este processo (QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMA, 2016).

3.3.3.2. Stereolithography Appearance (SLA)

A SLA é uma das técnicas mais conhecidas de manufatura aditiva no mundo. Esta usa feixe de laser de alta potência como fonte de luz em conjunto com espelhos galvanométricos. Estes espelhos têm a função de direcionar os feixes de laser para a cura de cada camada programada na base da cuba. Assim, este processo é repetido camada a camada com o traçado do laser em conjunto com a elevação da plataforma de impressão e assim sucessivamente até a construção do objeto (Figura 5) (GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020).

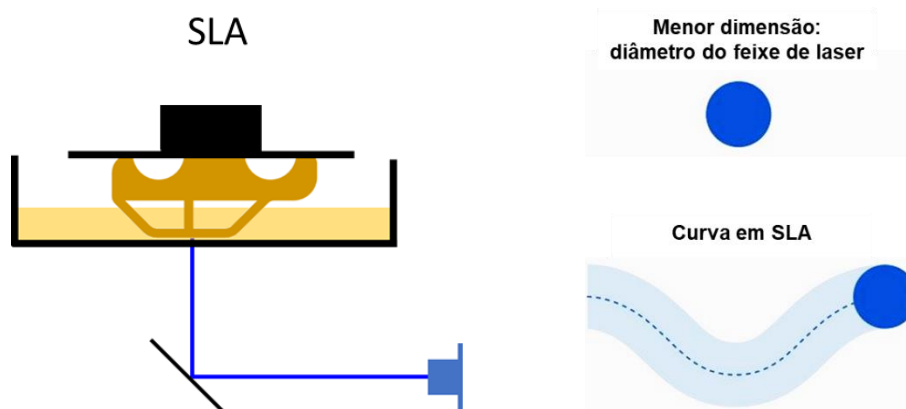


Figura 5 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização SLA

As resinas utilizadas nesta técnica de impressão 3D são em geral polimerizadas pelo mecanismo de fotopolimerização catiônica ou híbrida. As vantagens é que o

comprimento de onda de ativação deste mecanismo corresponde ao do laser emitido ($\lambda = 355 \text{ nm}$), a contração volumétrica é baixíssima evitando tensões internas e a quantidade de resina necessária é baixa, reduzindo custo. As desvantagens desta técnica incluem a reduzida velocidade de impressão, uma vez que o laser precisa percorrer toda a forma em cada camada, a limitada disponibilidade de resinas adequadas para polimerização catiônica e a resolução de impressão que está relacionada ao diâmetro do feixe de laser (CHO; LEE; CHO, 2005; LEPRINCE; PALIN; HADIS; DEVAUX *et al.*, 2013; WANG; GOYANES; GAISFORD; BASIT, 2016).

3.3.3.3. Digital Light Processing (DLP)

A técnica DLP utiliza como fonte de luz um projetor comercial. Desta forma, a DLP possui velocidade de cura de cada camada relativamente maior do que a SLA. Ao passo que a SLA precisa guiar o feixe de laser percorrendo por toda a camada para compô-la, a DLP projeta na resina, de uma vez, a imagem 2D na camada em questão, a curando como um todo simultaneamente (Figura 6) (GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020).

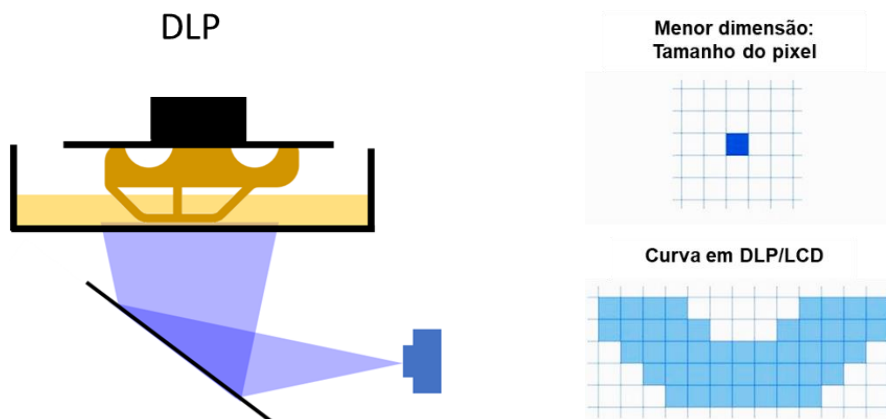


Figura 6 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização DLP

A fonte de luz da DLP é composta por milhares de micro espelhos, que seletivamente mascaram e direcionam a luz diretamente na base do tanque. Desta maneira, pode-se assumir que a resolução da DLP está diretamente em função da

quantidade destes espelhos, ou seja, a qualidade da impressão corresponde à resolução do projetor. A impressão é formada por pixels que dispõe de resolução mínima de $50\ \mu\text{m}$ (Figura 6), assim em geometrias curvas observa-se degraus chamados *voxels* (equivalente 3D ao pixel). O número de pixels é o mesmo independentemente do tamanho da impressão, dessa forma modelos menores possuem maior precisão do que os maiores (FLORENCE; YODER, 1996; QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; WU; ZHAO; JIAN; MAO *et al.*, 2018).

Os componentes dos projetores não suportam radiação UV, em geral, são feitos em LED que emitem luz no comprimento de onda de 405 nm. Assim, as resinas para este tipo de técnica são baseadas pelo mecanismo de polimerização via radicais livres que necessitam de menor intensidade de luz para iniciar a fotólise do fotoiniciador (QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; WU; ZHAO; JIAN; MAO *et al.*, 2018).

3.3.3.4. *Liquid Crystal Display* (LCD)

A técnica LCD é a mais recente das citadas nesta tese e muito similar à DLP, exceto pela fonte de luz. Nesta técnica, uma série de LED's iluminam e, no meio do percurso, há uma tela de LCD que bloqueia o feixe de luz que não faz parte da imagem referente àquela camada. Em tese, a luz é emitida paralelamente à área de impressão e apenas os *pixels* projetados atingem a base da cuba para a formação das camadas (Figura 7). Contudo na prática, o bloqueio não é totalmente realizado e há vazamento de luz nas redondezas (GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020; WU; ZHAO; JIAN; MAO *et al.*, 2018).

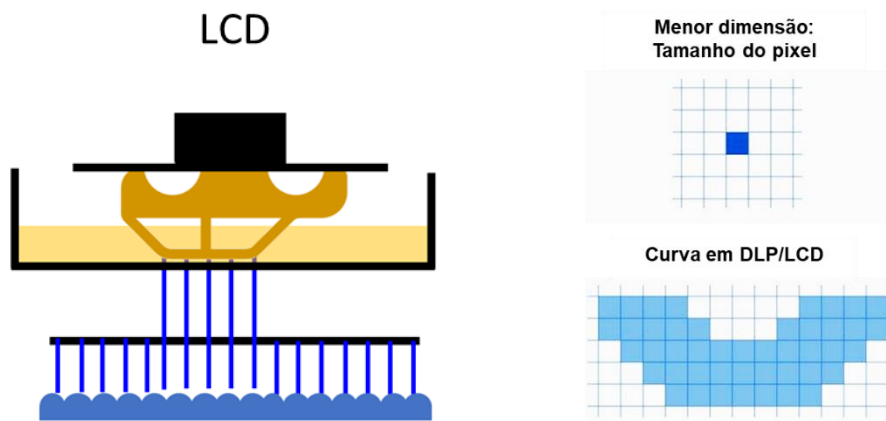


Figura 7 – Processo de impressão 3D por fotopolimerização LCD

3.4. RESINAS PARA FOTOPOLIMERIZAÇÃO OU FOTOCURA

As resinas destinadas à impressão 3D por fotopolimerização são compostas principalmente por materiais monoméricos/oligoméricos naturais ou sintéticos e fotoiniciador. Podendo conter inclusive solventes, cargas, corantes absorvedores de luz, e inibidores de cura (BAO; PAUNOVIĆ; LEROUX, 2022; ELOMAA; KANG; SEPPALA; YANG, 2014; GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; MONDSCHHEIN; KANITKAR; WILLIAMS; VERBRIDGE *et al.*, 2017; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMMA, 2016).

3.4.1. Processos de fotopolimerização de resinas para impressão 3D

Os monômeros e oligômeros usados para a produção de resinas para impressão 3D por fotopolimerização são, em geral, funcionalizadas por acrilatos ou metacrilatos. Este é um método eficiente em converter a resina do estado líquido em objetos poliméricos sólidos sob a exposição de luz (UV-Vis) e na presença de fotoiniciador específico (LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHKE; STAMPFL *et al.*, 2016; VAN HOORICK; TYTGAT; DOBOS; OTTEVAERE *et al.*, 2019; ZHANG; XIAO, 2018).

No processo de fotopolimerização, inicialmente o fotoiniciador absorve luz, no comprimento de onda do espectro do UV-Vis, levando esse a um estado de maior energia. Dessa maneira, as moléculas que estão no estado fundamental singlete (S_0) passam para um estado de energia mais elevado que é o estado singlete excitado (S_1), após a absorção de energia. Este pode ser desativado por processos radiativos e não radiativos inclusive passando a um estado de menor energia que sofre inversão de spin que é o estado tripleto (T_1) que usualmente é o estado mais reativo e que leva a formação dos radicais iniciadores. Esses radicais interagem com os grupos vinílicos dos monômeros e oligômeros funcionalizados, desencadeando o processo de fotopolimerização em cadeia (Figura 8) (LAFRATTA; BALDACCHINI, 2017; O'BRIEN; BOWMAN, 2006).

A Figura 8 ilustra o mecanismo geral para produção dos radicais iniciadores a partir da excitação de uma molécula de fotoiniciador. O fotoiniciador ao alcançar o estado T_1 pode desativar por processos radiativos e não-radiativos ou sofrer uma reação

levando a produção de radicais que podem reagir com oxigênio e produzir uma espécie inativa ou reagir com um monômero/oligômero para formar as espécies propagantes (polímeros radicalares). Essas espécies propagantes produzem efetivamente o polímero ou podem reagir com impurezas, tal como o oxigênio e desativar a cadeia na etapa de terminação. As etapas de polimerização serão descritas mais adiante.

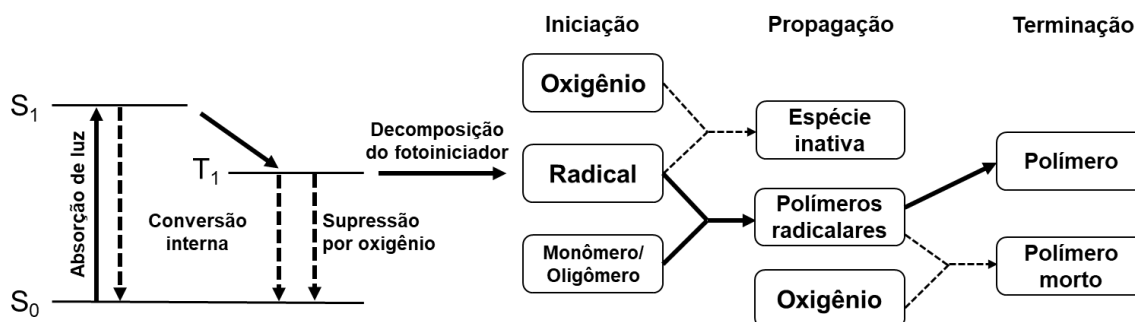


Figura 8 - Diagrama de Jablonski, etapas de processo de fotopolimerização e reação paralela por inibição de oxigênio (Adaptado de: (O'BRIEN; BOWMAN, 2006))

Após a decomposição do fotoiniciador, as resinas seguem comumente o mecanismo de reticulação (entrecruzamento) por fotopolimerização via radicalar. Esta via tem como facilidade a simplicidade da composição da resina permitindo que cada etapa de reação seja direta, necessitando apenas minimamente da presença de monômeros e oligômeros funcionalizados (VAN HOORICK; GRUBER; MARKOVIC; ROLLOT *et al.*, 2018; VAN HOORICK; TYTGAT; DOBOS; OTTEVAERE *et al.*, 2019).

O processo de polimerização radicalar com entrecruzamento é um método químico que envolve a formação de uma rede tridimensional de polímeros através da criação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas (Figura 9). Nesse tipo de polimerização, monômeros funcionalizados são utilizados, contendo grupos reativos em suas estruturas.

A figura 9, ilustra o mecanismo de fotopolimerização radicalar com entrecruzamento.

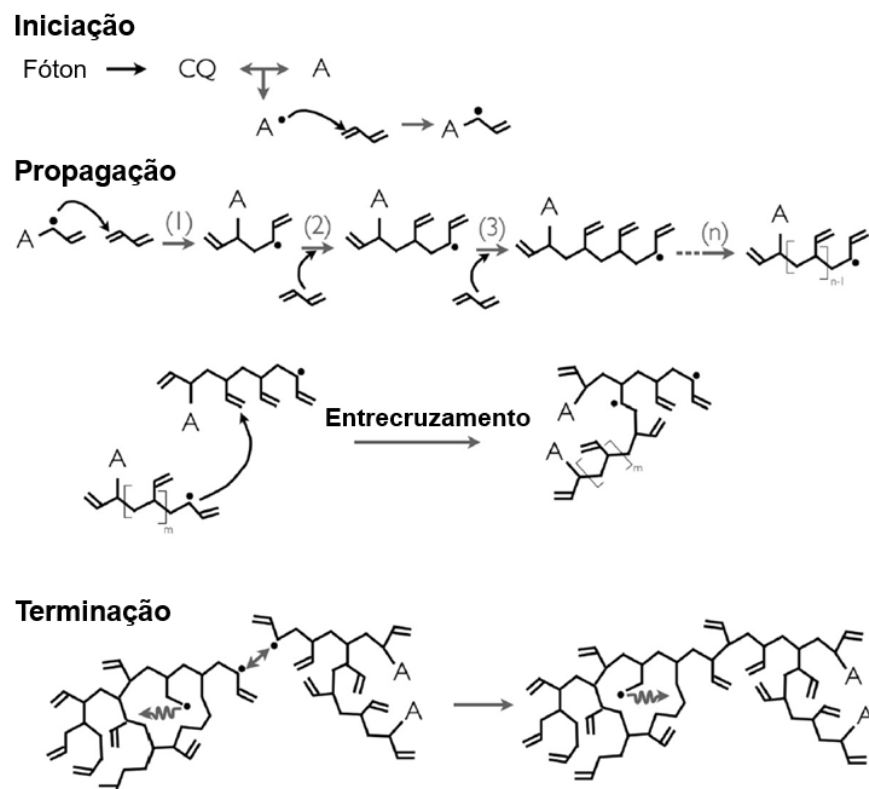


Figura 9 - Mecanismo fotopolimerização via radical livre com entrecruzamento das cadeias poliméricas (Adaptado de: (LEPRINCE; PALIN; HADIS; DEVAUX *et al.*, 2013))

A cinética é formada por três etapas principais: iniciação, propagação e terminação. Durante a etapa de iniciação, ocorre a geração de radicais livres a partir de um fotoiniciador, que é ativado pela luz em comprimento de onda específico. A concentração do fotoiniciador ($[I^*]$), é um fator importante na taxa de formação das ligações cruzadas entre as cadeias.

Durante a etapa de propagação, os radicais livres formados na iniciação reagem com os monômeros, levando ao crescimento das cadeias poliméricas e à formação de ligações cruzadas. Essa etapa é caracterizada por uma constante cinética de propagação (k_p).

Na etapa de terminação, ocorrem dois processos: desproporcionamento e combinação. O desproporcionamento envolve a reação de dois radicais livres para formar um novo radical e um polímero terminado, enquanto a combinação ocorre quando

dois radicais livres se combinam para formar outro polímero terminado. A etapa de terminação pode ser caracterizada pela constante cinética de terminação (k_t).

O processo de polimerização radicalar com entrecruzamento (Figura 9) é governado pela taxa de formação das espécies radicalares (Equação 2). Essa taxa depende de vários fatores, tais como a constante de iniciação (k_i), a concentração do fotoiniciador ($[I^*]$), a eficiência de formação de radicais pelo fotoiniciador (f), a concentração dos monômeros ($[M]$), bem como as constantes cinéticas de propagação (k_p) e terminação (k_t). Esses parâmetros combinados determinam a velocidade e a eficiência da reação de polimerização, influenciando diretamente a formação do produto final.. Esta taxa é representada pela Equação 2 (PIVESSO; CAVALHEIRO; PALHARES; NEUMANN *et al.*, 2022).

$$R_p = (f[I^*]k_i)^{\frac{1}{2}} [M] \left(\frac{k_p}{k_t}\right)^{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 2})$$

A reticulação (entrecruzamento) possui velocidade de reação inicial relativamente alta. O fotoiniciador é consumido rapidamente e há conversão de mais de 50% dos monômeros e oligômeros em polímeros de alta massa molar, podendo ocorrer em 0,1 a 1,0 s do processo e, até mesmo, ser controlado pela interrupção imediata da fonte de luz. O crescimento acelerado gera número elevado de ligações cruzadas desordenadas e não homogêneas, cada sítio reativo pode ligar em várias reticulações em uma cadeia curta, que de líquido viscoso se torna gel levemente reticulado e em seguida estrutura sólida única altamente reticulada. As propriedades desejadas podem ser controladas pelo tempo de exposição que também tem relação com a densidade de regiões acriladas, que, em excesso, resultam em peças rígidas e quebradiças, com alta tensão local devido à contração do material (Figura 10) (ELLIOTT; LOVELL; BOWMAN, 2001; GOODNER; LEE; BOWMAN, 1997; LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHÉ; STAMPFL *et al.*, 2016; TUSI; HAMDOLLAHPOOR; SAVADROODBARI; FATHOLLAHI, 2022; VAN HOORICK; GRUBER; MARKOVIC; ROLLOT *et al.*, 2018).

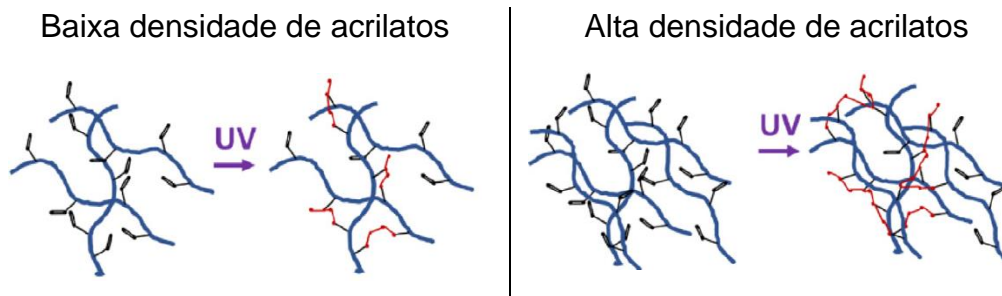


Figura 10 - Demonstração de ligações de reticulação com densidades diferentes de metacrilatos (Adaptado de: (VAN HOORICK; TYTGAT; DOBOS; OTTEVAERE *et al.*, 2019))

3.4.2. Fotoiniciador

A maioria dos compostos não são prontamente excitados e ativados por luz, logo fotoiniciadores são necessários para absorver comprimentos de onda específicos para gerar espécies reativas e iniciar a fotopolimerização. A depender do mecanismo de iniciação, são classificados como tipo I, sofrem clivagem à exposição da luz (fotólise) formando moléculas radicalares livres fragmentadas, ou tipo II, que precisam de co-iniciador que é fonte doadora de átomo de hidrogênio para iniciar o processo de reação e posterior fotoiniciação. Os fotoiniciadores após receberem energia em um dado comprimento de onda específico para absorção, passam para o estado excitado e se tornam extremamente reativos produzindo espécies ativas capazes de iniciar a fotopolimerização por transferência de elétrons (CHEN; NOIRBENT; SUN; BRUNEL *et al.*, 2020; GASTALDI; CARDANO; ZANETTI; VISCARDI *et al.*, 2021; GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; VAN HOORICK; TYTGAT; DOBOS; OTTEVAERE *et al.*, 2019).

Os fotoiniciadores tipo I são previamente misturados às resinas de impressoras 3D por fotopolimerização. Os comerciais mais comumente usados em TE são fenil-2,4,6-trimetilbenzoilfosfinato de lítio (TPO/LAP), óxido bis-aquil fosfínico (BAPO), 2-hidroxi-4'-(2-hidroxietoxi)-2-metilpropiofenona (Irgacure 2959) e 2-benzil-2-dimetilamino-1-(4-morfolinofenil)-butanona-1 (Irgacure 369) (Figura 11). Estes fotoiniciadores sofrem fotólise em comprimento de onda por volta de 405 nm e são usados em baixa concentração (GASTALDI; CARDANO; ZANETTI; VISCARDI *et al.*, 2021; LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017; LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHÉ;

STAMPFL *et al.*, 2016; PIVESSO; CAVALHEIRO; PALHARES; NEUMANN *et al.*, 2022; QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020).

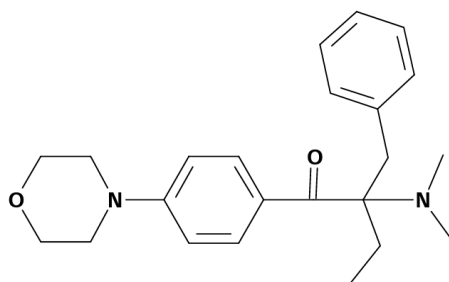


Figura 11 - Estrutura química do fotoiniciador Irgacure 369

No processo de impressão 3D, os fotoiniciadores estão sujeitos a sofrer inibição por oxigênio (Figura 8) que consiste no consumo dos radicais produzidos da clivagem provocada pela irradiação da fonte de luz. Deste modo, a polimerização da resina é inibida e incompleta prejudicando a confecção da peça final (LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHÉ; STAMPFL *et al.*, 2016; TUMBLESTON; SHIRVANYANTS; ERMOSHKIN; JANUSZIEWICZ *et al.*, 2015; ZHANG; XIAO, 2018).

Do ponto de vista para a aplicação de implantes médicos, os fotoiniciadores devem promover adequada velocidade de polimerização para evitar efeitos tóxicos nos tecidos e células. Fatores como solubilidade em solventes orgânicos ou água, estabilidade, espectro de absorção e eficiência na geração de radicais livres determinam a viabilidade de sua aplicação na TE (GUERRA; LARA-PADILLA; BECKER; RODRIGUEZ *et al.*, 2019; LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHÉ; STAMPFL *et al.*, 2016).

3.4.3. Bloqueadores ou absorvedores de luz

Bloqueadores ou absorvedores de luz são tipicamente corantes compostos por moléculas orgânicas ou organometálicas, que podem ser adicionados à resina por dispersão ou através de ligações covalentes. Estes corantes têm a função de melhorar a resolução de impressão 3D por fotopolimerização quando não afetam negativamente o processo de polimerização (GASTALDI; CARDANO; ZANETTI; VISCARDI *et al.*, 2021;

MURPHY; LIM; WOODFIELD, 2022; PIVESSO; CAVALHEIRO; PALHARES; NEUMANN *et al.*; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMA, 2016).

A adição do absorvedor de luz permite o controle da espessura polimerizada, limitando espacialmente a luz incidente responsável pelo início da reação de fotopolimerização. Evita indesejável cura excessiva das camadas ou regiões adjacentes e, conseqüentemente, garante definição da impressão 3D assim como fora modelado (GASTALDI; CARDANO; ZANETTI; VISCARDI *et al.*, 2021; WANG; CHONG; WANG; HE, 2017).

Os absorvedores de luz devem ter espectros de absorção semelhantes aos dos fotoiniciadores e à banda de emissão da fonte de luz utilizada na impressora 3D. Por outro lado, a concentração do absorvedor não deve ser alta a ponto de competir com o processo de fotopolimerização da resina, pois espera-se ainda, além de boa resolução, o menor tempo de impressão possível e a formação das camadas curadas (CHOI; WICKER; CHO; HA *et al.*, 2009; LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017; PIVESSO; CAVALHEIRO; PALHARES; NEUMANN *et al.*, 2022; WALLACE; WANG; THOMPSON; BUSO *et al.*, 2014).

Geralmente estes absorvedores são corantes naturais ou sintéticos vastamente usados na indústria alimentícia, por conta de sua síntese e funcionalização relativamente simples. Azocompostos como o Orasol Orange G ou Orange II (Figura 12) são corantes absorvedores na faixa de comprimento de onda de 350 a 550 nm. O processo de absorção de UV se dá pela isomerização cis/trans reversível desses compostos (MURPHY; LIM; WOODFIELD, 2022; WEIS; WU, 2018).

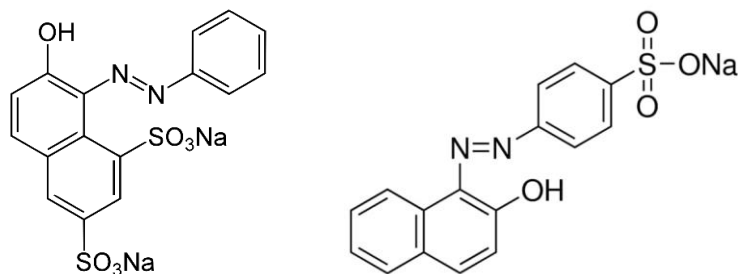


Figura 12 - Mólculas de azocompostos de Orange G e Orange II

3.4.4. Materiais biocompatíveis e bioabsorvíveis

Na área da tecnologia da TE, os polímeros bioabsorvíveis são materiais que têm sido promissores na aplicação da regeneração dos tecidos. Tal fato decorre de sua capacidade de serem absorvidos ou degradados pelos fluidos corporais e completamente transformados em dióxido de carbono e água. Quando enxertados no corpo animal não devem ocasionar rejeição, propagação de patologias ou reações teciduais adversas (JURAK; WIACEK; LADNIAK; PRZYKAZA *et al.*, 2021; SHUAI; MAO; LU; NIE *et al.*, 2013; VOET; GUIT; LOOS, 2021).

A maioria dos polímeros absorvíveis são sintéticos e derivadas de fontes fósseis, onde os monômeros e oligômeros são sintetizados por abertura de anel (Figura 13). Esta rota de síntese possibilita o controle, definição da estrutura e tamanho da cadeia polimérica. Em seguida, para conferir funcionalidade de fotocura essas cadeias sofrem modificação química pela substituição de grupos epóxi ou hidroxilas pela introdução de insaturações do grupamento vinílico de acrilatos. A concentração elevada de grupamentos acrilados geram reticulações resistentes à biodegradação e, assim, depositam no corpo causando reações tóxicas adversas, embora resinas metacriladas possuam menor reatividade e grau de toxicidade do que as acriladas. Logo, a escolha do material a ser usado para a impressão de implantes devem sofrer completa biodegradação por hidrólise no corpo humano (CRUZ; SILVA; OLIVEIRA; MARTINS *et al.*, 2020; LUO; DOLDER; WALKER; MISHRA *et al.*, 2016; MONDSCHNEIN; KANITKAR; WILLIAMS; VERBRIDGE *et al.*, 2017; TIAN; ZHU; REN; LIU *et al.*, 2019; VOET; GUIT; LOOS, 2021; ZIVIC; BROSSIER; CRESTEY; CATROUILLET *et al.*, 2022).

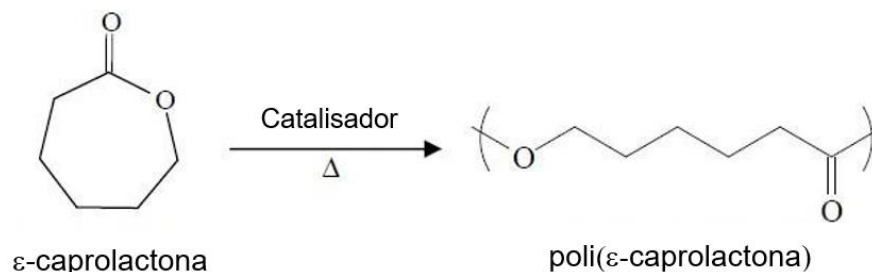


Figura 13 - Reação de abertura de anel de PCL

3.4.4.1. Poli(ácido láctico) (PLA)

O PLA é um poliéster alifático obtido pela policondensação de enantiômeros L- e D- de ácido láctico (α -hidroxiácidos) e/ou pela polimerização de abertura de anel do lactídeo. A fim de atender faixas de diferentes aplicações, as características do PLA podem ser alteradas de acordo com as quantidades de enantiômeros na reação de obtenção. Variantes como o poli(D-ácido láctico) (PDLA, amorfo) e o poli(L-ácido láctico) (PLLA, semicristalino). Este possui temperatura de transição vítrea de aproximadamente 55 °C e possui propriedade mecânica próxima ao do osso humano (módulo elástico de 3-30 GPa). As ligações cruzadas para fotocura são feitas pela funcionalização da dupla ligação contida nos oligômeros de lactídeos (CASTRO-AGUIRRE; IÑIGUEZ-FRANCO; SAMSUDIN; FANG *et al.*, 2016; JAMSHIDIAN; TEHRANY; IMRAN; JACQUOT *et al.*, 2010; LIM; AURAS; RUBINO, 2008).

3.4.4.2. Hidrogéis

Hidrogéis são hidrofílicos, assim conseguem reter água e fluidos biológicos. Além disso, possuem a capacidade de mimetizar tecidos vivos por conta de ligações reticuladas que resultam em elasticidade semelhante. Hidrogéis naturais como colágeno, gelatinas e fibrinas vem sendo usados com arcabouços pela função de adesão das células e biodegradabilidade, do qual estes são funcionalizados por metacrilato (GelMA)(TYTGAT; MARKOVIC; QAZI; VAGENENDE *et al.*, 2019; VAN HOORICK; GRUBER; MARKOVIC; ROLLOT *et al.*, 2018; ZHU; WANG; FERRACCI; ZHENG *et al.*, 2019).

3.4.4.3. Poli(ϵ -caprolactona) (PCL)

O PCL é um dos biopolímeros sintéticos bem estabelecidos com longo histórico pela aplicação ampla em engenharia tecidual aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA). Uma das principais vantagens é a sua biocompatibilidade, ou seja, é atóxico, não imunogênico e possui baixa resposta inflamatória. Também outra vantagem é sua biodegradabilidade, que *in vivo* sofre hidrólise por metabolização,

gerando produtos como o ácido 6-hidroxihexanóico, CO₂ e H₂O que são facilmente eliminados pelo sistema respiratório e urinário. A taxa de degradação requer tempo de 2 a 4 anos, sendo um material altamente promissor para o uso em impressão 3D de arcabouços (BABILOTTE; GUDURIC; LE NIHOUANEN; NAVEAU *et al.*, 2019; DWIVEDI; KUMAR; PANDEY; MAHAJAN *et al.*, 2020; JIAO; LUO; XIANG; MA *et al.*, 2019; THIJSSSEN; CORNELIS; ALKAISSY; LOCS *et al.*, 2022)

Este se destaca também pelas propriedades mecânicas, fácil processamento e possibilidade de se misturar com outros materiais poliméricos e cerâmicos ou até medicamentos contidos em sua matriz com posterior liberação controlada para promover a regeneração tecidual. Também, pode ser modificado com moléculas para torná-lo mais reativo, hidrofílico e biocompatível (suporte, adesão e proliferação celular), a exemplo do PCLdiol que é um tipo de PCL com grupamentos hidroxilas em suas extremidades. As hidroxilas possibilitam que haja a funcionalização por metacrilção e, assim, torná-lo fotopolimerizável na presença de fotoiniciador e luz no comprimento específico (GREEN; WORTHINGTON; THOMPSON; BUNN *et al.*, 2018; KIM; JANG; CHO; PARK, 2022; RONCA; RONCA; FORTE; ZEPPESELLI *et al.*, 2018; TIAN; ZHU; REN; LIU *et al.*, 2019).

Apesar das excelentes características para a aplicação em engenharia tecidual, o PCL não é bioativo e nem osteoindutor, em outros termos, significa que não tem a capacidade de estimular a formação de novo tecido ósseo. Portanto, estudos demonstram a necessidade de buscar por novos materiais compósitos para explorar soluções diferenciadas a fim de se atender as necessidades na TE (DASKALAKIS; HUANG; HASSAN; OMAR *et al.*; REZAEI; KHORSHIDIAN; BERAM; DERAKHSHANI *et al.*, 2021; THIJSSSEN; CORNELIS; ALKAISSY; LOCS *et al.*, 2022).

3.4.5. Compósitos

Compósitos poliméricos são descritos quando há um ou mais materiais distintos presentes junto ao polímero gerando propriedades únicas. A matriz polimérica é nomeada de fase contínua e é o componente primário de maior volume, já outros materiais presentes em menor quantidade são chamados de fase descontínua. A fase descontínua tem como opções resinas/polímeros, cargas fibrosas naturais/sintéticas, ou

micro e nanopartículas cerâmicas, que devem estar adequadamente dispersas e aderidas por interações superficiais à matriz para formar o compósito. A fase descontínua tem a função de alterar as propriedades originais ou acrescentar atributos para a fase contínua com o objetivo de melhor atender à aplicação da mesma (CROSBY; LEE, 2007; SUN; ZHOU; LEE, 2011).

O desafio na técnica de impressão 3D por fotopolimerização está em desenvolver resinas compósitos, pois a fração de cada componente que compõe a resina alteram as propriedades físico-químicas e isto é ainda altamente alterado conforme há a adição de cargas (RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018; RONCA; RONCA; FORTE; ZEPPELELLI *et al.*, 2018).

Na aplicação em TE, é essencial aprimorar a capacidade de células se proliferarem e diferenciarem nas superfícies sintéticas produzidos por impressão 3D por tais resinas, a fim de melhorar a eficácia dos enxertos. A migração, adesão e proliferação celular são pré-requisitos cruciais para iniciar o processo de regeneração tecidual. A adição de cargas como a hidroxiapatita, que possui propriedades bioestimulantes, pode ser uma estratégia potencialmente vantajosa para regeneração de falhas ósseas no material compósito após a implantação do enxerto (GEMINI-PIPERNI; MILANI; BERTAZZO; PEPPELENBOSCH *et al.*, 2014; RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018).

3.4.5.1. Hidroxiapatita (HAp)

A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é classificada como biocerâmica de fosfato de cálcio. A estrutura e funcionalidade pode ser comparada à mesma encontrada em tecidos ósseos e dentários, compondo cerca de 70% do osso humano. É largamente utilizada como material para implantes por possuir propriedades inerentes de biocompatibilidade e bioatividade. Possui como propriedade a indução e a diferenciação osteogênica (GEMINI-PIPERNI; MILANI; BERTAZZO; PEPPELENBOSCH *et al.*, 2014; RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018; SUN; ZHOU; LEE, 2011).

A obtenção de HAp pode ser por via sintética ou por fontes naturais. A primeira via é realizada pela mistura de sais cálcio e fosfato em pH controlado, podendo assim obter tamanhos de partícula em escala nanométrica de forma controlada. Já a segunda,

por meio de fontes naturais, é realizada a extração de HAp de ossos animais mamíferos, casca de ovo, conchas etc. Este método é comprovadamente eficiente para a regeneração tecidual, porém possui o viés do risco de contaminação caso haja a presença de patógenos e matéria orgânica (AKRAM; AHMED; SHAKIR; IBRAHIM *et al.*, 2014; DE OLIVEIRA LOMELINO; CASTRO-SILVA; LINHARES; ALVES *et al.*, 2012; GASPERINI; CALASANS-MAIA; RESENDE; GRANJEIRO *et al.*, 2012; XU; YE; WEI; ZHONG *et al.*, 2014).

A HAp possui alta resistência à compressão (100-900 MPa) e baixa resistência à tração (40-100 MPa). Desta forma, é classificada como um material frágil e seu processamento em tamanhos e formatos diferenciados se torna dificultoso. Assim, a combinação com matrizes poliméricas forma compósito que possibilita seu uso para a fabricação de arcabouços com estruturas mais estáveis e, ainda, integra bioatividade ao material, atribuindo melhor adesão celular e mineralização óssea (RAMESH; MORATTI; DIAS, 2018; SUN; ZHOU; LEE, 2011; THIJSEN; CORNELIS; ALKAISSY; LOCS *et al.*, 2022).

O compósito polímero/biocerâmica potencializa ambas as fases e surge como um novo material com propriedades superiores para a TE. Do ponto de vista bioquímico, por exemplo, a biodegradação de poliésteres como o PCL e o PLA tem como produto ácidos orgânicos que possivelmente reduzem a adesão celular. A presença de HAp reduz a acidez local pela sua característica levemente alcalina. Pela perspectiva de resistência mecânica, a presença de cargas aumenta a resistência à compressão da matriz polimérica, podendo se comparar aos tecidos ósseos e dentários (BABILOTTE; GUDURIC; LE NIHOUANEN; NAVEAU *et al.*, 2019; BASYUNI; FERRO; SANTHANAM; BIRCH *et al.*, 2020; THIJSEN; CORNELIS; ALKAISSY; LOCS *et al.*, 2022; XU; YE; WEI; ZHONG *et al.*, 2014).

A efetiva incorporação da carga à matriz polimérica vêm sendo o foco de diversas pesquisas em compósitos. Encontra-se na literatura trabalhos diversos da mistura de PCL e HAp, embora sejam materiais pouco compatíveis (BIGGEMANN; MÜLLER; KÖLLNER; SIMON *et al.*, 2020).

3.4.5.2. Reação de silanização

A reação de silanização é um processo que envolve o revestimento de uma superfície hidroxilada com um silano para modificar suas propriedades. No contexto da TE, a silanização com 3-aminopropiltrimetoxisilano (APTES) pode ser usada para modificar HAp por meio de seus grupos hidroxila pela hidrólise do grupo etóxi e formação de camada de siloxano em sua superfície (Figura 14) (ACRES; ELLIS; ALVINO; LENEHAN *et al.*, 2012; KIM; SEIDLER; WAN; FILL, 2009; KUDDANNAYA; BAO; ZHANG, 2015; LUCIA; BACHER; VAN HERWIJNEN; ROSENAU, 2020; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022).



Figura 14 Reação de HAp e APTES (adaptado de: (MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015))

Uma das principais vantagens de silanizar a HAp com APTES é a melhora da biocompatibilidade do material. A hidroxiapatita é um material biocompatível, mas a presença de grupamento amina (-NH₂) pode reduzir sua energia superficial, tornando-a mais compatível com proteínas da parede celular. Isso pode melhorar a adesão, proliferação e diferenciação celular, que são essenciais para a regeneração dos tecidos. Outra vantagem da silanização com APTES é que pela formação de polisiloxanos em sua superfície fazem com que a dureza, resistência e estabilidade da HAp aumentem. Ainda, o grupamento aminopropil então presente na superfície da HAp promove a interação com as matrizes poliméricas quando são misturadas, o que é importante para manter a integridade física do arcabouço (ATAK; BUYUK; HUYSAL; ISIK *et al.*, 2017; BIGGEMANN; MÜLLER; KÖLLNER; SIMON *et al.*, 2020; KUDDANNAYA; BAO; ZHANG, 2015; MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. REAGENTES UTILIZADOS

Todos os reagentes foram usados como recebidos.

- Acetona P.A. – Exodo Científica
- Álcool Isopropílico P.A. – Exodo Científica
- Água ultrapurificada pelo sistema Milli-Q®.
- (3-Aminopropil)triétoxissilano 99% (APTES) – Sigma Aldrich
- Diclorometano P.S. – Exodo Científica
- Hidrogenofosfato diamônio P.A. ((NH₄)₂HPO₄) – Sigma Aldrich;
- Hidróxido de amônio P.A. (NH₄OH) – Sigma Aldrich;
- Irgacure 369 (2-Benzil-2-(dimetilamino)-4'-morfolinobutirolfenona) - Sigma Aldrich;
- Metacrilato anidrido 99% (MAAh) – Sigma Aldrich;
- Nitrato de cálcio P.A. (Ca(NO₃) · 4 H₂O) – Sigma Aldrich;
- Policaprolactona diol (Mn ~530 g/mol) – Sigma Aldrich;
- Trietilamina P.S. – Exodo Científica;
- Resina Anycubic Clear (Lote: RPTTO2107C080);
- Silicone Translúcido M 4644-40 A – Fillepoxi Matérias Plásticas LTDA.
- Soro fetal bovino inativado (SBF) - Gibco;
- *DMEM High* Glicose – Sigma Aldrich;
- Penicilina-estreptomicina (PS) – BioReagents

4.2. EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

- Cromatógrafo de Permeação em gel Shimadzu equipado com bombas LC-20AD, CBM-20A, forno CTO-20A e detector RID-10^a - Grupo de Biopolímeros e Fotoquímica IQSC (USP)

- Difratorômetro BRUKER APEX II Duo - CAQI IQSC (USP)
- Durômetro digital MetroTokyo MTK-1040 – CEM EESC (USP)
- Equipamento de banho de UV Anycubic Wash&Cure 2.0 - Grupo de Biopolímeros e Fotoquímica IQSC (USP)
- Equipamento de ensaio universal MTS® Bionix – LTC EESC (USP)
- Equipamento de termogravimetria TA Instruments TGA Q50 – LATEQS IQSC (USP)
- Espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity 1 – CAQI IQSC (USP)
- Espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis UV-2550 - Grupo de Biopolímeros e Fotoquímica IQSC (USP)
- Espectrômetro de RMN Agilent Technologies 500/54 Premium Shielded – CAQI IQSC (USP)
- Espectrômetro de RMN de estado sólido Bruker Avance III 300 MHz – LAREMAR (UFSCAR)
- Fotocalorímetro TA Instruments DSC Q2000 - LATEQS IQSC (USP)
- Impressora 3D Anycubic PhotonMono - Grupo de Biopolímeros e Fotoquímica IQSC (USP)
- Microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-7200F - CAQI IQSC (USP)
- Microtomógrafo Bruker Corp Skyskan 1272 – LAimage (CTI Renato Archer)
- radiômetro Luzchem SPR-01 - Grupo de Biopolímeros e Fotoquímica IQSC (USP)
- Reômetro TA Instruments DHR-2 – CAQI IQSC (USP)
- Tensiômetro Attension Theta Lite - CAQI IQSC (USP)

4.3. FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA

A metodologia deste trabalho seguirá resumidamente as seguintes etapas representadas pelo fluxograma da Figura 15.

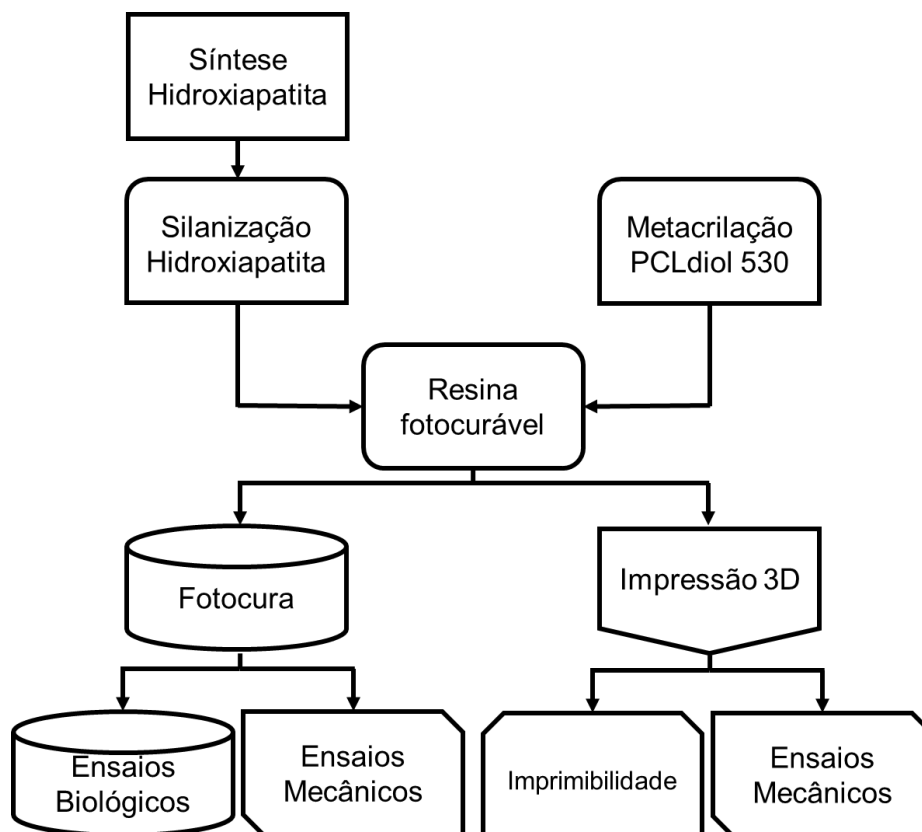


Figura 15 - Fluxograma de metodologia adotada

4.4. Síntese de hidroxiapatita

A hidroxiapatita (HAp) foi sintetizada pelo método de precipitação por via úmida, com razão teórica dos íons $[Ca]^{+2}/[PO_4]^{-3} = 1,67$, a partir de solução de hidrogenofosfato diamônio $((NH_4)_2HPO_4)$, que foi adicionada lentamente à solução de nitrato de cálcio $(Ca(NO_3)_2 \cdot 4 H_2O)$, sob aquecimento à $90\text{ }^\circ\text{C}$ e agitação constante. Após toda a solução de fosfato ser adicionada, o pH da reação foi mantido em 10 -11 e controlado com adição de hidróxido de amônio concentrado (NH_4OH) (DE OLIVEIRA LOMELINO; CASTRO-SILVA; LINHARES; ALVES *et al.*, 2012; GASPERINI; CALASANS-MAIA; RESENDE; GRANJEIRO *et al.*, 2012; MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015; NARASARAJU; PHEBE, 1996).

Por fim, a mistura foi filtrada à vácuo em funil Büchner. O sólido obtido foi lavado em água ultrapurificada. Esta operação de lavagem foi realizada até que o pH do filtrado se apresentasse próximo à neutralidade. Em seguida, o sólido foi liofilizado, processado

peneira de 210 μm de espaçamento. Estes foram adquiridos em difratômetro de raios-X BRUKER APEX II Duo, com emissão de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), à temperatura ambiente com intervalo de análise de $2\theta = 10^\circ$ a 70° .

4.7. Funcionalização por metacrilção de poli(ϵ -caprolactona) diol

A funcionalização por metacrilção do oligômero de poli(ϵ -caprolactona) diol (PCLdiol) foi então obtida pela reação com anidrido metacrílico (MAAh), esta reação foi baseada em Elomaa *et al.* 2011 e Green *et al.* 2018.

O oligômero foi dissolvido em 100% em peso de diclorometano (DCM). Adicionou-se excesso de 30% molar de MAAh e 30% molar de trietilamina (TEA) por grupo terminal de hidroxila, esta última foi usada para neutralizar o ácido metacrílico formado durante a reação. A metacrilção foi realizada à temperatura ambiente em atmosfera de nitrogênio por 24h. Após a conclusão da reação, DCM, o excesso de MAAh, TEA e o ácido metacrílico formados na reação foram removidos por precipitação do oligômero metacrilado em isopropanol frio (100 ml). O oligômero metacrilado foi centrifugado, lavado com água destilada, separado e liofilizado. O PCLdiol metacrilado obtido foi então denominado de PCL dimetracrilado (PCLMA). A Figura 17 mostra a síntese simplificada do oligômero e a reação de metacrilção.

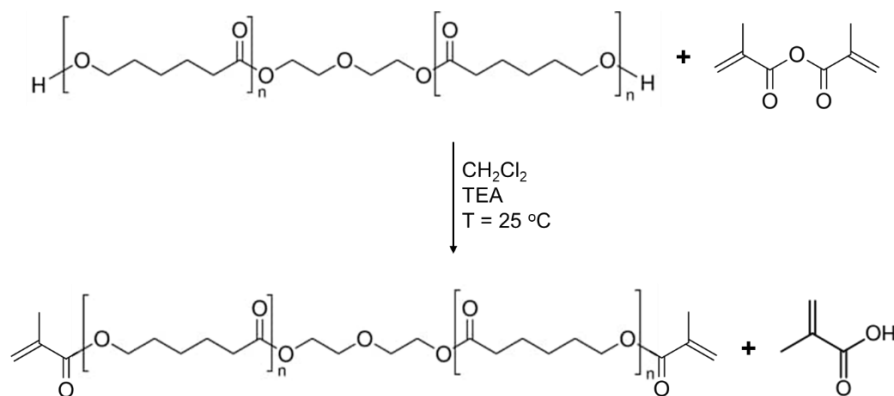


Figura 17 - Reação de metacrilção de PCLdiol

4.8. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

FTIR foi realizada para identificar os grupamentos dos reagentes e a presença destes quando houveram as modificações realizadas. A Espectroscopia Vibracional de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) foi realizada na faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} , à temperatura ambiente em pastilhas de KBr (1:100) no espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity 1.

4.9. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

4.9.1. Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada

RMN foi realizado para determinar a efetiva incorporação e ligação química de APTES na superfície de HAp. Espectros de RMN foram medidos para ^{29}Si e ^{13}C no espectrômetro de estado sólido Bruker Avance III 300 MHz, equipado com uma sonda de giro de ângulo mágico (MAS) padrão Bruker de 4 mm, operando a 59,6 e 75,4 MHz para ^{29}Si e ^{13}C , respectivamente. Esta análise foi realizada no laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do departamento de Química – UFSCAR.

4.9.2. Resina de poli(ϵ -caprolactona) dimetacrilada

A análise de RMN ^1H foi realizada para confirmação da reação de substituição do grupo hidroxila pelo metacrilato. Foram realizadas usando o equipamento de 500 MHz de modelo 500/54 Premium Shielded da marca Agilent Technologies. Foi usado o CDCl_3 como solvente à 25°C.

4.10. Determinação da massa molar média por cromatografia de permeação em gel (GPC) de poli(ϵ -caprolactona) diol e poli(ϵ -caprolactona) dimetacrilada

A massa molar do PCLdiol e PCLMA foi determinada por cromatografia de permeação em gel para comparar o aumento que a modificação gera na matriz polimérica. Por meio desta técnica foram obtidos os valores de massa molar numérica

média (\overline{M}_n), massa molar ponderal média (\overline{M}_w) e a dispersidade (\mathcal{D}), que corresponde ao valor da razão entre \overline{M}_w e \overline{M}_n .

As análises foram realizadas utilizando cromatógrafo Shimadzu equipado com bombas LC-20AD, CBM-20A, forno CTO-20A e detector RID-10A. Para as análises o fluxo foi de 1 ml/min, temperatura de 35 °C, durante 50 min e tetraidrofurano (THF) como fase móvel. Como fase estacionária foram empregadas quatro colunas Waters Styragel em série, HR 4E e HR 5E, com partículas rígidas do copolímero poli(estireno-co-divinilbenzeno).

A Figura 18 demonstra a calibração do equipamento pela curva padrão realizada para quantificar a massa molar em função do tempo de eluição das resinas em relação ao polietileno utilizado como padrão. A curva de calibração aplicada nas análises foi obtida com padrões de poli(metacrilato de metila) e poliestireno. A concentração dos padrões para injeção foram 5 mg/ml e das amostras 10 mg/ml.

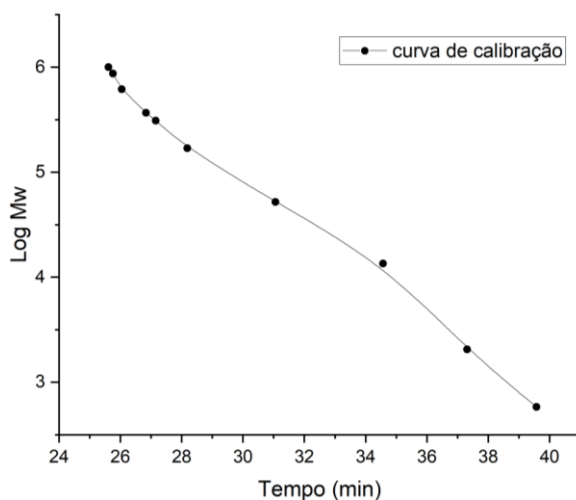


Figura 18 – Curva padrão do GPC

4.11. Preparação de resinas fotocuráveis de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

O PCLMA foi usado como matriz polimérica para preparar amostras compósitos misturadas com HAp ou HAp-Si como carga. Os materiais nas diferentes proporções mássicas, listados abaixo, foram pesados e sonicados por 30 min. Posteriormente, o

fotoiniciador Irgacure 369 (3 m/m% de PCLMA) foi adicionado e agitou-se por 12h em agitador magnético a fim de garantir a dispersão e homogeneidade das amostras. Essas misturas foram armazenadas em frasco âmbar e no escuro, longe de quaisquer fontes de luz, para evitar polimerização prévia indesejadamente. Assim, obteve-se resina viscosa líquida fotopolimerizável para servir como insumo para a impressora 3D por fotopolimerização.

Thijssen e colaboradores (2022), prepararam compósitos de PCL com até 30% m/m de HAp. Dentre essas composições, verificou-se incremento de propriedades mecânicas e bioatividade. Baseado nisto, foram preparadas resinas fotocuráveis neste trabalho com a composição de até 25% m/m, evidenciadas a seguir:

- PCL dimetacrilada pura: **PCLMA**;
- PCLMA + 10% HAp (m/m): **PCLMA10**;
- PCLMA + 25% HAp (m/m): **PCLMA25**;
- PCLMA + 1% HAp-Si (m/m): **PCLMA1S**;
- PCLMA + 5% HAp-Si (m/m): **PCLMA5S**;
- PCLMA + 10% HAp-Si (m/m): **PCLMA10S**;
- PCLMA + 25% HAp-Si (m/m): **PCLMA25S**.

Além das resinas contendo resina pura e carga apontadas acima, ao longo do desenvolvimento deste trabalho fez-se necessário a inserção de absorvedor de UV para melhor definição de impressão (imprimibilidade). A quantidade de 0,1% m/m foi adicionada com base nos estudos feitos por Van Bochove e colaboradores (2016) compondo a resina a seguir:

- PCLMA + 10% HAp-Si (m/m) + 0,1% Orange II (m/m resina): **PCLMA10SOr**.

4.12. Reologia das resinas fotocuráveis de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A viscosidade das resinas é um importante parâmetro que garante boa imprimibilidade. Foi feita a medida da viscosidade (Pa.s) em função da taxa de cisalhamento (1/s) nas amostras de PCLMA, seus compósitos com Hidroxiapatita ou

Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações e, também, para comparação com a resina comercial “Anycubic” da mesma marca da impressora 3D LCD que será utilizada neste trabalho. As medidas foram realizadas no reômetro TA Instruments DHR-2 utilizando placa paralela de 25 mm de diâmetro e espaçamento de 0,5 mm à 25, 40 e 60 °C.

4.13. Análise Termogravimétrica / Termogravimétrica Derivativa (TG/DTG) de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Esta análise foi feita para confirmação da adição de carga e identificação do valor em massa presente. Medidas de TG/DTG foram obtidas no equipamento de termogravimetria TA Instruments TGA Q50 utilizando cerca de 10 a 15 mg de amostra no intervalo de aquecimento de 25 a 1000 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, em atmosfera de N₂ de 50 ml/min.

4.14. Radiometria das fontes de luz

A radiometria foi realizada para determinação dos espectros de emissão de luz (potência em função do comprimento de onda) das fontes de luz usadas neste trabalho, LED da impressora 3D Anycubic Photon Mono e banho de UV Anycubic Wash&Cure 2.0. Os espectros foram obtidos usando espectro radiômetro SPR-01 (Luzchem).

4.15. Tensiometria/Molhabilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Molde de silicone com cavidades cilíndricas de 10 mm de altura e 2 mm de diâmetro foi confeccionado no Laboratório de Tribologia e Compósitos (EESC - USP) para obtenção de pastilhas cilíndricas.

As resinas fotocuráveis foram adicionadas nas cavidades do molde de silicone e curadas no equipamento de banho UV Anycubic Wash&Cure 2.0 por 2 min em base rotatória, obtendo-se os corpos de prova (Figura 19).

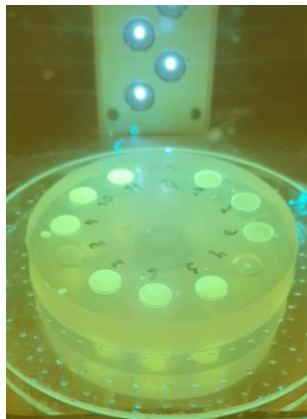


Figura 19 – Banho de UV em molde de silicone

A hidrofiliabilidade do material é um importante parâmetro para predição da adesão das células em contato com a superfície da amostra. No equipamento Theta Lite – Attension® a tensiometria foi medida pelo contato de 3 μ l de gota de água Milli-Q sobre os corpos de prova de cada amostra. O ângulo de contato do lado esquerdo e do lado direito da tangente da gota ao longo de 10 segundos de análise é registrado por 121 medidas que se inicia no momento que a gota de água cai sobre a superfície da amostra. O ensaio foi realizado em triplicata para cada amostra, assim foi calculado a média, mediana e desvio padrão.

4.16. Ensaio de Dureza Shore A de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A dureza Shore A foi realizada pelo durômetro digital MetroTokyo MTK-1040 nos corpos de prova de cada amostras fotocuradas para fins comparativos de propriedade mecânica e influência da quantidade da carga adicionada. Foram realizadas 5 medidas por 15 s cada para cada amostra. Este ensaio foi realizado no laboratório de Polímeros do Departamento de Engenharia de Materiais - EESC/USP

4.17. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV-EDX)

4.17.1. Morfologia dos corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

As análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDX) foram realizadas no microscópio JEOL JSM-7200F para verificação da dispersão, morfologia e tamanho das partículas de carga presentes na matriz polimérica. As pastilhas foram congeladas em nitrogênio líquido e fraturadas. Posteriormente, foram fixadas na superfície de *stubs* metálicos com auxílio de fita de carbono que apresenta superfície adesiva e condutora. Os *stubs* contendo as amostras foram recobertos com carbono a fim de torná-las condutoras e possibilitar a obtenção das imagens. As imagens das amostras foram obtidas a partir do uso do detector de elétrons secundários e utilizou como diferença de potencial 15 kV para a aceleração dos elétrons.

4.18. Análise biológica em corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Ensaio *in vitro* foram realizados para identificar o comportamento das células em contato com a superfície das amostras. Desta forma é possível inferir se o material é potencialmente biocompatível e atóxico.

4.18.1. Cultura celular

Fibroblasto humano primário foram extraídos, amplificados e acondicionadas em nitrogênio líquido (CEP 4.569.285). Após descongelamento, as células foram cultivadas em meio de cultura com alta concentração de glicose (DMEM High, Sigma), suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado (SBF, Gibco) e 1% de penicilina-estreptomicina (PS, BioReagent). As células foram mantidas à temperatura de 37°C e 5% CO₂, até 80% de confluência. O meio de cultura foi trocado (5 a 8 vezes) a cada dois dias para manter o desenvolvimento celular. O meio de cultura e os ensaios *in vitro* foram

realizados no Laboratório de biotecnologia, bioengenharia e biomateriais nanoestruturados (LABEN – UFRJ).

4.18.2. Preparo dos corpos de prova para testes com cultura celular

Todos os corpos de prova foram lavados com *Phosphate-buffered saline* (PBSx1), pH 7,2 (Gibco) por 3 vezes e, em seguida, cada lado foi esterilizado com luz ultravioleta dentro da capela de fluxo laminar durante 30 minutos.

4.18.3. Ensaio de Adesão Celular

As células sub-confluentes foram removidas da placa de cultivo utilizando tripsina-EDTA a 0,25% e, em seguida, semeadas a uma densidade de 64000/cm² em 100 µl de meio de cultura em cada corpo de prova. Após 4h (tempo necessário para garantir a adesão precoce das células nas superfícies) foram adicionados 400 µl de meio de cultura e posteriormente foram incubadas por 24h.

4.18.4. Ensaio de indução de matriz extracelular na superfície de corpos de prova

As células foram incubadas em meio DMEM HIGH GLICOSE suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de PS durante 3 dias e em seguida, a produção de matriz extracelular foi estimulada trocando o meio por meio de indução, contendo DMEM HIGH GLICOSE suplementado com 0,5% de soro fetal bovino, 1% de PS e 50 µg/ml de ácido ascórbico durante 7 dias, trocando o meio de 3 em 3 dias.

4.18.5. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura

Após dado o tempo necessário para ambos os ensaios, foram realizadas duas lavagens em PBS1x nos corpos de prova e as células foram fixadas com solução Karnovsky (4% paraformaldeído, 0,5% glutaraldeído em tampão cacodilato 0,1M) por 2h à temperatura ambiente. Após a fixação as células foram pós-fixadas com 1% de tetróxido de ósmio e 0,8% de ferrocianeto de potássio, desidratadas com banhos seriais de álcool (à 50%, 60%, 70%, 80%, 90% e 100%), secas em hexametildissilazano e

metalizadas com ouro (em corrente de 40 mA por 90 s). As amostras foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-7200F.

4.19. Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Foram realizadas análises de absorção eletrônica na região do UV-Vis para as resinas deste trabalho para identificar a faixa do comprimento de onda absorvido para a realização do posterior processamento por impressão 3D. As amostras foram diluídas em isopropanol e as análises foram realizadas no intervalo de 200 a 800 nm, com aquisições de absorbância a cada 1 nm. As análises foram feitas no espectrofotômetro Shimadzu UV-Vis UV-2550.

4.20. Fotocalorimetria de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

O entendimento da cinética de polimerização é importante para o desenvolvimento de resinas funcionais e com boa imprimibilidade. O experimento de cinética foi realizado em fotocalorímetro TA Instruments DSC Q2000 e, para a fonte de irradiação de luz foi desenvolvido em laboratório dispositivo usando par de LED comercial (~395 nm), do qual mais se aproximava da emissão da impressora 3D (405nm). As resinas analisadas foram pesadas com cerca de 10 mg e adicionadas em painéis de alumínio. O experimento seguiu à temperatura controlada de 25 °C sob o fluxo de N₂ de 50 ml/min e tempo de irradiação de 180 s.

4.21. Processo de Impressão 3D por fotopolimerização de corpos de prova para ensaios mecânicos e arcabouços porosos

A impressora 3D comercial da marca Anycubic e modelo Photon Mono foi utilizada para a impressão dos testes subsequentes deste trabalho. A impressão 3D é feita por

fotopolimerização pela técnica *Liquid Crystal Display* (LCD) que é baseada em projetor de LED de comprimento de onda nominal de 405 nm, resolução 2560x1620 pixel (2K; XY: 0,051 mm; Z: 0,01mm), potência nominal de 45W e envelope de impressão de 130 x 80 x 165 mm.

Os parâmetros básicos de impressão usados foram altura de camada de 0,03 mm (30 micrometros) e tempo de cura por camada de 6 s. Após todas as peças ficarem prontas, estas foram lavadas com álcool isopropílico, secas e encaminhadas para banho de UV no equipamento Anycubic Wash&Cure 2.0 por 1 min para finalizar a cura de oligômeros residuais.

4.21.1. Ensaio de Compressão de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Ensaio de compressão foi realizado para mensurar as propriedades mecânicas do material quando este sofre esforços externos na aplicação. Corpos de prova cilíndricos foram modelados em 3D no *software* de modelagem 3D Autodesk Fusion 360 com altura (H) de 12,70 mm e diâmetro (D) de 6,35 mm (Figura 20) e configurados para impressão 3D (fatiamento) no *software* Chitubox version 1.9.3. Neste ensaio, 5 corpos de prova foram submetidos à compressão na máquina de ensaio universal MTS® Bionix no avanço de 1 mm/min baseado na norma ASTM D695-23. Este ensaio foi realizado no Laboratório de Tribologia e Compósitos (EESC - USP).

Análise de variância ANOVA com teste Tukey (α : 0.05) foi realizado no *software* OriginLab para avaliar e comparar o grupamento das médias obtidas.

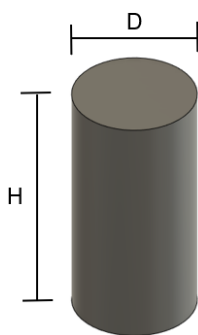


Figura 20 - Modelo 3D do corpo de prova de compressão

4.21.2. Imprimibilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A fim de verificar a resolução das resinas feitas neste trabalho, ou seja, para determinar o quão precisa foi a impressão das peças, as alturas e diâmetros dos modelos impressos para o ensaio de compressão foram medidos e comparados aos do modelo 3D.

Análise de variância ANOVA com teste Tukey (α : 0,05) foi realizado no software OriginLab para avaliar e comparar o grupamento das médias obtidas.

4.21.3. Impressão 3D de Arcabouços de estrutura giroide

Arcabouços de estruturas denominadas giroide com porosidade (volume vazio) de 70%, dimensões de 10 x 10 x 10 mm, poros (ρ) projetados de 1,2 mm (modelo 1) e 0,6 mm (modelo 2) de diâmetro foram modelados seguindo a fórmula matemática da Equação 3 e impressos usando o software Mathmod-10 (Figura 21) (BLANQUER; WERNER; HANNULA; SHARIFI *et al.*, 2017; RONCA; RONCA; FORTE; ZEPPELLI *et al.*, 2018).

$$\cos(x) \sin(y) + \cos(y) \sin(z) + \cos(z) \sin(x) - 0,6 = 0 \quad (\text{Equação 3})$$

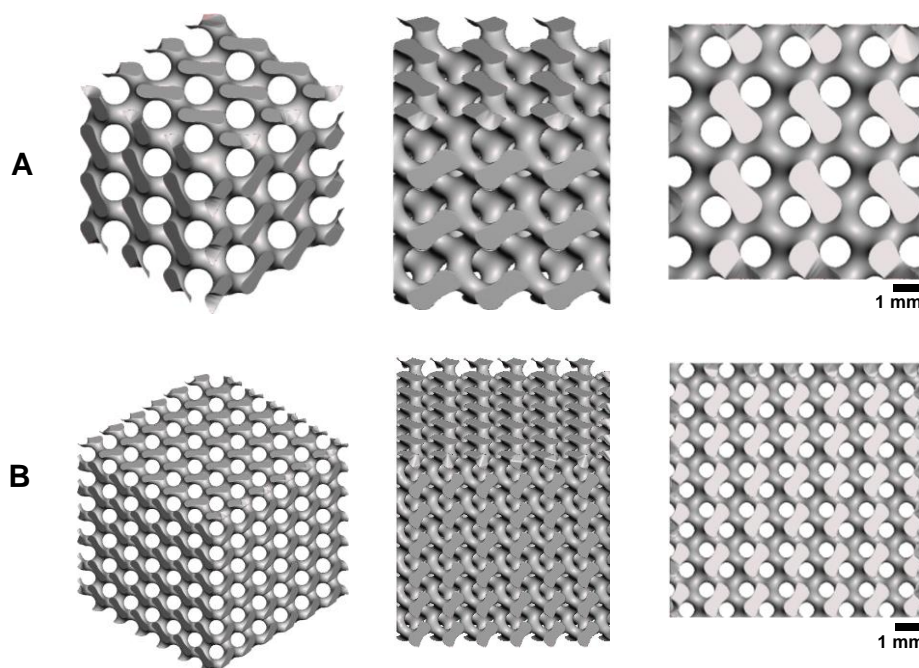


Figura 21 - Vistas do modelo giroide a) $\rho = 1,2$ mm (modelo 1); e b) $\rho = 0,6$ mm (modelo 2)

4.21.4. Microtomografia (microCT)

A estrutura dos arcabouços de PCLMA10SOr (Figura 22), a porosidade medida, bem como a dispersão de carga foram analisadas por microtomografia. O modelo impresso foi inserido em um suporte padrão de latão e fixado com massa padrão no porta amostras, livre de qualquer movimento durante a aquisição das projeções. Após preparação, o modelo foi alocado no compartimento de amostras do microtomógrafo Bruker SkyScan 1272 equipado com detector CMOS. A fonte de raios-X foi alimentada em tensão de 60kV, corrente de 165 mA e com filtro de alumínio de 0,25 mm de espessura. Anteriormente ao escaneamento foi realizado o procedimento de *flat field*, em que o tempo de exposição foi mantido em 495 ms. Cada projeção de raios-X é resultado da média de 4 projeções iguais. O passo do ângulo de rotação foi de 0,3° de 0 a 180°. Os parâmetros de reconstrução foram mantidos iguais para todas as amostras: *Smooth* (0), *beam hardening correction* (8%), *Ring artifacts* (20). A microtomografia foi realizada no LAimage – CTI Renato Archer.

O software NRecon (Bruker Corp.) foi utilizado para a reconstrução das projeções, o cálculo de porosidade foi realizado pelo software CTan 1.18, o cálculo do tamanho de poro pelo software ImageJ 1.54d e a comparação da diferença dimensional entre o arquivo 3D obtido contra o modelo de referência foi feita pelo software CloudCompare 2.7.0.

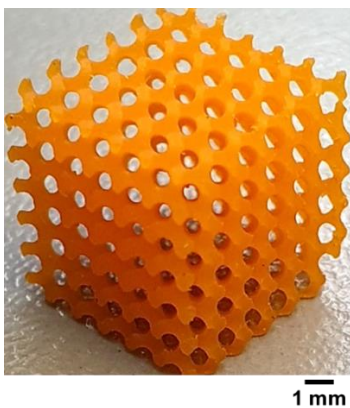


Figura 22 – Arcabouço giroide (modelo 2) impresso 3D em PCLMA10SOr

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização de Hidroxiapatita

A dispersão não homogênea ou a tendência de aglomeração de partículas de minerais inorgânicos em matrizes poliméricas é um problema extensamente relatado na literatura (ATAK; BUYUK; HUYSAL; ISIK *et al.*, 2017; MOTLOUNG; MOFOKENG; RAY, 2021; SONG; PARK; LEE; LEE *et al.*, 2019). Para efetivamente melhorar a interação da interface entre as duas fases, agentes de acoplamento de silano como o (3-aminopropil) trietoxisilano (APTES) são usados para modificar a superfície das partículas de cargas inorgânicas como de HAp (Figura 23) (ACRES; ELLIS; ALVINO; LENEHAN *et al.*, 2012; SLIMANI; DAL POGGETTO; LAURIENZO; KSOURI *et al.*, 2020). Assim, neste trabalho a HAp foi sintetizada, modificada com APTES e posteriormente caracterizada, com a finalidade de melhor interagir com a matriz polimérica de PCLMA da resina.

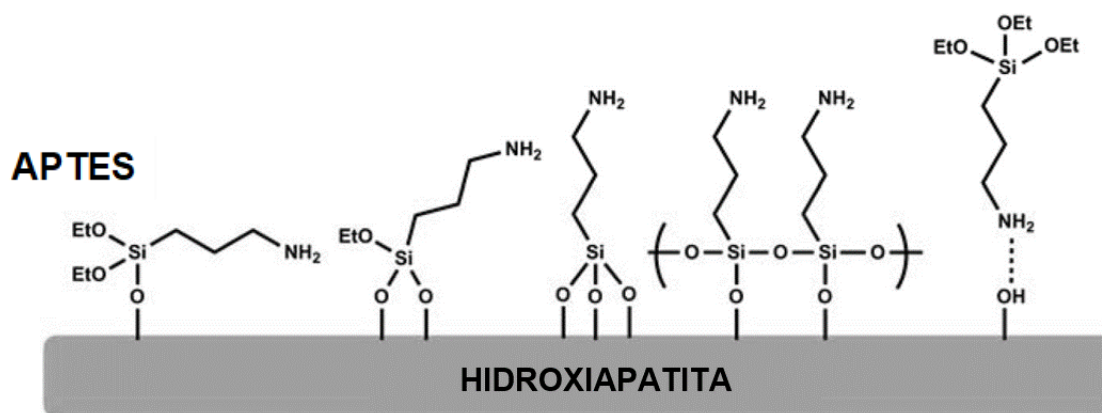


Figura 23 - Possíveis orientações de HAp funcionalizado por APTES (Fonte: adaptado de (ACRES; ELLIS; ALVINO; LENEHAN *et al.*, 2012))

5.1.1. Análise de Difração de Raios-X (DRX) de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada

A análise de DRX foi feita para confirmar os picos cristalinos principais de HAp. Ainda, a reação de modificação por silanização com APTES apenas deve alterar a superfície dos cristais e não alterar sua fase cristalina. A mudança da cristalinidade e da fase cristalina alteraria as propriedades intrínsecas da HAp. A Figura 24 exhibe difratogramas de raios-X de HAp e HAp-Si.

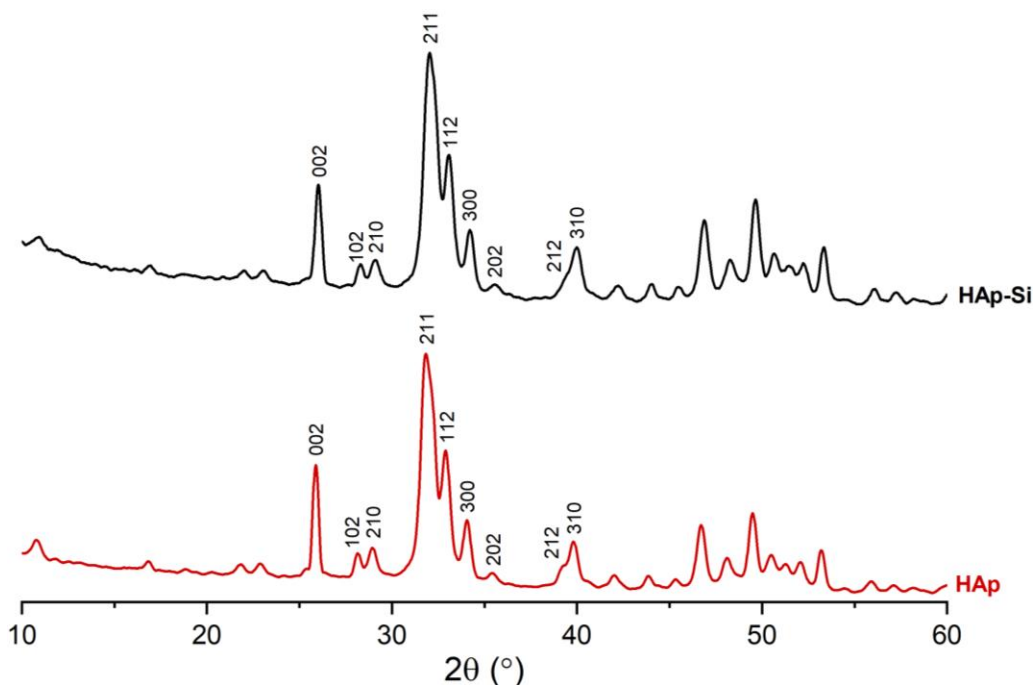


Figura 24 – DRX de HAp e HAp-Si

O difratograma demonstrou boa definição e apontou os principais picos cristalinos de HAp identificados em $2\theta = 25,89^\circ$ (002); $28,18^\circ$ (102); $28,96^\circ$ (210); $31,84^\circ$ (211); $32,90^\circ$ (112); $34,07^\circ$ (300); $35,46^\circ$ (202); $39,27^\circ$ (212) e $39,80^\circ$ (310) e confirmam aos relacionados na literatura (NEJATI; MIRZADEH; ZANDI, 2008; TIAN; ZHU; XU; REN, 2019). Ainda, os resultados de HAp-Si mostram que a silanização não afetou a estrutura da rede cristalina (CAI; WANG, 2010; MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015).

5.1.2. Espectroscopia Vibracional de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) de pó de Hidroxiapatita, Hidroxiapatita Silanizada e APTES.

A FTIR foi realizada para detectar a presença dos principais grupamentos de cada composto e indicar qualitativamente que houve a reação de silanização na HAp. Os espectros de FTIR de HAp, HAp-Si e APTES são apresentados na Figura 25.

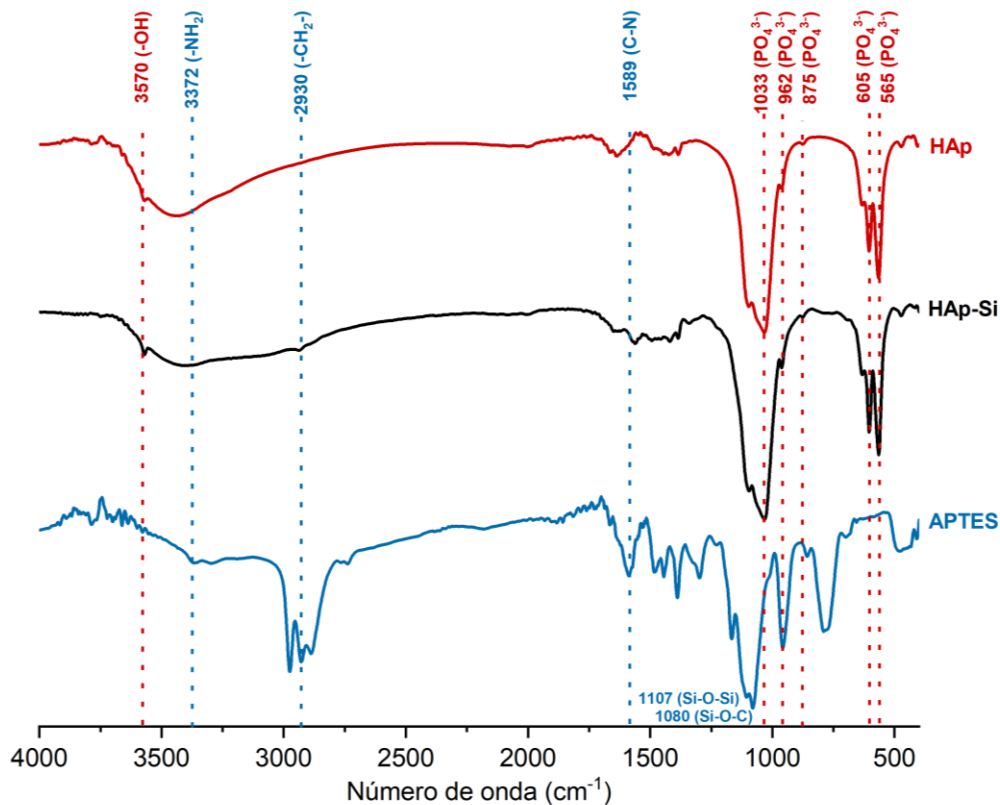


Figura 25 – FTIR de HAp, HAp-Si e APTES

As bandas dos grupos funcionais características de HAp e APTES são encontradas em HAp-Si e correspondem as mesmas verificadas na literatura. As bandas de HAp encontradas são -PO_4^{3-} (565, 605, 875, 962 e 1033 cm^{-1}) e -OH (3570 cm^{-1}). Para o APTES é possível notar as bandas de C-N (1589 cm^{-1}), $\text{-CH}_2\text{-}$ (2930 cm^{-1}) e -NH_2 (3372 cm^{-1}) (LUCIA; BACHER; VAN HERWIJNEN; ROSENAU, 2020; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022; SALIM; LOUTFY; EL-FAKHARANY; TAHA *et al.*, 2021).

Embora as bandas de Si-O-C (1107 cm^{-1}) e Si-O-Si (1080 cm^{-1}) sejam fortes e predominantes no APTES, estas foram sobrepostas pelas bandas de -PO_4^{3-} da HAp por conta da sua fração pouco expressiva presente no material. Analisando a curva de HAp-Si, as bandas principais dos grupamentos de ambos os materiais foram identificadas na amostra de HAp-Si e citadas acima. Portanto, isto sugere que houve a confirmação da reação de silanização da superfície de HAp por APTES e que será corroborada aos resultados de RMN no estado sólido a seguir.

5.1.3. Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) no estado sólido de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada

A ressonância no estado sólido da HAp e HAp-Si são demonstradas na Figura 26.

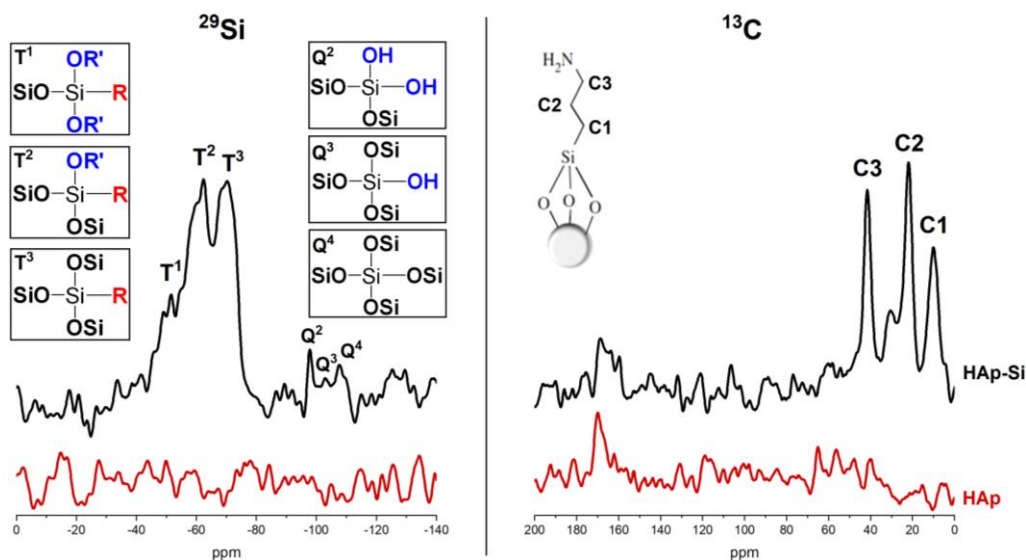


Figura 26 – RMN de estado sólido de ^{29}Si e ^{13}C de HAp e HAp-Si

O espectro de ressonância de ^{29}Si é caracterizado pela presença de sinais de silanóis (Si-OH ou Si-OR') e siloxanos (Si-O-Si). A região entre -50 e -70 ppm é atribuído aos centros T¹, T² e T³, dos quais suas estruturas são representadas na Figura 26 e assimilados para as ligações Si-R. Os sinais de maior predominância são de T² (-62 ppm) e T³ (-70 ppm) dos quais afirmam a reação de silanização da HAp por APTES. Além disso, sinais fracos na região entre -95 e -115 ppm são dos centros Q¹, Q² e Q³, que indicam perda do grupamento aminopropil do APTES. Isto pode ser atribuído ao tratamento térmico posterior de 130 °C para cura, fixação e formação de polisiloxanos de APTES na superfície da HAp (GOONASEKER; JACK; COOPER-WHITE; GRONDAHL, 2013; KIM; HAN; KIM; LEE, 2011; LUCIA; BACHER; VAN HERWIJNEN; ROSENAU, 2020; MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015; OJEDA-LOPEZ; DOMINGUEZ-ORTIZ; FELIPE; CERVANTES-URIBE *et al.*, 2021).

Já para o espectro de ressonância de ^{13}C , constata-se a presença predominante da cadeia do grupo aminopropil representados por C¹, C² e C³ em 10, 22 e 42 ppm, respectivamente. No espectro ^{13}C de HAp, percebe-se sinal em 170 ppm do qual aponta

a presença do grupamento carbonila que pode ter ocorrido ou aderido à HAp no processo (MICHELOT; SARDA; AUDIN; DEYDIER *et al.*, 2015). O mesmo sinal pode ser observado no espectro de HAp-Si, com a adição em 168 ppm também atribuído ao grupamento carbonila que ocorre mais predominante no tratamento térmico. Embora este sinal esteja presente, este é de fraca intensidade e, ainda, o espectro de FTIR no item 5.1.2 não apontou sinal vibracional em torno de 1735 cm^{-1} , podendo, assim, tratá-lo como desprezível.

5.1.4. Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Diferencial (DTG) de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada

Os experimentos de análise térmica foram realizados para caracterizar o perfil de degradação de HAp e HAp-Si e estimar o grau de silanização pela diferença de massa final resultante entre as amostras.

A Figura 27 mostra a estabilidade térmica da HAp e da HAp-Si.

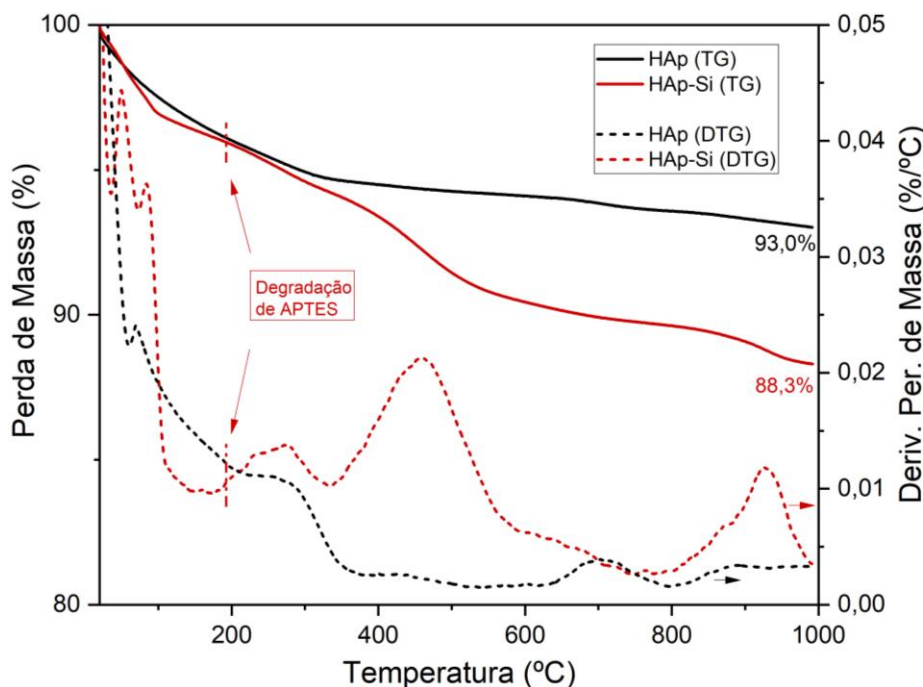


Figura 27 - Curva de TG e DTG de HAp e HAp-Si

O comportamento térmico das amostras aponta massa residual final de HAp e HAp-Si de 93,0% e 88,3%, respectivamente. O primeiro estágio está entre 25 e 200 °C,

com perda de massa de aproximadamente de 3,9%, que pode ser relacionado à água adsorvida na superfície da HAp. O segundo estágio é a perda de água que faz parte da rede cristalina da HAp, este estágio está entre 200 e 335 °C, com perda de massa perto de 1,9% (-5,8% de perda de massa acumulado até este estágio). Para o HAp-Si, há o fator de perda de massa mais acentuado pela degradação térmica dos grupamentos aminopropil que ocorre a partir desta temperatura, como descrito por Goonasekera et al. 2013. Assim, observa-se a separação das curvas indicando diferentes taxas de perda de massa de HAp de 96,0% para 93,0% (-3,0%) e de HAp-Si de 95,9% para 88,3% (-7,6%).

Visto isto, comparando as curvas pode-se relatar que há diferença de ~4,7% de perda massa total. Esta diferença de perda de massa está relacionada a degradação térmica de APTES ancorado na superfície de HAp e que evidencia o teor de APTES funcionalizado na superfície (ATAK; BUYUK; HUYSAL; ISIK *et al.*, 2017).

5.2. Caracterização de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Resinas fotopolimerizáveis para produção de implantes médicos devem possuir viscosidade desejada que permita a completa impressão 3D por cura do modelo desejado. Concomitantemente, deve promover suficiente resistência mecânica e bioatividade após a fabricação por impressão 3D (BABILOTTE; GUDURIC; LE NIHOANNEN; NAVEAU *et al.*, 2019; JIAO; LUO; XIANG; MA *et al.*, 2019). As resinas foram caracterizadas para melhor compreender suas propriedades físico-químicas e relacionar com os diversos parâmetros de impressão 3D.

5.2.1. Espectroscopia Vibracional de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) de resina de PCLdiol, PCLMA e MAAh

A FTIR foi realizada para a determinação de grupos funcionais principais dos materiais analisados. Os resultados dos espectros de FTIR de MAAh, PCLMA, PCLdiol são apresentados na Figura 28.

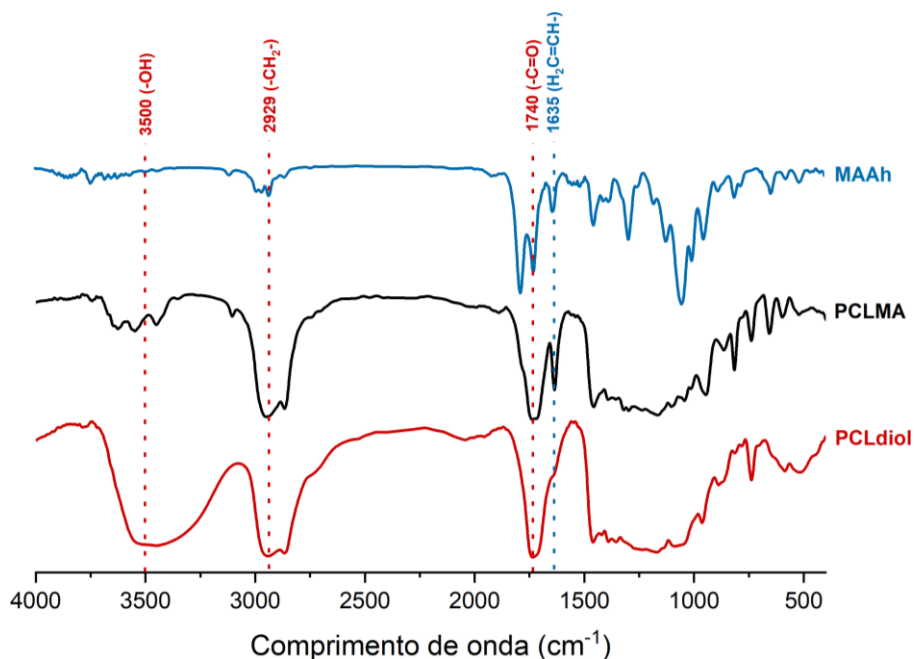


Figura 28 - Espectros de FTIR de MAAh, PCLMA e PCLdiol

Na Figura 28, a banda de absorção em 1635 cm^{-1} na curva de PCLMA está associada ao grupamento vinílico ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-$) proveniente da metacrilização da reação do PCLdiol com o anidrido metacrílico. As bandas de absorção em torno de 2929 cm^{-1} e 1740 cm^{-1} em todos os espectros são devidas ao metileno ($-\text{CH}_2-$) e a carbonila do éster ($-\text{C}=\text{O}$), respectivamente. Em torno de 3500 cm^{-1} , a absorção da hidroxila ($-\text{OH}$) no PCLdiol, se torna mais fraca no PCLMA devido a substituição ocorrida pela reação de metacrilização (CAI; WANG, 2010; RISANGUD; JIRABORVORNPOONGSA; PASEE; KAEWKONG *et al.*, 2021).

5.2.2. Determinação do grau substituição por metacrilização de PCLdiol por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ^1H RMN de PCLdiol e MAAh foram determinados para esclarecer a estrutura de cada reagente de partida. A partir disto, pelo espectro de PCLMA pôde-se comprovar que a reação de substituição por metacrilização do PCLdiol foi alcançada. Os espectros de ^1H RMN de PCLdiol, PCLMA e MAAh são apresentados na Figura 29.

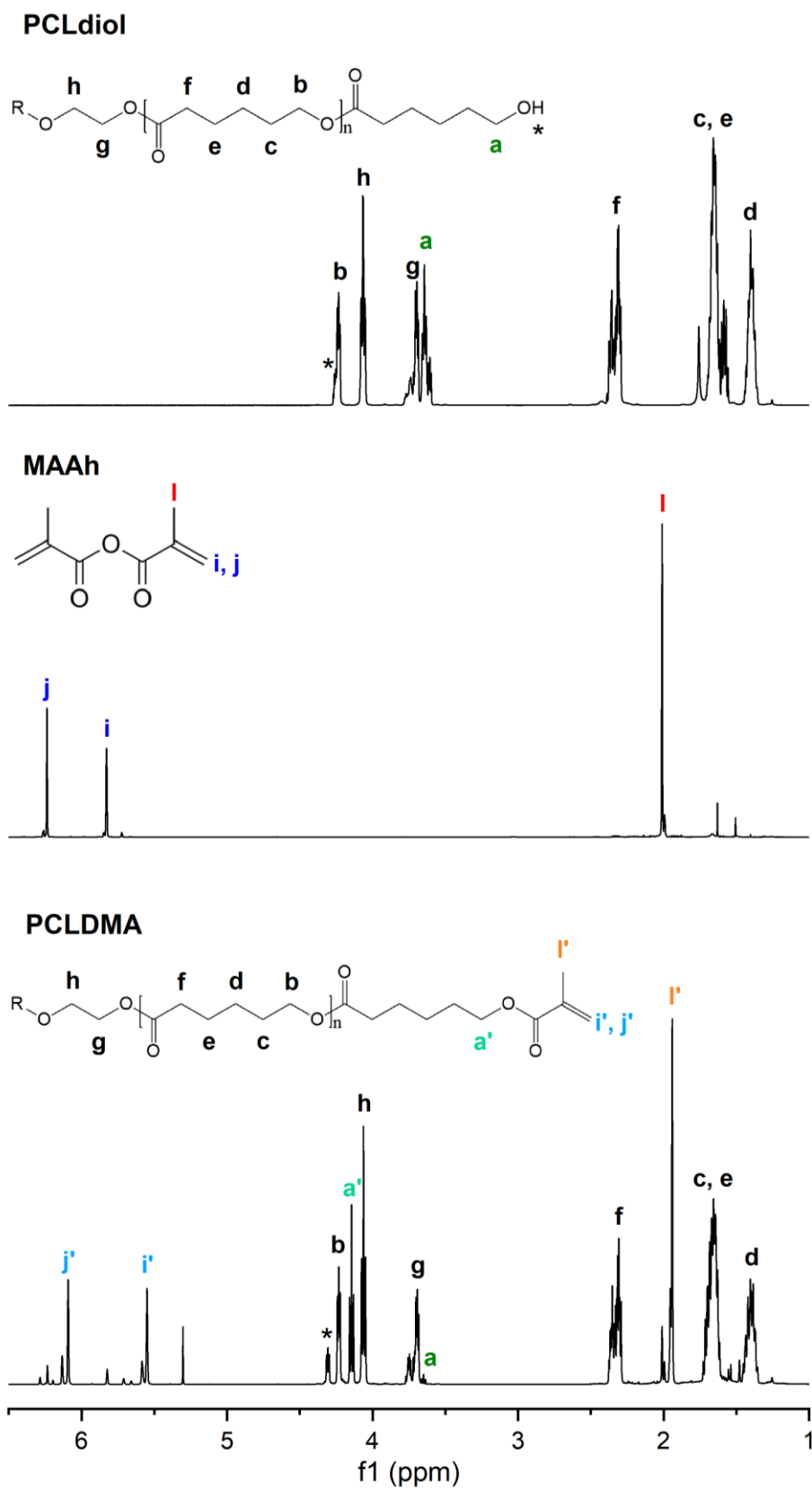


Figura 29 - Espectros de ^1H RMN de resina de PCLdiol, MAAh e PCLMA.

Primeiramente, no espectro de ^1H RMN de PCLMA da Figura 29 observa-se a redução de sinal em 3,65 ppm (pico “a” da Figura 29) referentes aos hidrogênios dos terminais hidroxila (-OH) do PCLdiol. Em paralelo, ocorre o surgimento de deslocamentos químicos nos sinais de 6,09, 5,56 e 1,95 ppm (picos i', j' e l' respectivamente) referentes aos hidrogênios das terminações de grupos vinílicos ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-$) do metacrilato. Além desses sinais há o surgimento do pico de sinal 4,15 ppm (pico “a'”) referente aos prótons de ligação ao grupamento metacrilato do (- CH_2O -). Estes resultados comprovam a efetividade da reação de substituição em concordância com a literatura (CAI; WANG, 2010; ELOMAA; TEIXEIRA; HAKALA; KORHONEN *et al.*, 2011; RUNGROD; KAPANYA; PUNYODOM; MOLLOY *et al.*, 2021).

O grau substituição (GS%) por metacrilção do grupamento hidroxila do PCLdiol pelo metacrilato do MAAh foi determinado pela Equação 4:

$$GS\% = \left(\frac{A_{CH_3/3}}{A_{CH_2/2}} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Na qual,

GS% = grau de substituição;

A_{CH_3} = área dos sinais dos hidrogênios metílicos do grupo metacrilato

A_{CH_2} = área dos sinais dos hidrogênios ligados ao carbono referente ao PCL

O GS% foi obtido utilizando-se a área do pico “h” (- CH_2 -) pela área de do pico “l'” (- CH_3). O valor obtido destes espectros da Figura 29 foi de 75%.

5.2.3. Determinação de massa molar por Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) de resina de PCLdiol e PCLMA

Os valores de massa molar foram determinados para entendimento da variação da distribuição da resina de PCLdiol e depois da funcionalização, PCLMA. A massa molar do polímero influencia diretamente no processo de impressão, que na maioria dos casos, o polímero é funcionalizado por acrilção ou metacrilção em sua cadeia. Ou seja, a

dependem do grau de metacrilacção e tamanho de cadeia, o grau de reticulação obtida é maior quando o comprimento da cadeia é curto e vice-versa. Por um lado, redes de reticulação muito densa aumentam a resolução de impressão, embora reduzam a biodegradação pela dificuldade de acesso e permeação de fluidos. Por outro lado, massa molar alta aumenta a viscosidade da resina e dificulta a impressão, sendo necessário elevar a temperatura na cuba ou adicionar solventes orgânicos dos quais podem promover problemas como toxicidade, dificuldade de remoção total e contração da peça (GREEN; WORTHINGTON; THOMPSON; BUNN *et al.*, 2018; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMMA, 2016).

Os resultados obtidos da massa molar numérica média (\overline{M}_n), massa molar ponderal média (\overline{M}_w) e dispersidade (\mathcal{D}), adquiridos por GPC, estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores da massa molar numérica média (\overline{M}_n), massa molar ponderal média (\overline{M}_w) e dispersidade (\mathcal{D}).

Amostra	\overline{M}_n (g/mol)	\overline{M}_w (g/mol)	\mathcal{D}
PCLdiol	668,0	1148,0	1,71
PCLMA	826,0	1214,0	1,47

A Tabela 1 aponta que para o PCLdiol a \overline{M}_n foi de 668 g/mol e que não ficou distante do valor nominal fornecido pelo fabricante, 530 g/mol. Já para o PCLMA a (\overline{M}_n) determinada foi de 826 g/mol, este aumento confirma a substituição dos hidrogénios, dos grupos hidroxila terminais, pelos grupos metacrilato. Ressalta-se que o valor de massa molar é apenas uma medida qualitativa, ou seja, é a estimativa da ordem de grandeza da média de massa molar das cadeias distribuídas pelo polímero em relação ao padrão utilizado (Figura 18).

A dispersidade (\mathcal{D}) de PCLMA, no valor de 1,47, não se alterou demasiadamente em comparação ao PCLdiol, no valor de 1,71, mesmo após a reacção de substituição. A dispersidade próxima de 1 e/ou abaixo de 2 é relacionada às propriedades e desempenho dos polímeros. Dos quais pode se citar a uniformidade das cadeias

poliméricas, melhor processabilidade, propriedades finais aprimoradas e controle reacional. Esses fatores contribuem para a qualidade, desempenho e aplicabilidade dos polímeros em várias áreas industriais (ZHU; RAMADANI; EGAP, 2021).

5.2.4. Análise Termogravimétrica (TGA) e Termogravimetria Diferencial (DTG) de resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A análise térmica por TGA foi utilizada para caracterizar o perfil de degradação da resina PCLMA e dos compósitos com HAp ou HAp-Si em diferentes concentrações. Também, estimar a quantidade de resíduo de matéria inorgânica a fim de medir a quantidade de carga presente em cada alíquota de resina.

A Figura 30 apresenta as curvas termogravimétricas e o valor obtido dos teores de resíduos da carga nas curvas de TG e DTG da resina de PCLMA e compósitos com hidroxiapatita e hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações.

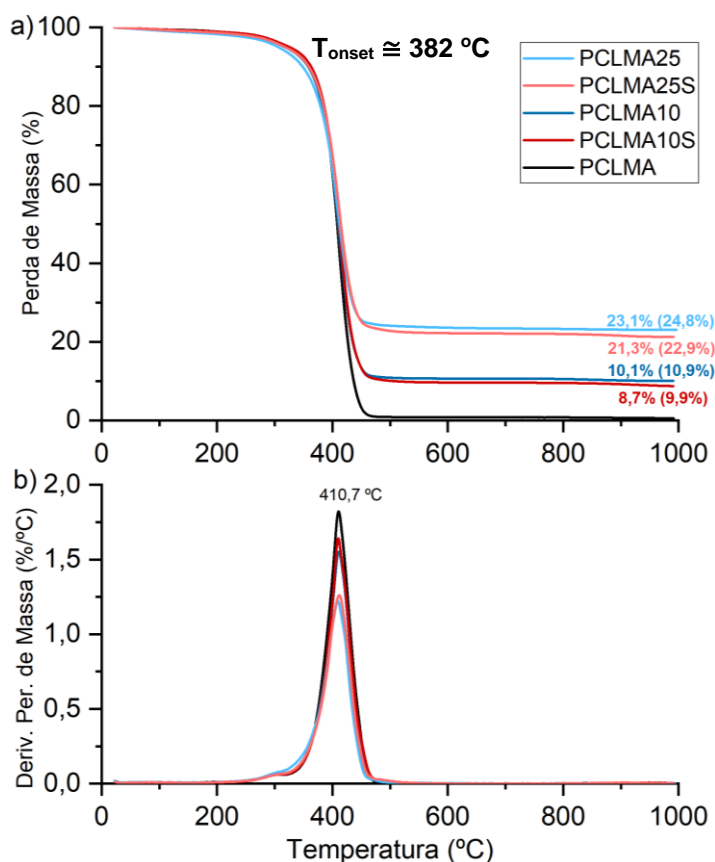


Figura 30 - Curva de TG e DTG de resina de PCLMA e compósitos com hidroxiapatita e hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações

Os valores do teor de resíduo estimam a quantidade de carga inorgânica, neste caso HAp em PCLMA10/PCLMA25 e HAp-Si em PCLMA10S/PCLMA25S. Em todas as amostras as curvas apresentaram apenas uma etapa de degradação, confirmando um compósito binário onde só há a presença da carga incorporada na matriz polimérica de PCLMA. A temperatura de *onset*, que é a temperatura estimada pela qual o processo degradante do material é iniciado, está em torno de 381,6 °C para todas as amostras.

Observa-se que os valores teóricos de carga nas amostras estão próximos dos teores de resíduos apresentados na curva. Estes valores representam uma fração de cada amostra das quais a dispersão de carga e sua homogeneidade variam ao longo da matriz polimérica e serão melhor explicitados a seguir na seção 5.3.3. Os valores entre parênteses apresentados ao final das curvas representam o valor de carga residual com a adição relacionada à perda de massa de HAp (~7,0%) e HAp-Si (~11,7%), como visto anteriormente no item 5.1.5.

Da curva de DTG, percebe-se que a taxa máxima de degradação se apresenta em aproximadamente 410 °C para todas as amostras. A adição de HAp ou HAp-Si em nada influenciou na taxa de degradação da matriz polimérica.

5.2.5. Reologia das resinas de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A viscosidade é um importante parâmetro para a impressão 3D de resina por fotopolimerização. Durante a impressão, as resinas precisam preencher continuamente os espaços vazios formados pelo deslocamento da plataforma em cada camada. Existem vários fatores que influenciam na alta resolução de impressão 3D por fotopolimerização. Em geral, é necessário que a viscosidade de resina seja baixa o suficiente, a depender da massa molar do monômero/oligômero, para que haja descolamento das camadas curadas da cuba de impressão. Do contrário, forças adesivas oriundas do processo causarão delaminação entre as camadas curadas do objeto impresso. Além disso, resinas de baixa viscosidade podem permitir maiores velocidades de impressão (MURPHY; LIM; WOODFIELD, 2022; VAN BOCHOVE; HANNINK; BUMA; GRIJPMA, 2016).

A viscosidade em função da taxa de cisalhamento das resinas de PCLMA e compósitos com hidroxiapatita ou hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações à temperaturas de 25, 40 e 60 °C são apresentadas na Figura 31.

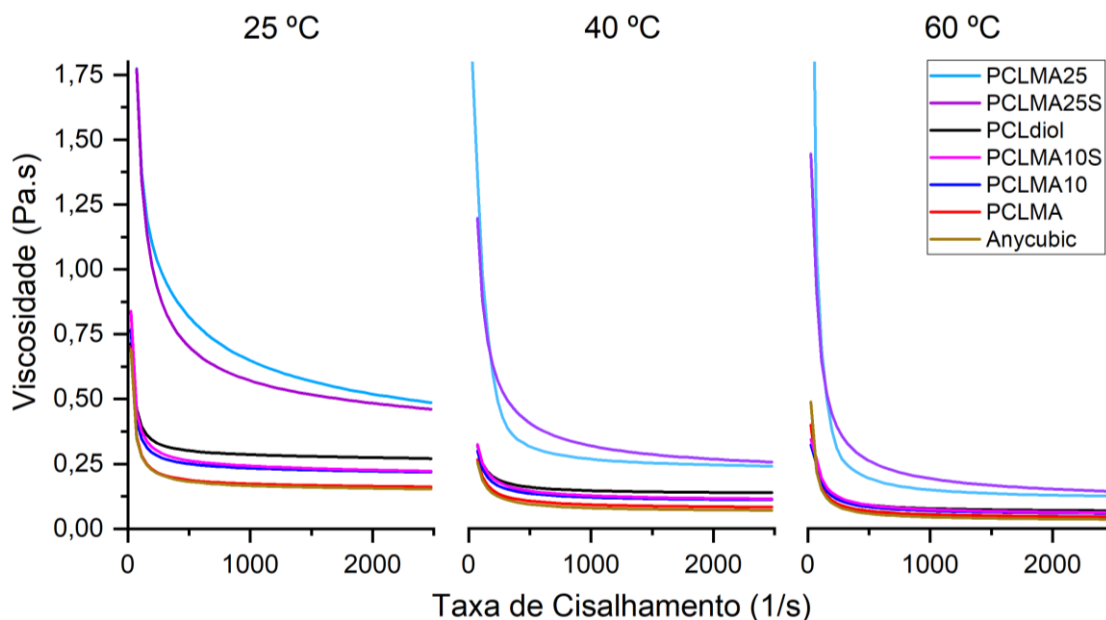


Figura 31 - Gráfico de viscosidade x Taxa de Cisalhamento das amostras à 25, 40 e 60 °C

As resinas Anycubic, PCLdiol, PCLMA, PCLMA10 e PCLMA10S à temperatura ambiente (~25 °C) apresentam o comportamento de fluido viscoso. Isto pode ser confirmado pela viscosidade das amostras de PCLdiol, PCLMA, PCLMA10 e PCLMA10S que alcançam *plateau* por volta de 500 s⁻¹, se comportando como fluido newtoniano e basicamente constância na viscosidade ao variar o cisalhamento.

Por outro lado, as resinas PCLMA25 e PCLMA25S não apresentam, perceptivelmente, viscosidade o suficiente para haver fluidez alguma à temperatura ambiente. Estas alcançam *plateau* de viscosidade suficientemente baixa para escoar em taxas de cisalhamentos para valores maiores do que 2000 s⁻¹. Para todas as amostras, este *plateau* é alcançado à cisalhamentos menores quando se aumenta a temperatura. As amostras tiveram comportamento similar, mantendo basicamente suas respostas na mesma ordem e não demonstraram nenhuma diferença aparente frente aos seus pares não silanizados.

Para fins de aplicação em impressão 3D por fotopolimerização, as resinas PCLMA25 e PCLMA25S não apresentam a viscosidade necessária para o seu uso à 25

°C. Estas só atingem valor de viscosidade semelhante à resina comercial próximo a temperatura de 60 °C. Sendo, portanto, para sua utilização como insumo, necessário reduzir a quantidade de carga, aumentar a temperatura local ou introduzir o uso de solvente orgânico. Esta última solução é indesejada, podendo acarretar em toxicidade caso não seja removido completamente, causar trincas internas e excessiva contração nas peças impressas (QUAN; ZHANG; XU; LUO *et al.*, 2020).

5.2.6. Radiometria do LED da impressora 3D e espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) de resina de PCLMA, compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações e absorvedor de luz Orange II

A Figura 32 apresenta os espectros de absorção das amostras e emissão do LED usado como fonte de luz da impressora 3D.

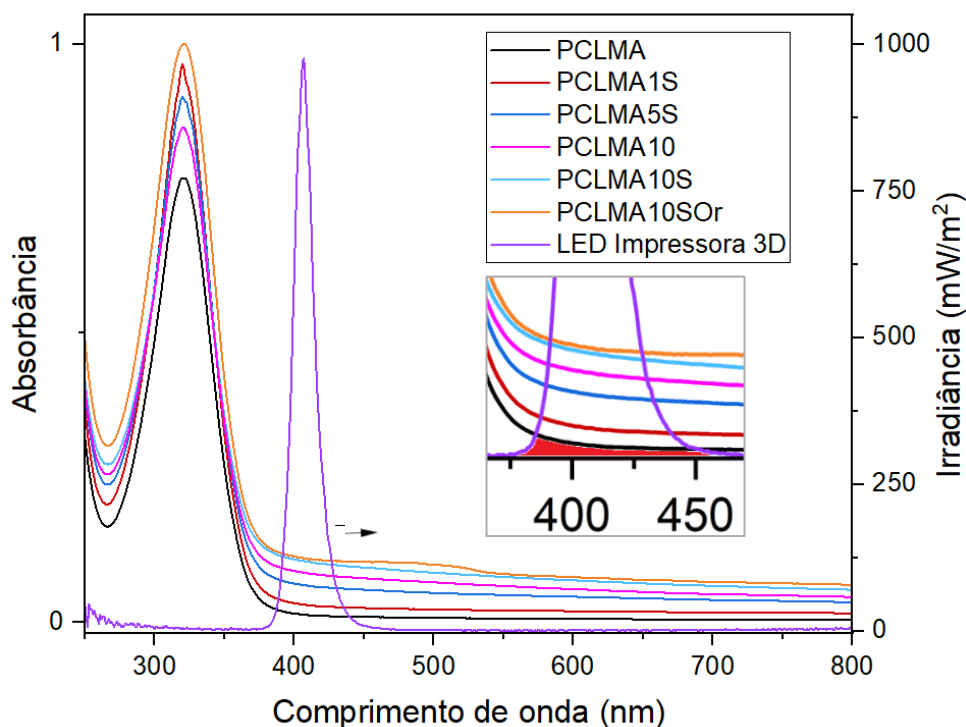


Figura 32 - Espectro de emissão do LED da impressora 3D e de absorção UV-Vis das resinas

O LED da impressora 3D teve emissão na amplitude de 375 – 470 nm e máxima em 407 nm. Já o máximo de absorção medida em todas as resinas foi em 320 nm, absorção esta oriunda do fotoiniciador Irgacure 369 escolhido. Embora estes máximos não coincidam, há sobreposição espectral entre 375 e 460 nm (destacado em área vermelha no quadro ampliado na figura 32) e isto foi suficiente para obtenção de peças na impressora 3D que será posteriormente discutido no item 5.5.

A partir das curvas de absorção é possível perceber que a adição de carga provocou dispersão de luz quando comparada à resina de PCLMA. Isto pode ser identificado em todas as resinas notando a elevação que a linha de base, da qual não há absorção evidente, teve entre o comprimento de onda de 375 - 800 nm. Além disso, comparada às resinas contendo a mesma quantidade de carga de 10% em massa, PCLMA10 e PCLMA10S, a resina PCLMA10SO_r obteve o maior pico de absorção em 320 nm por conter o absorvedor de luz Orange II que intensificou o sinal.

5.2.7. Fotocalorimetria de resina de PCLMA, compósitos com hidroxiapatita e hidroxiapatita silanizada em diferentes concentrações e absorvedor de luz Orange II

A velocidade de reação de polimerização ou a conversão dos oligômeros em polímero podem ser calculados pela liberação de calor durante a reação (exotérmica) em função do tempo. A seguir, serão apresentados os resultados para as composições de PCLMA e compósitos com 10% de carga em massa. A escolha deste teor de carga para estas análises se deve pelo fato de que mais adiante na explanação desta tese esta composição mostrou-se com as melhores propriedades mecânicas e possibilidade de impressão 3D total do arcabouço.

As entalpias em função do tempo (dH/dt) obtidas no experimento foram usadas para o cálculo do grau de conversão (GC%) conforme indicado na Equação 5, bem como para se obter a velocidade da reação (R_p), segundo a Equação 6 (DICKENS; STANSBURY; CHOI; FLOYD, 2003; GREEN; WORTHINGTON; THOMPSON; BUNN *et al.*, 2018; WANG; LI; WANG; CHENG *et al.*, 2020; WANG; JIANG; YIN, 2009; WEI; LIU, 2009).

$$GC\% = 100 \times \frac{dH/dt}{\Delta H_0^{\text{teórico}}} \quad (\text{Equação 5})$$

$$Rp = \frac{dH/dt}{\Delta H_0^{\text{teórico}}} \quad (\text{Equação 6})$$

Na qual,

GC% = grau de conversão;

Rp = velocidade de reação;

$\Delta H_0^{\text{teórico}}$ = entalpia de polimerização teórico padrão;

dH/dt = entalpia de polimerização padrão medido em função do tempo.

O valor de $\Delta H_0^{\text{teórico}}$ para metacrilatos usado foi de 54,8 kJ/mol (DICKENS; STANSBURY; CHOI; FLOYD, 2003).

O efeito da composição das resinas na conversão e na cinética de polimerização é observada na Figura 33 e Figura 34 a seguir.

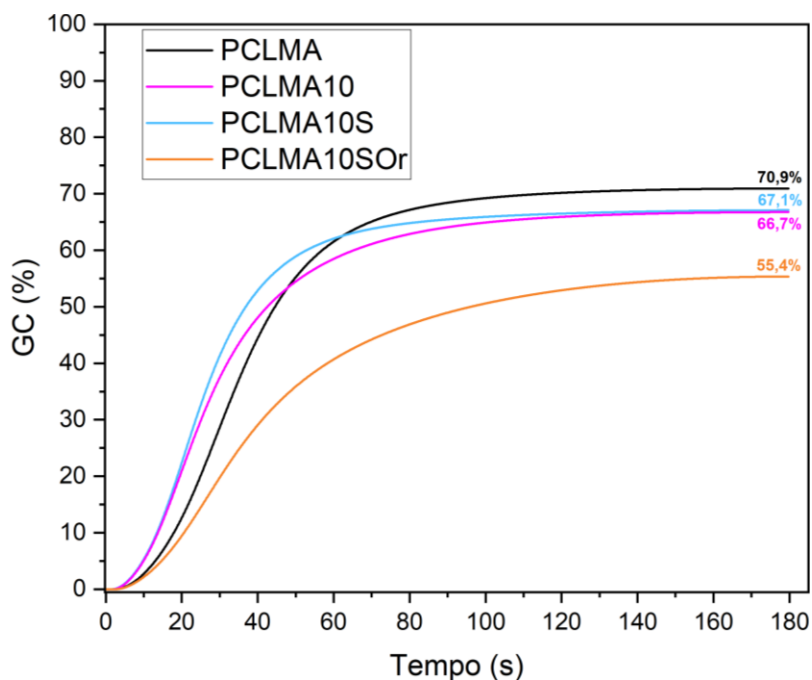


Figura 33 - Curvas de conversão em função do tempo de resinas de PCLMA, PCLMA10, PCLMA10S e PCLMA10SOOr onde GC% é o grau de conversão.

A Figura 33 apresenta o gráfico do grau de conversão (GC%) em função do tempo de diferentes formulações de resinas de PCLMA, PCLMA10, PCLMA10S e PCLMA10SO_r. Os perfis destas curvas demonstram que, aos 180 segundos, a adição de carga reduziu a conversão total dos oligômeros em polímeros. Esta redução foi de 70,9% (PCLMA) para 67,1% (PCLMA10S) e 66,7% (PCLMA10). A presença de absorvedor de luz conduziu a menor conversão obtida, no valor de 55,4% (PCLMA10SO_r).

Durante a fotopolimerização a viscosidade do sistema aumenta, o que limita a difusão das cadeias reativas e reduz a constante de terminação da cinética de polimerização via radical livre, este fenômeno é denominado “efeito gel”. Na medida em que a reação progride, os grupos metacrilatos reagem limitadamente com as ramificações das redondezas e assim ocorre o fenômeno de auto aceleração nas cinéticas de propagação por: transferência de cadeia à polímero, transferência de cadeia intramolecular (“*back-biting*”) e/ou reações com ligações duplas. De tal modo, devido ao isolamento dos radicais disponíveis e grupos metacrilatos não reagidos, a conversão final sempre será menor do que 100% neste tipo de polimerização (ELLIOTT; LOVELL; BOWMAN, 2001; GOODNER; LEE; BOWMAN, 1997; LIGON-AUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHKE; STAMPFL *et al.*, 2016).

Em adição, como já observado nos espectros de absorção de UV-Vis no item 5.2.6, a adição de carga inorgânica resulta em dispersão de luz nas resinas compósito, isto ressalta que tal fenômeno atrapalha a absorção de luz e, por conseguinte, afeta a velocidade de polimerização e na conversão resultante final (LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017). Para a resina PCLMA10SO_r, era esperado menor conversão resultante uma vez que o absorvedor de luz compete no processo de absorção de luz com o fotoiniciador. Ressalta-se que no processo de impressão 3D por fotopolimerização a peça deve manter a forma e definição determinada previamente, e que há exposição em banho de UV posterior para terminar a reação de radicais de monômeros e oligômeros residuais.

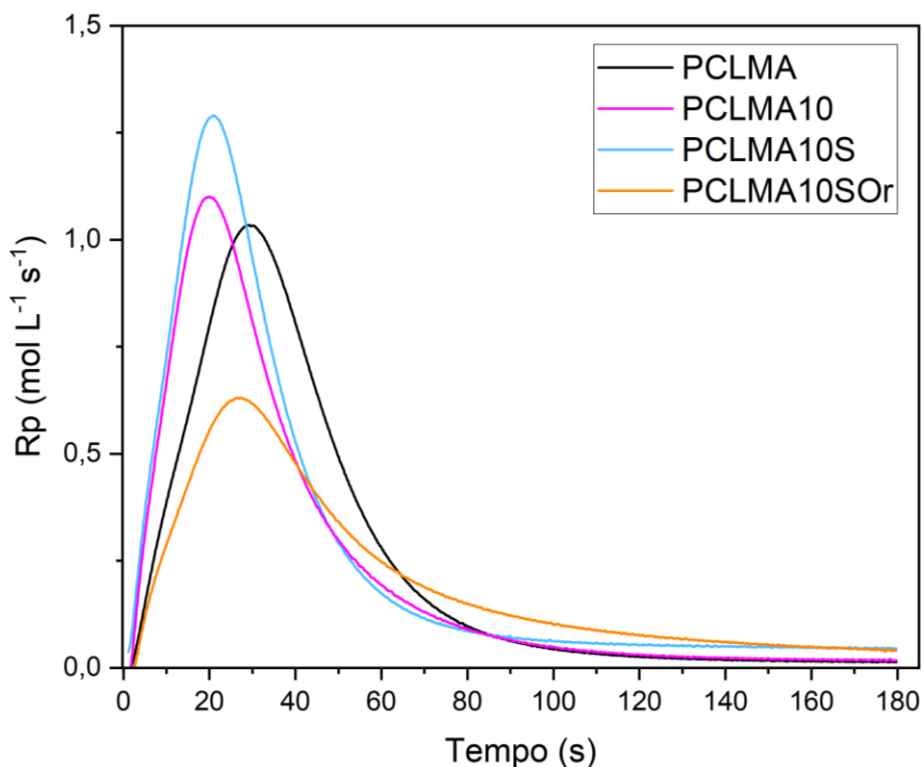


Figura 34 - Curvas de cinética de polimerização das resinas, onde Rp é a taxa de polimerização

Analisando as curvas da Figura 34, a taxa máxima de polimerização para PCLMA foi de 1,03 mol/(L.s) em 29,4 s. Quando foi adicionada carga, a taxa de polimerização aumenta para 1,10 e 1,29 mol/(L.s) nos tempos de 19,8 e 20,9 s para PCLMA10 e PCLMA10S, respectivamente. Visto isto, apesar destes resultados demonstrarem que adição de HAp resultou em valores maiores na taxa máxima de polimerização, as curvas apresentam menor amplitude, portanto a reação de polimerização é menor resultando em conversões menores, 67,1% e 66,7% (Figura 34).

Ademais, diretamente correlacionada com a conversão menor que as demais resinas, a taxa máxima de polimerização da resina PCLMA10SOr foi no valor de 0,63 mol/(L.s) em 26,4 s. Embora esta resina possua menor conversão na reação de polimerização e velocidade de reação, se mostrou suficientemente adequada para a formação de arcabouço impresso em 3D com alto detalhamento e porosidade definida, o qual será discutido adiante no item 5.5.3.2.

5.3. Caracterização dos corpos de prova curados de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Após a caracterização das resinas para impressão 3D por fotopolimerização, estas passaram pelo processo de cura e obteve-se corpos de prova cilíndricos (12,7 x 6,35 mm) e arcabouços (giroide) os quais foram caracterizados, testados e seus resultados serão apresentados a seguir.

5.3.1. Tensiometria/Molhabilidade de corpos de prova curados

A molhabilidade de um material é a capacidade deste em manter contato com um líquido, que é regido pela química e topografia de sua superfície. Para biomateriais, a molhabilidade com água norteia sobre eventos biológicos na interface do material de suporte. Quanto mais hidrofílico, menor a tensão entre o material e a água. Desta maneira, proporciona mais contato, ou melhor, menor ângulo entre as bordas da gota com a superfície (RUPP; GITTENS; SCHEIDELER; MARMUR *et al.*, 2014).

A tensiometria foi realizada medindo o ângulo de contato da gota de água Milli-Q sobre as pastilhas das amostras curadas para investigar a hidrofiliicidade dos corpos de prova e a contribuição de HAp e HAp-Si em diferentes quantidades (Figura 35).

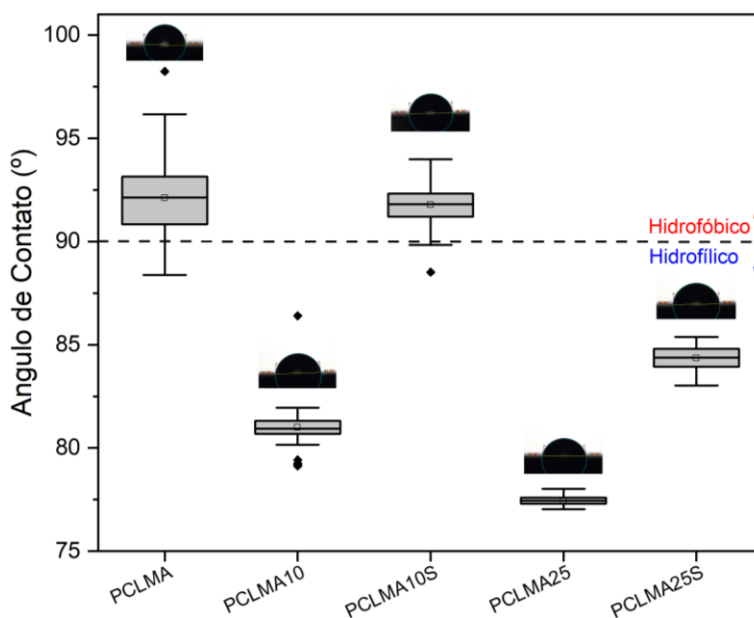


Figura 35 - Ângulo de contato de pastilhas de amostras fotocuradas

O ângulo de contato das amostras de PCLMA e PCLMA10S foram de $92,12^\circ \pm 1,71$ e $91,78^\circ \pm 0,85$, respectivamente. Materiais com valores acima de 90° são considerados de baixa molhabilidade e, portanto, hidrofóbicos (KUDDANNAYA; BAO; ZHANG, 2015; RUPP; GITTENS; SCHEIDELER; MARMUR *et al.*, 2014). Já para as amostras de PCLMA10, PCLMA25 e PCLMA25S os ângulos de contato medidos foram de $80,99^\circ \pm 0,69$, $77,45^\circ \pm 0,21$ e $84,35^\circ \pm 0,54$, respectivamente, considerados então como materiais hidrofílicos.

De acordo com a Figura 35, a adição de HAp tornou as amostras mais hidrofílicas, característica essa que se buscou com a adição desta carga. Já para a adição de HAp-Si, observa-se que apenas para a quantidade adicionada de 25% o material tornou-se hidrofílico. A silanização por APTES foi feita para aumentar a compatibilidade e interação da carga com a matriz polimérica, por sua vez a carga se tornou mais hidrofóbica devido a presença dos hidrocarbonetos (apolar) presentes no grupamento aminopropil e, sendo assim, reduz a interação com a água, que é polar (BIGGEMANN; MÜLLER; KÖLLNER; SIMON *et al.*, 2020; KUDDANNAYA; BAO; ZHANG, 2015).

5.3.2. Ensaio de Dureza Shore A dos corpos de prova curados

O método de medição de dureza Shore A é indicado na avaliação da dureza superficial de polímeros, borrachas e elastômeros pela penetração de uma ponteira sob a carga de 10N, de acordo com a ASTM D2240-15. A resposta dessa penetração, 0 a 100 Shore A, é inversamente proporcional a penetração, ou seja, quanto maior a penetração menor é o valor da dureza Shore A.

As resinas comerciais flexíveis possuem dureza até 80 Shore A, que é o máximo classificado para “dureza média” (PAGAC; HAJNYS; MA; JANCAR *et al.*, 2021). Desta maneira, este teste foi escolhido, pois o corpo de prova feito em PCLMA (resina pura) possui pouca maciez perceptível quando tateado. A Figura 36 apresenta os resultados do ensaio de dureza Shore A dos corpos de prova curados de PCLMA e compósitos.

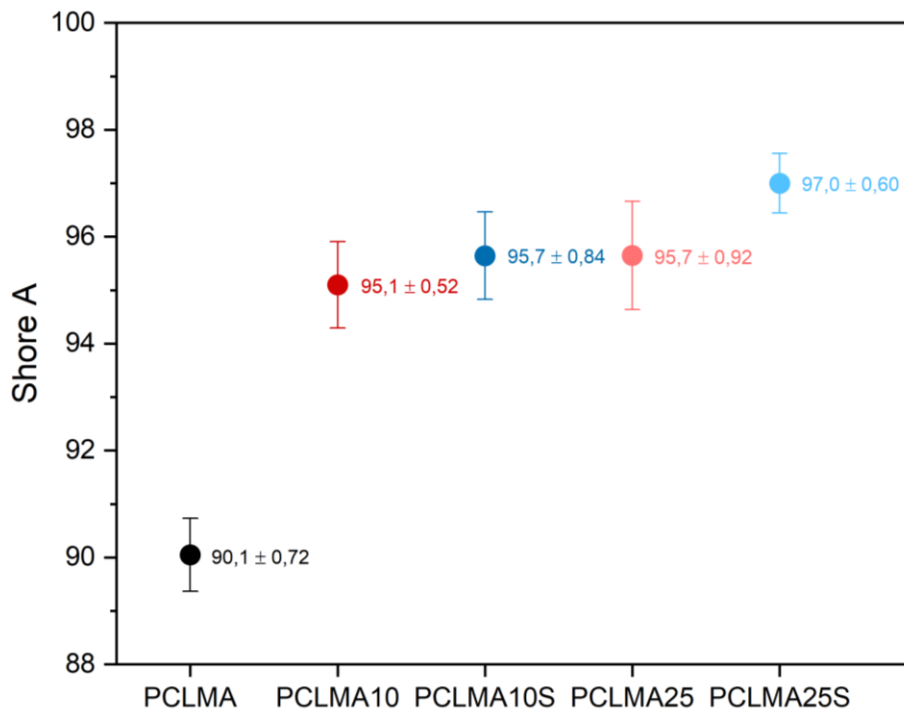


Figura 36 - Dureza Shore A para PCLMA e compósitos

A partir destes dados, infere-se que a adição de carga aumentou a dureza da matriz polimérica de PCLMA, inicialmente com dureza Shore A de $90,1 \pm 0,72$, se tornando $95,1 \pm 0,52$ e $95,7 \pm 0,84$ Shore A, para PCLMA10 e PCLMA10S, respectivamente. Ao passo que para PCLMA25 e PCLMA25S foi de $95,7 \pm 0,92$ e $97,0 \pm 0,60$ Shore A. A partir destes resultados, é possível identificar o aumento na resistência mecânica em relação a dureza nas amostras quando estas são incorporadas com carga. E, ainda, com APTES percebe-se aumento para ambas as amostras, evidenciando assim que a silanização aumentou a interação entre matriz e carga. A partir deste valores é possível identificar que as amostras frente a classificação Shore A são considerados materiais do tipo “duro” (80 a 100 Shore A), material adequado para peças que suportam deformação, flexão e compressão, como os tecidos ósseos (PAGAC; HAJNYS; MA; JANCAR *et al.*, 2021).

5.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura com Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV-EDS)

5.3.3.1. Morfologia dos corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para analisar a morfologia da carga de HAp e HAp-Si no interior da matriz de PCLMA, medir a área dos aglomerados encontrados, mapear e identificar quimicamente a presença de carga pela presença de carbono (C), oxigênio (O), cálcio (Ca) e fósforo (P). A Figura 37 mostra a presença de carga em diferentes aproximações por diferença de fase quando se observa a secção transversal das amostras de compósito.

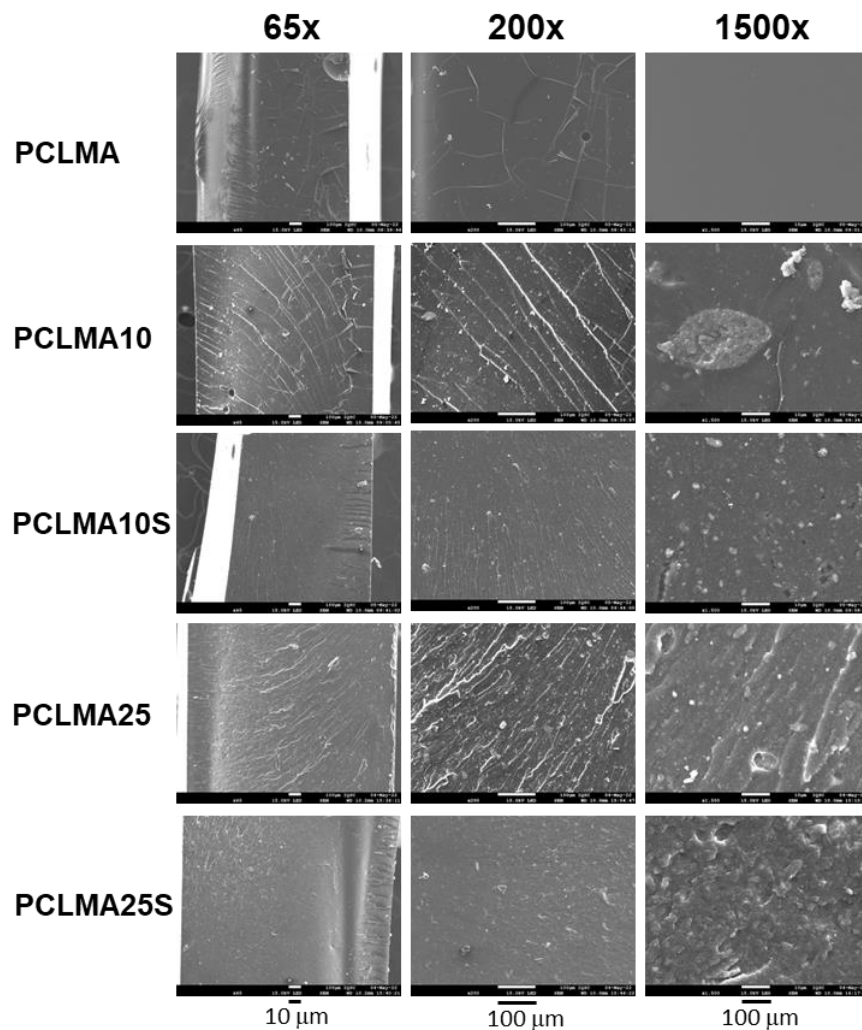


Figura 37 - MEV da secção transversal fraturada das amostras

Desta Figura 37, observa-se que houve formação de aglomerados de carga que coalesceram e que apresentam formas e tamanhos variados, gerando um material heterogêneo.

Crosby e Lee (2007) afirmam que a mistura de polímero com cargas apresenta grande complexidade de forma. A obtenção de compósitos homogêneos com boa dispersão e distribuição é de grande dificuldade. Ao adicionar excesso de carga, em geral, a distância média entre as partículas reduz, há maior probabilidade de choque entre estas e há a formação de agregados em escala micrométrica, perdendo propriedades características e aumentando suas dimensões (CROSBY; LEE, 2007).

Por um lado, na ótica biológica, a presença de aglomerados ao longo da superfície das amostras pode favorecer o ancoramento de células e dar início à diferenciação celular óssea. Por outro lado, do ponto de vista mecânico, estes aglomerados podem formar regiões frágeis que causam propagação de rachaduras e reduzem a resistência mecânica do material (LEE; ZHANG; EMRICK; CROSBY, 2006; PALHARES; DE MENEZES; KRONEMBERGER; BORCHIO *et al.*, 2021).

A Figura 38 apresenta a análise de EDS em aproximação de x6500 feitas pontualmente para confirmar que as cargas aglomeradas apresentadas se trata de HAp, pela presença de cálcio e fósforo em sua composição.

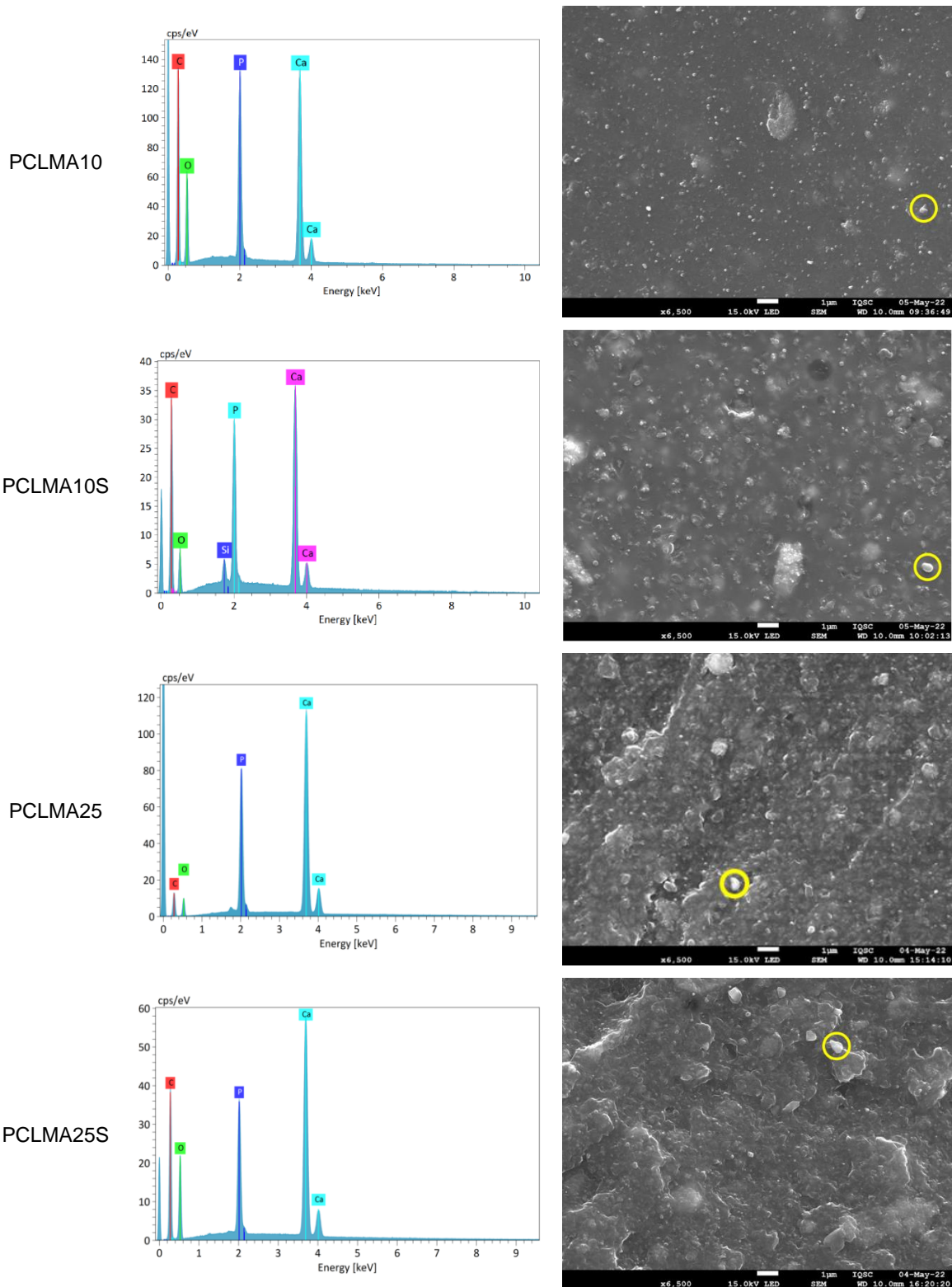


Figura 38 - Análise de EDX pontual das partículas presentes na seccao das amostras de corpos de prova fraturados de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

5.3.3.2. Dispersão e tamanho de partícula de aglomerados nos corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

A fim de se ter maior entendimento da dispersão e o tamanho de partícula dos aglomerados de HAp, a Figura 39 demonstra a micrografia de secção fraturada das amostras, previamente congeladas em nitrogênio e fraturadas, com mapeamento da composição por elemento (C, O, Ca e P). Desta forma, foi possível visualizar e confirmar a presença das partículas aglomeradas de HAp pela acusação da presença de cálcio (azul claro), fósforo (branco) e oxigênio (verde). A matriz polimérica por se tratar de hidrocarboneto preenche quase toda a área da amostra representadas pelas cores vermelha (carbono) e verde (oxigênio).

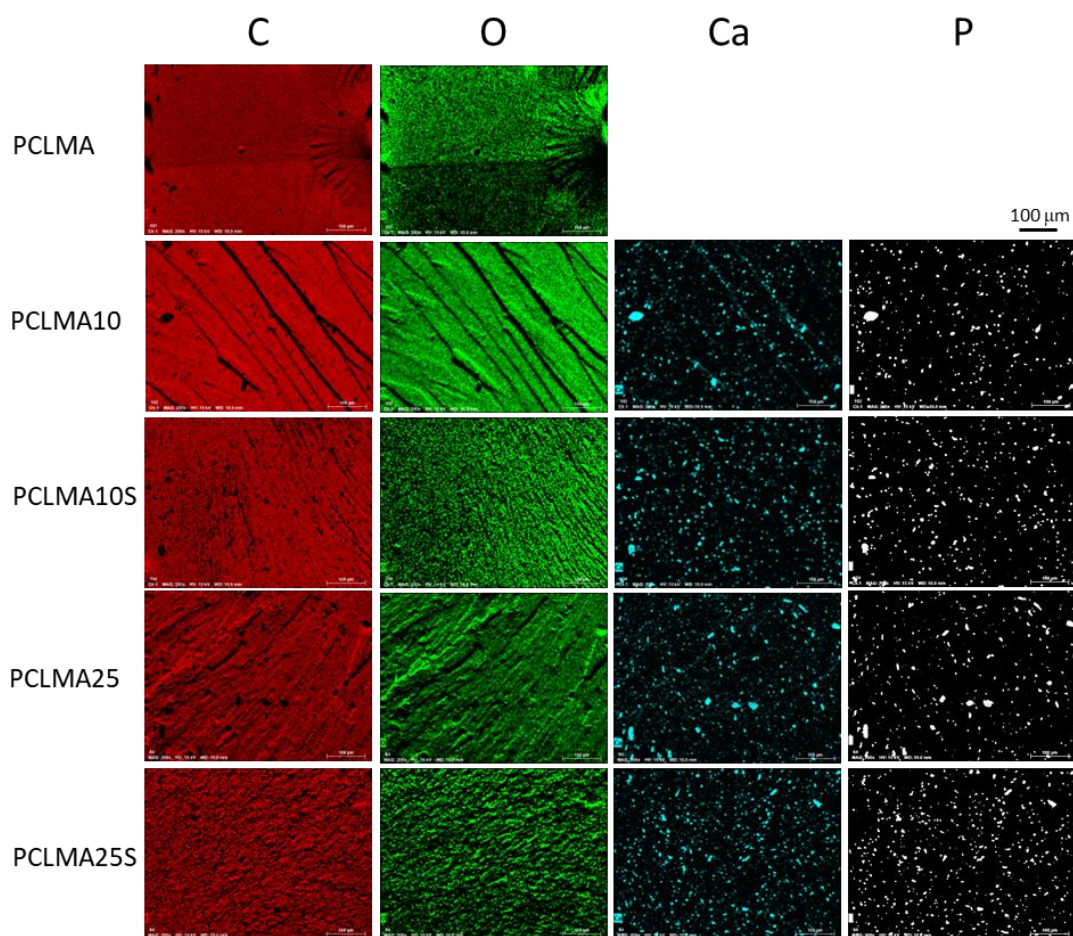


Figura 39 - Micrografia de seção fraturada das amostras com mapeamento por elemento (C, O, Ca e P)

A partir da Figura 39 pelas imagens de Ca, foi utilizado o software ImageJ 1.53k para tratamento das imagens e isolamento das partículas identificadas (Figura 40 a).

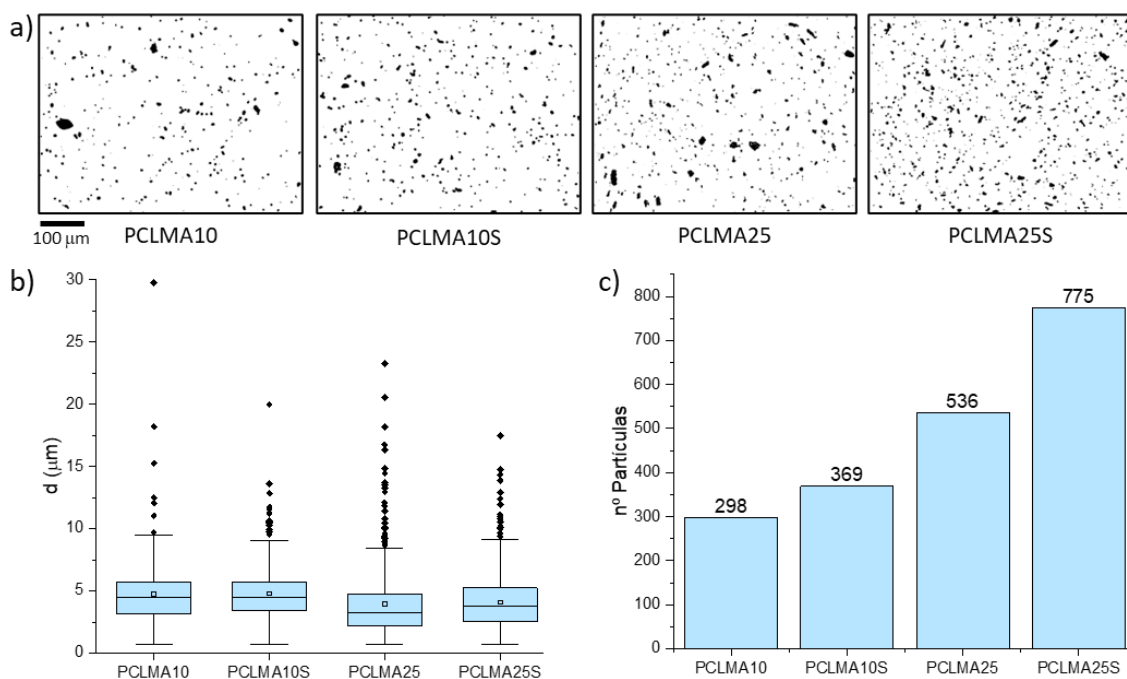


Figura 40 - Número de partículas e diâmetro de partículas

Assim sendo, a Figura 40 b apresenta o diagrama de caixa do diâmetro aproximado de cada partícula presente, quais sejam as médias na ordem do gráfico de $4,75 \pm 2,72$, $4,78 \pm 2,25$, $3,94 \pm 2,83$ e $4,08 \pm 2,28$ μm. Apesar da quantidade em massa de carga ser superior para as amostras com 25%, conclui-se que estatisticamente o diâmetro das partículas são iguais.

Já a Figura 40 c exibe a contagem de número de partículas identificadas. Pode-se perceber que a silanização da hidroxiapatita promoveu maior contagem no n° partículas presentes nas amostras, de 298 (PCLMA10) para 369 (PCLMA10S) e 536 (PCLMA25) para 775 (PCLMA25S). A presença do APTES, ou melhor, a presença do grupamento aminopropil permitiu que houvesse maior interação das partículas pela matriz polimérica proporcionando maior dispersão nas amostras (ATAK; BUYUK; HUYSAL; ISIK *et al.*, 2017).

5.4. Análise biológica em corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Ensaio de adesão celular e de indução de matriz extracelular foram realizados para avaliar a morfologia da célula de fibroblasto humano primário e verificar o potencial de indução que a superfície dos corpos de prova provoca nestas células. Desta forma, é possível identificar se o material possui biocompatibilidade, atoxicidade e potencial caráter bioativo.

5.4.1. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura do ensaio de adesão celular

As imagens de MEV da Figura 41 confirmam a adesão (destacado em verde) das células de fibroblasto humano primário na superfície nos corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita ou Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações.

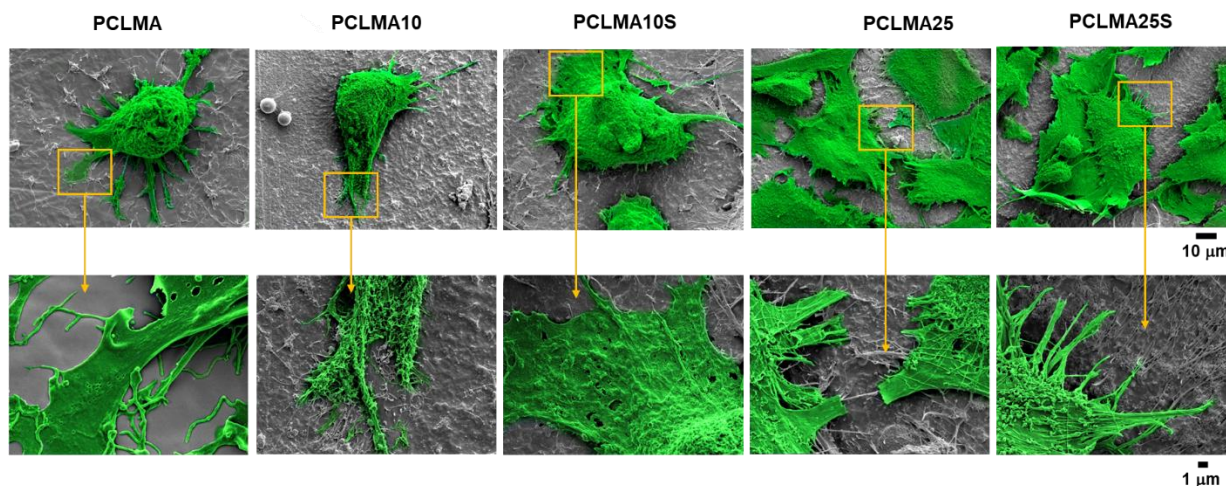


Figura 41 - Imagens de MEV de ensaio de adesão celular

Como mostrado pelas imagens da Figura 41, após 24 horas de adesão as células apresentam prolongamentos de matriz extracelular aderidos à interface superficial dos corpos de prova. Conforme o teor de HAp é incrementado, as células passam de morfologia esférica (menor contato; amostra PCLMA) para o formato *spindle* e espreado

no material (maior contato; amostras PCLMA25 e PCLMA25S). Desta forma, a adesão celular na superfície dos corpos de prova contendo carga de HAp ou HAp-Si, que promove maior interação com as células, apresentam morfologia totalmente aderente à superfície quando comparada com o corpo de prova de PCLMA (DASKALAKIS; HUANG; HASSAN; OMAR *et al.*, 2022; THIJSEN; CORNELIS; ALKAISSY; LOCS *et al.*, 2022).

5.4.2. Análise de morfologia celular por Microscopia Eletrônica de Varredura do ensaio de indução de matriz extracelular

Após sete dias de cultura, nas imagens de MEV da Figura 42 são observados extensões e prolongamentos de matriz extracelular. Isto evidencia que ocorreu indução de matriz extracelular em contato com as amostras, e que é visualmente bem definida para as amostras contendo tanto HAp quanto HAp-Si, que foi adicionada com o objetivo de incluir bioatividade às propriedades do material.

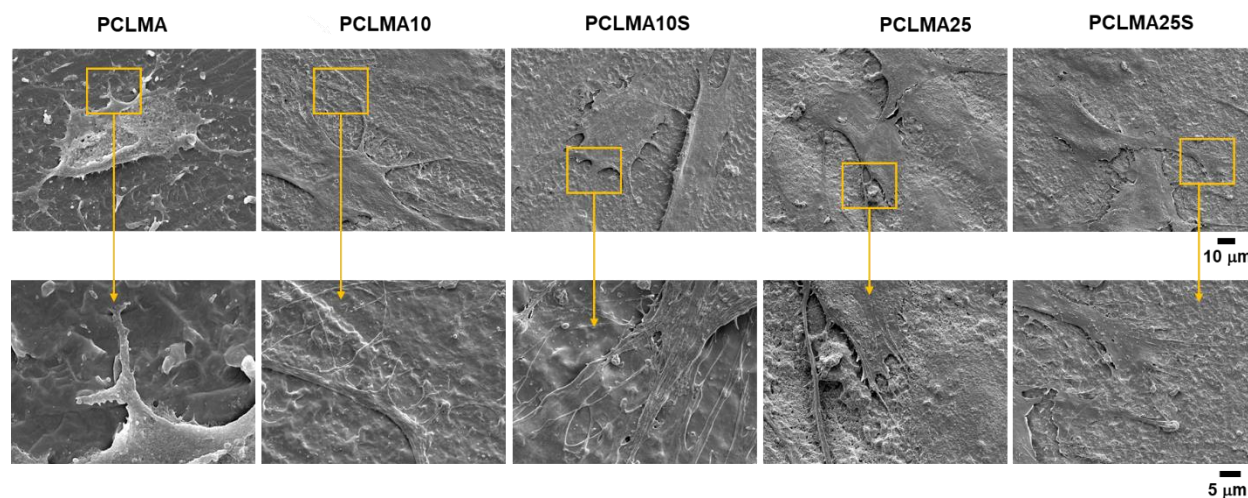


Figura 42 - Imagens de MEV do ensaio de indução de matriz extracelular

Diferente do observado na análise de tensiometria/molhabilidade realizada no item 5.3.1, em termos de composição, não houve evidências visuais das quais a silanização da hidroxiapatita atrapalhou ou reduziu a biocompatibilidade do material em contato com a cultura celular. Em destaque para a amostra PCLMA10S, que apresentou resultado de superfície hidrofóbica (ângulo de contato $>90^\circ$), as células apresentam morfologia semelhante às outras com carga não silanizada.

De acordo com Kuddannaya e colaboradores (2015) (KUDDANNAYA; BAO; ZHANG, 2015) em seus experimentos, a presença de grupos amina (-NH₂) do silano APTES, o mesmo usado para modificação da superfície de HAp desta tese, promoveu aproximação e afinidade com as proteínas da matriz extracelular das células por meio de interações iônicas. De tal modo, a adição de HAp tornou o material biocompatível e, ainda para mais, a adição de APTES à superfície desta carga influenciou beneficentemente a adesão pontual e a morfologia celular (ATAK; BUYUK; HUYSAL; ISIK *et al.*, 2017; MARYCZ; KORNICKA-GARBOWSKA; PATEJ; SOBIERAJSKA *et al.*, 2022).

5.5. Processo de Impressão 3D por fotopolimerização de corpos de prova para ensaios mecânicos e arcabouços porosos

Uma vez comprovado o benefício da adição de carga e que a silanização se torna positiva frente às propriedades esperadas, como na dispersão das partículas, biocompatibilidade, bioatividade e aumento da dureza. O desenvolvimento da resina segue para a identificação de formulação que apresente boa resistência mecânica e imprimibilidade.

5.5.1. Ensaio de Compressão de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

Materiais em sua totalidade comportam-se mecanicamente em função da sua composição, ou seja, ao variar o teor de carga a resposta aos esforços externos também mudam. Desta maneira, corpos de prova seguindo a norma ASTM D695-23 foram impressos em 3D (Figura 43) para ensaio de compressão nas diferentes resinas.

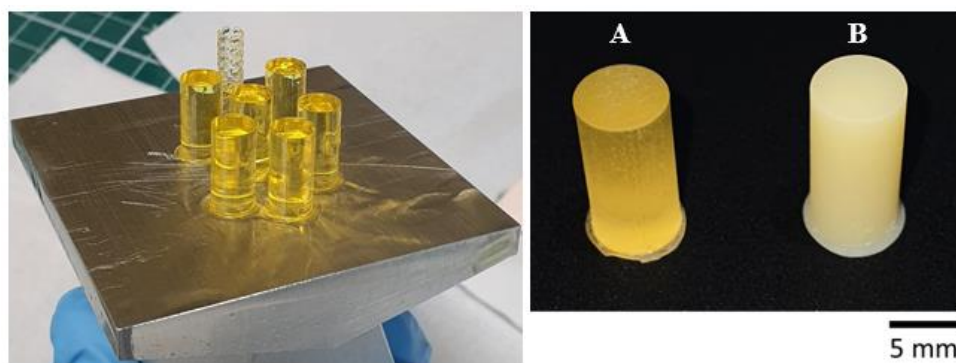


Figura 43 - Corpos de prova de compressão de a) PCLMA e; b) PCLMA10S

O ensaio mecânico de compressão é importante para medir a resposta do material quando submetido a forças de esmagamento até que ocorra a falha, utilizando uma máquina de teste universal. A força aplicada cria uma tensão uniaxial uniforme na secção transversal do corpo de prova, assim a tensão (σ) é calculada pela Equação 7 (LIGONAUER; SCHWENTENWEIN; GORSCHKE; STAMPFL *et al.*, 2016).

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad (\text{Equação 7})$$

Na qual,

σ = Tensão (MPa);

F = Força de esmagamento (N);

A_0 = área inicial (mm²).

Ao longo do ensaio a deformação (ε) também é medida e calculada pela Equação 8 (LAI; CHEN; HUANG; CHENG *et al.*, 2015).

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \cdot 100\% \quad (\text{Equação 8})$$

Na qual,

ε = Deformação (%);

ΔL = Comprimento final (mm);

L_0 = Comprimento inicial (mm).

Pelo ensaio de compressão de corpos de prova impressos em 3D (12,7 x 6,75 mm) obteve-se a curva (tensão x deformação) que é representada na Figura 44. Adicionalmente, formulações com 1 e 5% de HAp-Si como carga foram feitas para rastrear o comportamento mecânico do material quando esta carga é adicionada em proporções menores.

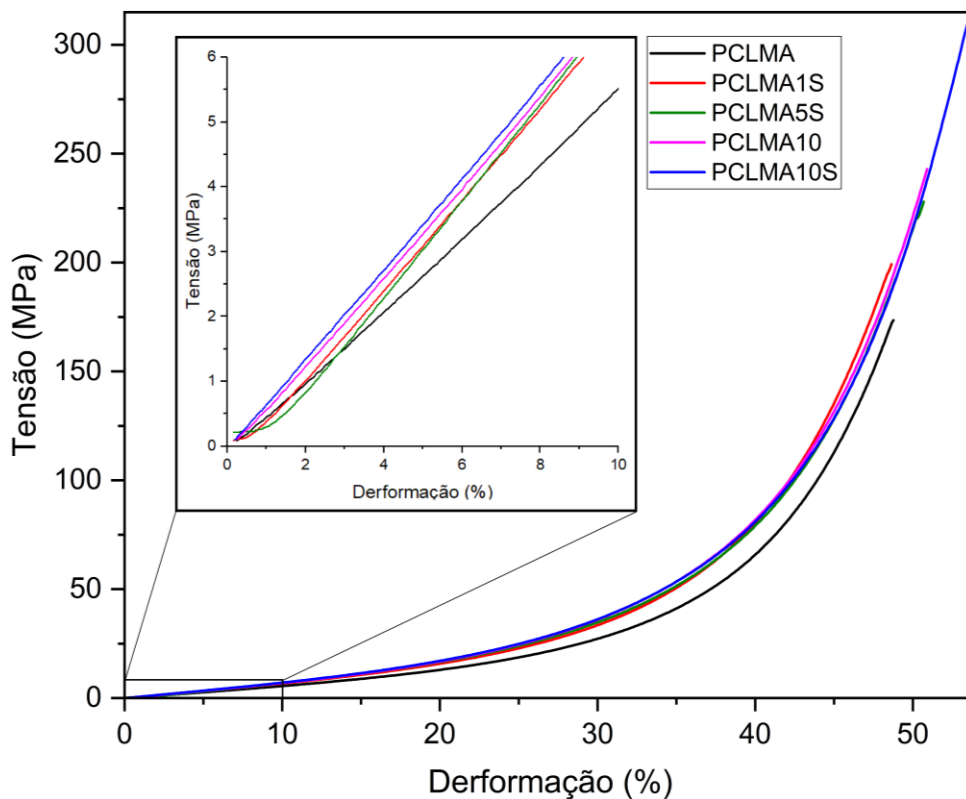


Figura 44 - Curvas do módulo de tensão x deformação das amostras impressas

Desta curva de compressão da Figura 44, é possível obter grandezas como o módulo de Young (ou de elasticidade), onde a deformação é proporcional à tensão no início do ensaio dentro do limite elástico do material. E, também, a deformação na ruptura que ocorre quando o material sofre tensão ao passo que vai se deformando até o rompimento.

Como resultado, a resistência à compressão é medida frente aos esforços suportados pelo corpo de prova. A média de tais grandezas dos corpos de prova de PCLMA e compósitos com HAp ou HAp-Si são apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 - Média do módulo de Young, do módulo de compressão e do deslocamento na ruptura

Amostra	Módulo de Young (MPa)	Resistencia à compressão (MPa)	Deformação na ruptura (%)
PCLMA	54,4 ± 1,1 A*	148,1 ± 21,7 a*	47,4 ± 1,2 X*
PCLMA1S	64,1 ± 1,6 B	202,0 ± 19,8 b	49,0 ± 0,9 XY
PCLMA10	66,5 ± 1,1 BC	222,8 ± 21,8 bc	50,3 ± 0,9 YZ
PCLMA5S	70,0 ± 1,0 CD	216,8 ± 10,9 bc	51,0 ± 0,3 YZ
PCLMA10S	71,1 ± 2,1 D	269,4 ± 35,0 c	52,7 ± 1,1 Z

* Médias representadas por letras distintas, indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

A partir dos resultados apresentados pela Tabela 2 as propriedades mecânicas dos corpos de prova analisados neste ensaio, aumentam significativamente com a adição de carga na matriz polimérica de PCLMA. Além disso, a deformação na ruptura inclusive auferiu acréscimo em seu valor absoluto.

Apontando a comparação entre PCLMA e PCLMA10, a incorporação da carga não silanizada (HAp) aumentou as médias de 54,4 ± 1,1 MPa para 66,5 ± 1,1 MPa no módulo de elasticidade, de 148,1 ± 21,7 MPa para 222,8 ± 21,8 MPa no módulo de compressão e de 47,4 ± 1,2 % para 50,3 ± 0,9 % no deslocamento na ruptura, ganhos de 22,2 %, 50,4 % e de 6,1%, respectivamente.

O mesmo efeito de aumento, entretanto potencializado, pode ser acarretado a partir silanização da HAp com APTES quando se observa os resultados obtidos para as amostras com carga com tal modificação. Os corpos de prova das resinas PCLMA1S e PCLMA5S obtiveram resultados comparáveis aos de PCLMA10 observando-se pelo eixo do grupamento que a análise ANOVA proveu para cada resposta. Já a resina PCLMA10S resultou em valores além dos outros, com ganhos de 6,9 %, 20,9% e 4,8% frente aos resultados de PCLMA10, para os módulos de Young, compressão e deformação na ruptura, concomitantemente. Nesta linha, comparando aos valores da resina pura (PCLMA) os ganhos respectivos para PCLMA10S foram de 30,7%, 81,9% e 11,2%.

O tecido ósseo é altamente influenciado por sua composição e estrutura, e esses fatores têm um impacto significativo em sua resistência mecânica, assim como ocorre

com qualquer outro material. Este é um tecido conjuntivo especial composto externamente por tecido compacto chamado de osso cortical e internamente por tecido esponjoso chamado de osso trabecular. Donnalaja e colaboradores (2020), explanam que o osso cortical possui módulo de Young de 15 a 20 GPa, resistência a compressão de 100 a 230 MPa. Já o osso trabecular possui módulo de Young de 0,1 a 2 GPa, resistência à compressão de 2 a 12 MPa. Comparando com os valores obtidos pelos corpos de prova informados pela Tabela 2, apenas os resultados de resistência à compressão obtiveram valores dentro da faixa de resistência mecânica do osso cortical.

Todavia, dentro da classificação dos tecidos conjuntivos especiais se encontra também o tecido cartilaginoso que, de acordo com Lai e colaboradores (2015), possui módulo de Young de aproximadamente 12 MPa e que está abaixo do obtido dos corpos de prova da Tabela 2. Desta maneira, a depender do tipo de tecido ósseo ou cartilaginoso, e, ainda do local e esforços ao qual é submetido, as resinas elaboradas nesta tese possuem propriedades mecânicas da mesma ordem de grandeza que se encontra em tecidos conjuntivos especiais.

5.5.2. Imprimibilidade de corpos de prova de PCLMA e compósitos com Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Silanizada em diferentes concentrações

O diâmetro dos objetos impressos em 3D é formado pelas coordenadas XY, já a altura por Z no plano cartesiano tridimensional. Sabendo disto, quando a fonte de luz emite no comprimento de onda específico para a cura da resina há a formação de cada camada e o objeto se forma paulatinamente. Entretanto, erros associados ao processo e/ou ao material são conferidos às dimensões finais. Pelos parâmetros de impressão usados neste trabalho, os resultados de imprimibilidade serão discutidos a seguir.

5.5.2.1. Avaliação da impressão 3D de corpos de prova para compressão

Resinas e insumos para impressão 3D devem, além de apenas curar na faixa de comprimento de onda emitido pela fonte de luz, ter definição necessária para corresponder às dimensões do modelo 3D planejado. Os corpos de prova para compressão com altura (H) de 12,70 mm e diâmetro (D) de 6,35 mm projetados foram

impressos e comparados. De tal sorte, obteve-se o erro médio (e) associado pelas equações 3 e 4 (LEE; PARK; JUNG; LEE *et al.*, 2020).

$$e_D = D - d \quad (\text{Eq. 3})$$

$$e_H = H - h \quad (\text{Eq. 4})$$

Na qual,

e_D = erro médio do diâmetro (mm);

e_H = erro médio da altura (mm);

D = diâmetro modelo 3D (mm);

H = altura modelo 3D (mm);

d = diâmetro corpo de prova impresso 3D (mm);

h = altura corpo de prova impresso 3D (mm).

Os resultados obtidos das medidas dos diâmetros e alturas medidas dos corpos de prova com seus respectivos erros associados são demonstrados pela Tabela 3.

Tabela 3 - Média do diâmetro e da altura dos corpos de prova de compressão e erro associado

Amostra	Diâmetro (mm)	e_D (mm)	Altura (mm)	e_H (mm)
PCLMA	6,180 ± 0,045 A*	-0,170 (-2,68 %)	12,678 ± 0,005 a*	-0,022 (-0,04 %)
PCLMA1S	6,212 ± 0,013 A	-0,138 (-2,17 %)	12,676 ± 0,013 a	-0,024 (-0,10 %)
PCLMA5S	6,306 ± 0,027 B	-0,044 (-0,69 %)	12,684 ± 0,014 a	-0,016 (-0,11 %)
PCLMA10S	6,384 ± 0,022 C	+0,034 (+0,54 %)	12,672 ± 0,005 a	-0,028 (-0,04 %)
PCLMA10	6,396 ± 0,009 C	+0,046 (+0,72 %)	12,678 ± 0,014 a	-0,022 (-0,11 %)

* Médias representadas por letras distintas, indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$)

Considerando os resultados das alturas das amostras, houve efetiva penetração de luz nas subseqüentes camadas de todos os corpos de prova, e ainda, a altura média

para cada amostra foi o suficiente para que sejam considerados do mesmo grupamento (“a”) pela análise ANOVA.

A altura projetada para os corpos de prova foi de 12,70 mm. Durante o processo de impressão, foi observado um erro médio negativo na altura dos corpos de prova, que foi menor do que 0,03 mm. Esse valor representa a discrepância entre a altura real e a altura pretendida de cada camada durante a impressão.

Esse pequeno erro na altura pode ser atribuído ao processo intrínseco de impressão 3D, especialmente nas camadas iniciais. Essas camadas iniciais, especialmente a primeira, precisam garantir uma adesão adequada à plataforma de impressão para construir a estrutura com sucesso. Para alcançar isso, essas camadas são impressas com um tempo de exposição maior e com um espaçamento ligeiramente menor do que a altura de camada estabelecida.

Quanto aos resultados obtidos dos diâmetros, os corpos de prova obtidos pela resina PCLMA obtiveram a maior diferença em relação ao projetado ($D = 6,35$ mm), com diâmetro médio de $6,180 \pm 0,045$ mm e e_D de $-0,170$ mm ($-2,68\%$), seguido pelo PCLMA1S com diâmetro médio de $6,212 \pm 0,013$ mm e e_D de $-0,138$ mm ($-2,17\%$). Ambos pertencentes ao grupamento “A” pela análise ANOVA.

Já as demais amostras obtiveram diâmetros médios próximos daquilo que se desejava ($6,35$ mm). Entretanto, para o PCLMA5S o valor médio do diâmetro foi de $6,306 \pm 0,027$ mm, e_D de $-0,044$ mm e pertencente ao grupamento “B”. As amostras PCLMA10S e PCLMA10 cabem ao grupamento “C” com $6,384 \pm 0,022$ mm e e_D de $+0,034$ mm ($+0,54\%$), e $6,396 \pm 0,009$ mm e e_D de $+0,046$ mm ($+0,72\%$), respectivamente.

A partir dos resultados vistos anteriormente, percebe-se que a fidelidade dimensional da impressão se diferencia em função da composição de cada amostra e o diâmetro aumenta conforme a adição de carga. Dentro dos parâmetros de impressão pré-estabelecidos nesta tese, a impressão foi mais precisa para as quantidades de carga entre 5 e 10%, independentemente se a carga foi silanizada.

Os desvios ocorridos, principalmente para os corpos de prova sem carga, são explicados pelo efeito natural de contração volumétrica que ocorre no processo de polimerização. Em outras palavras, há empacotamento das cadeias poliméricas e redução do volume livre. Além disso, o teor de carga tem correlação inversa com a

contração total do material após curado, pois ocupa o volume livre presente disponível. Outros fatores também influenciam na contração como o tempo de cura, alta intensidade da luz de cura, a composição da matriz e a concentração de fotoiniciador nas resinas (LEPRINCE; PALIN; HADIS; DEVAUX *et al.*, 2013; LIGON; LISKA; STAMPFL; GURR *et al.*, 2017; TUSI; HAMDOLLAHPOOR; SAVADROODBARI; FATHOLLAHI, 2022).

De acordo com Soares e colaboradores (2017), resinas usadas em odontologia possuem erro dimensional de 1 a 6%, dependendo das condições de processamento e composição da resina. Em comparação, as resinas da Tabela 3 apontaram erro dimensional de -2,68 a +0,72 %, estando próximas à variação relatada na literatura.

Baseado nos resultados de imprimibilidade destes corpos de prova, pode-se fazer analogia aos resultados de ensaio de compressão do item 5.5.1. Como a cinética de reação é influenciada pela composição do material, contrações maiores e taxas altas de polimerizações causam maior tensões pontuais e formação de micro trincas afetando a integridade do material. À vista disso, pode-se inferir que além do reforço gerado pela adição de carga de HAp e HAp-Si, a amostra PCLMA obteve menores valores a nível de resistência mecânica de compressão pelos efeitos causados pela contração e tensões locais (SOARES; FARIA-E-SILVA; RODRIGUES; VILELA *et al.*, 2017; TUSI; HAMDOLLAHPOOR; SAVADROODBARI; FATHOLLAHI, 2022).

No mais, a impressão 3D por fotopolimerização de corpos de prova de cilindros para ensaio mecânico utilizando as resinas desenvolvidas nesta tese se mostraram eficientes, seja pura ou com carga.

5.5.3. Impressão 3D de Arcabouços

5.5.3.1. Impressão de Arcabouço giroide modelo 1 ($\rho = 1,2$ mm): PCLMA x PCLMA10S

Após comprovar a possibilidade de imprimir estruturas como cilindros sólidos para corpos de prova de ensaio de compressão, o próximo passo foi testar as resinas desenvolvidas realizando a impressão de estruturas pequenas, mais detalhadas e definidas.

A aplicação final desta tese é a impressão de arcabouços, que são matrizes porosas direcionadas para a engenharia tecidual e estas possuem geometrias diversas

e muitas vezes complexas. A Figura 45 demonstra a impressão do arcabouço giroide modelo 1 ($\rho = 1,2 \text{ mm}$) impressos 3D em PCLMA e PCLMA10S.

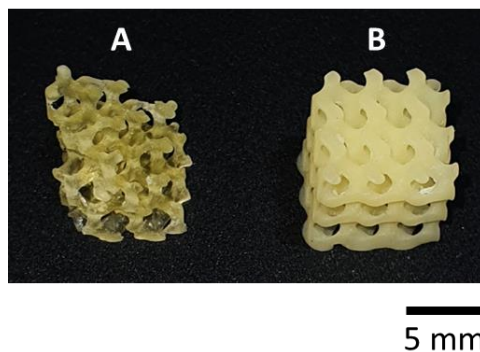


Figura 45 - Arcabouços giroide modelo 1 ($\rho = 1,2 \text{ mm}$) impressos 3D em a) PCLMA e; b) PCLMA10S.

Na Figura 45 observar-se que a peça (A) não apresenta a mesma qualidade da peça (B). Esses ensaios de impressão mostram que a impressão total do arcabouço só foi possível para a resina PCLMA10S. A possível explicação para a incapacidade de imprimir em PCLMA está relacionada com o processo de impressão 3D por fotopolimerização da técnica LCD “*bottom up*”, da qual foi usada nesta tese.

Este processo de impressão contém cuba para contenção da resina e em seu fundo possui filme translúcido de Fluoretileno Propileno (FEP) que permite a passagem da luz. A impressão se inicia pelo despejo da resina nesta cuba, posteriormente a plataforma de impressão se desloca até o fundo deixando espaço de no máximo para a altura de camada de impressão programada, que em seguida, luz é emitida para se formar a primeira camada aderida à plataforma. Após este primeiro passo, a plataforma deve se elevar para que a camada recém feita se desprenda do FEP, nova resina ocupe o espaço desocupado e a camada seguinte seja feita reiniciando o ciclo. A Figura 46 ilustra brevemente este processo.

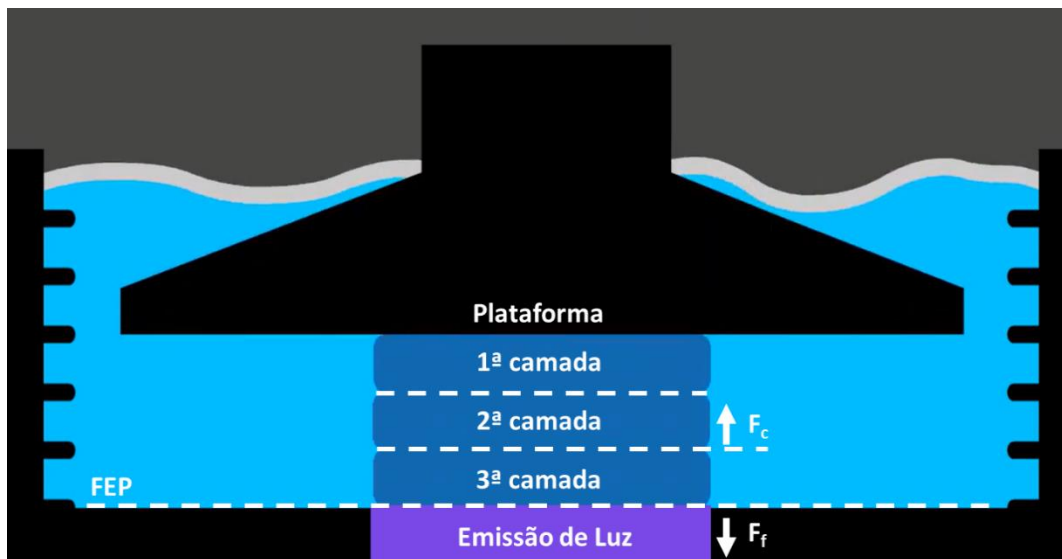


Figura 46 - Processo de impressão 3D por fotopolimerização LCD “bottom up”

Sabendo disso, quando ocorre a elevação da plataforma, a camada recém feita é submetida a uma disputa entre a força de adesão no FEP (F_f) em oposição à força de adesão entre a camada anterior (F_c). Quando $F_c > F_f$ a impressão prossegue normalmente até que o objeto final fique pronto, exemplo da Figura 45B onde a resina PCLMA10S pôde finalizar a impressão do arcabouço. Contudo, se $F_c < F_f$ a peça não é totalmente finalizada e a impressão falha por delaminação das camadas, ilustrado pela Figura 45A feita em resina PCLMA (MURPHY; LIM; WOODFIELD, 2022).

A disputa entre as forças F_c e F_f pode ser diretamente correlacionada pela resistência à tração de cada material e, por conseguinte, ao seu módulo de Young. Logo, repassando os ensaios mecânicos realizados anteriormente no item 5.5.1, pode-se afirmar que a força de adesão entre camadas de PCLMA10S é tão maior do que de PCLMA quanto ao módulo de Young destes materiais obtidos anteriormente, respectivamente, $71,1 \pm 2,1$ MPa e $54,4 \pm 1,1$ MPa. Ainda, para que a impressão completa de arcabouço com adesão efetiva entre camadas ocorra, nas condições de processo desta tese, o módulo de Young do material deve ser maior do que o obtido por PCLMA. Portanto, a adição de 10% de HAp-Si à resina de PCLMA, além de reforçar mecanicamente, possibilitou a impressão deste arcabouço projetado.

5.5.3.2. Impressão de Arcabouço giroide modelo 2 ($\rho = 0,6 \text{ mm}$): PCLMA10S x PCLMA10SOr

Na impressão 3D por fotopolimerização é esperado alta resolução na fabricação dos modelos. Um dos parâmetros que acercam a resolução é a profundidade que a fonte de luz alcança na resina fotopolimerizável para a cura do material. Logo, como este processo de impressão 3D se dá pela adição de material camada por camada, esta profundidade deve ser alta o suficiente para assegurar a adesão entre camadas e, ainda, não curar excessivamente as camadas seguintes e as suas redondezas indesejadamente.

Em geral, em resinas para impressão 3D por fotopolimerização são utilizadas tintas/corantes absorvedores de luz na mesma faixa de comprimento de onda da fonte de luz da impressora 3D. O absorvedor desempenha um papel crucial na regulação da profundidade de penetração da luz na resina. Sua concentração está relacionada com a capacidade de absorver luz durante o processo. Como exemplo, pode-se citar o Orange II (Figura 12) que é utilizado em aplicações como exames de Papanicolau na medicina e que também é conhecido por ter propriedades biocompatíveis quando em contato com células. De tal modo, foi adicionada à resina PCLMA10S tal absorvedor, formando a resina PCLMA10SOr.

A Figura 47 mostra a impressão de arcabouço giroide modelo 2 ($\rho = 0,6 \text{ mm}$).

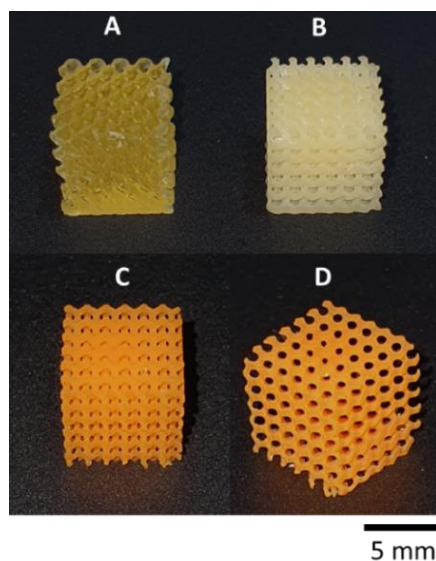


Figura 47 - Arcabouços giroide modelo 2 impressos 3D em a) PCLMA; b) PCLMA10S; e c/d) PCLMA10SOr

Verifica-se na Figura 47, que a impressão do arcabouço giroide modelo 2, nos materiais PCLMA (Figura 47A) e PCLMA10S (Figura 47B), não foi possível obter conectividade e abertura entre os poros. Os modelos impressos deveriam apresentar porosidade elevada (volume vazio), entretanto o que ocorreu foram objetos maciços e sólidos. Nestas amostras, a exposição subsequente de luz em cada camada, causou sobrecura de resina bloqueando os espaços vazios projetados. Isto ocorre pelo dispersão da luz que também se projeta parcialmente nas redondezas e cura de regiões indesejadas. Testes com tempos inferiores de exposição à luz foram realizados, entretanto a cura da resina foi insuficiente para que os arcabouços fossem gerados por inteiro.

Evidenciado no item 5.2.6 sobre o espectro de absorção de UV das resinas, o Orange II aumentou o sinal de absorção em toda a faixa emitida. Quando há a emissão de luz no processo de impressão 3D, a dispersão de luz projetada para as redondezas da resina foi parcialmente absorvida pelo Orange II. Atribuído a isto, a adição de absorvedor na resina, possibilita que haja maior detalhamento e espaços vazios no modelo de arcabouço giroide modelo 2 impresso (Figura 47 C e D).

A partir desta modificação, identifica-se que a impressão de arcabouço giroide modelo 2 em resina PCLMA10SOr possui espaços em vazio entre os poros e que estes não colapsaram entre si. Além do mais, este modelo possui estruturas mais finas que o anterior e, da mesma forma, a adesão entre camadas na presença de 10% de carga silanizada (módulo de Young $71,1 \pm 2,1$ MPa) permitiu a concepção da impressão do arcabouço sem que se rompesse ao longo do processo.

5.5.4. Microtomografia (microCT) do arcabouço giroide modelo 2 de PCLMA10SOr

A microtomografia (microCT) é uma ferramenta não destrutiva e essencial para avaliar a qualidade do arcabouço impresso, permitindo a medição da porosidade, a visualização dos poros e da dispersão de cargas na matriz polimérica em alta resolução e precisão. A análise da dispersão da carga, informa sobre a qualidade do compósito e a homogeneidade da carga na matriz. Já a porosidade, afeta diretamente a densidade,

permeabilidade de fluidos, capacidade de absorção e outras propriedades físicas do arcabouço.

5.5.4.1. Análise de dispersão da carga de HAp-Si por microCT

A Figura 48 apresenta a microCT realizada da impressão 3D de arcabouço giroide modelo 2 em PCLMA10SOr.

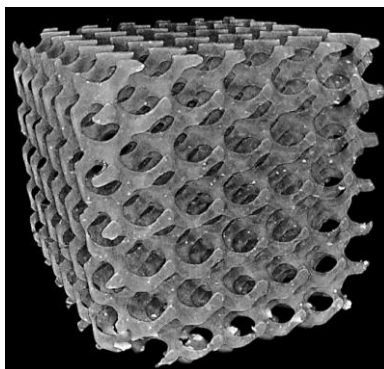


Figura 48 – MicroCT da impressão 3D de arcabouço giroide (modelo 2) em PCLMA10SOr

A partir de inspeção prévia da análise por microCT na Figura 48, observa-se que o processo de impressão 3D de arcabouço giroide modelo 2 em PCLMA10SOr foi realizado com alta reprodutibilidade com base no modelo 3D projetado. O arcabouço apresentou estrutura porosa altamente interconectada, que é um requisito essencial para auxiliar o crescimento, migração e proliferação celular (PORTA; TONDA-TURO; PIERANTOZZI; CIARDELLI *et al.*, 2020).

Em sequência, é possível identificar na imagem da Figura 48 áreas em branco na superfície do arcabouço. Baseado nisto, foi realiza tratamento de imagem por separação de fases em tons de cinza, onde os tons mais claros correspondem à elementos mais densos. De tal modo, a microCT possibilitou evidenciar os aglomerados de HAp-Si identificados na matriz polimérica para observar a dispersão em todo o arcabouço volumetricamente. Isto é apresentado na Figura 49.

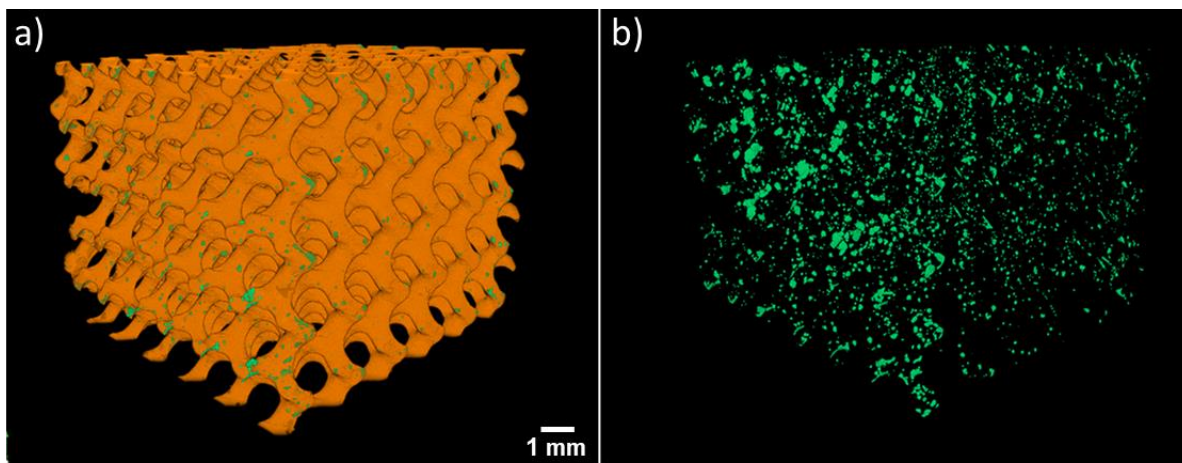


Figura 49 – MicroCT de arcaço giroide (modelo 2) impresso 3D a) em PCLMA10SO_r (laranja); b) destacando a dispersão de HAp-Si (verde)

A análise da dispersão de cargas na matriz polimérica é uma ferramenta importante para o desenvolvimento de materiais com melhor desempenho na aplicação em engenharia tecidual óssea. A partir da observação da Figura 49, pode-se constatar que a carga de HAp-Si (verde) adicionada à matriz polimérica apresentou uma dispersão homogênea ao longo da matriz (laranja), corroborando as conclusões previamente discutidas na seção 5.3.3.2. A dispersão uniforme de cargas na matriz polimérica pode levar ao aumento na resistência mecânica e outras propriedades importantes do material, assim explanado no ensaio de resistência mecânica relatado no item 5.5.1 (LEE; ZHANG; EMRICK; CROSBY, 2006; PORTA; TONDA-TURO; PIERANTOZZI; CIARDELLI *et al.*, 2020).

5.5.4.2. Análise dimensional por microCT

Afora as análises anteriormente relatadas, a microCT também permite a reconstrução do objeto físico em arquivo digital e, assim, analisar e medir por meio de software 3D a estrutura obtida. Na Figura 50, é possível visualizar o arquivo 3D gerado.

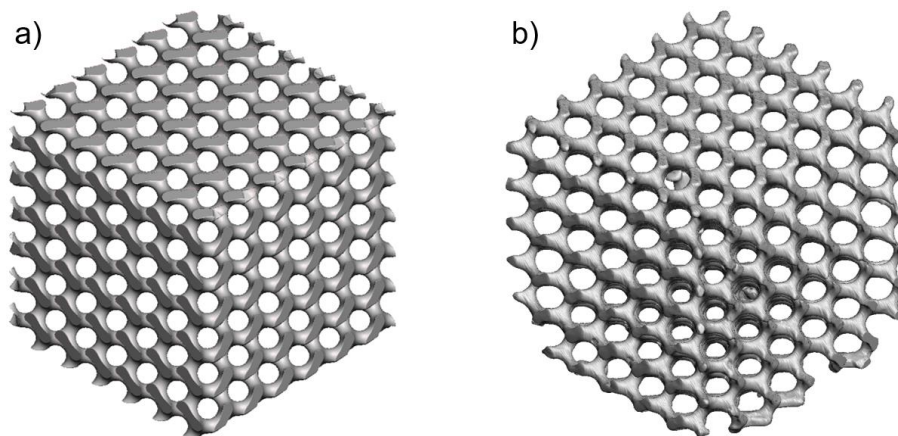


Figura 50 – a) Modelo CAD do arcabouço giroide modelo 2; b) Arquivo 3D obtido a partir de microCT impresso 3D em PCLMA10SOr

Pela Figura 50, pode-se observar que o modelo 3D gerado pelo microCT (Figura 50b) possui formato comparável ao modelo 3D planejado (Figura 50a). Este arquivo gerado pelo microCT permite que seja feita medições do diâmetro de poro (ρ) adquirido. Para o modelo projetado ρ foi definido para ter 0,6 mm, como resultado calculado pelo software ImageJ, obteve-se o diâmetro médio dos poros da vista lateral de $0,666 \pm 0,032$ mm e da vista superior de $0,653 \pm 0,033$ mm, diferença de aproximadamente 11% e 8,8%, respectivamente. Tão logo, verifica-se que a impressão 3D da resina PCLMA10SOr foi capaz de imprimir com boa definição e uniformidade o diâmetro dos poros em todas as direções.

Para melhor entendimento da imprimibilidade geral do arcabouço impresso 3D em PCLMA10SOr frente ao seu modelo 3D de referência, os arquivos foram comparados pela diferença dimensional entre suas estruturas. A seguir, a Figura 51 apresenta esta comparação.

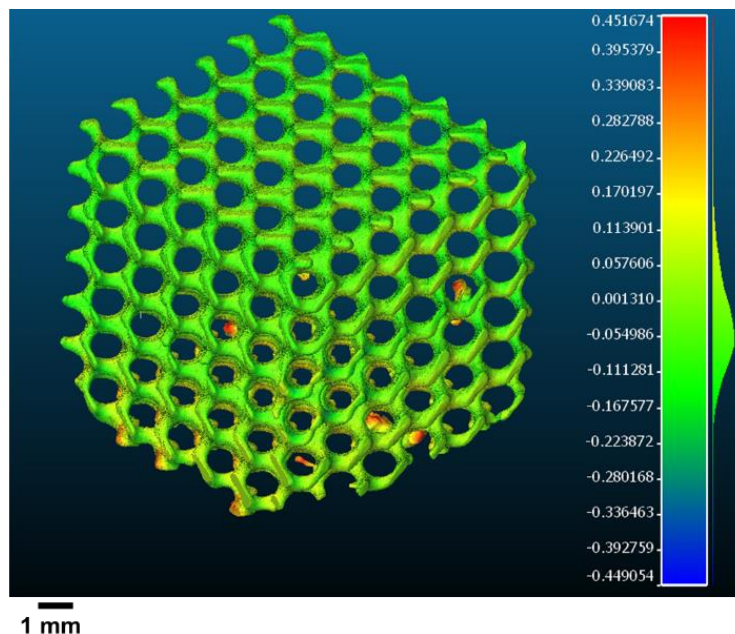


Figura 51 – Comparação da diferença dimensional entre modelo 3D de referência e a arcabouço impresso em PCLMA10SO

Identifica-se à direita da Figura 51 a barra de escala com faixa de cores e com suas respectivas diferenças dimensionais apontadas. Para exemplificação, a zona em vermelho (máximo de +0,452 mm) é a ilustração da diferença positiva entre o modelo 3D de referência e do arquivo impresso em 3D, ou melhor, dimensionalmente esta zona está maior daquele que fora projetada. O mesmo raciocínio pode ser seguido para as demais cores em relação a sua diferença dimensional associada.

Na Figura 51, é possível verificar nas zonas em vermelho, por sinal, que se tratam de pedaços que se deslocaram e que estão fora de posição, por conta de desvios de processo ou manuseio. Já a zona em azul (mínimo de -0,449 mm), seria a ausência de material na posição de análise da referência, que pode ser identificada na base do arcabouço. A justificativa para esta diferença pode ter sido causada por desvio de processo ou até quebra do material pela força utilizada na remoção do arcabouço da base da plataforma de impressão. Analisando o arcabouço exposto, verifica-se que a cor verde é a que mais se destaca visualmente, e, portanto, para avaliar a imprimibilidade geral do arcabouço os dados foram analisados e expostos a seguir na Figura 52.

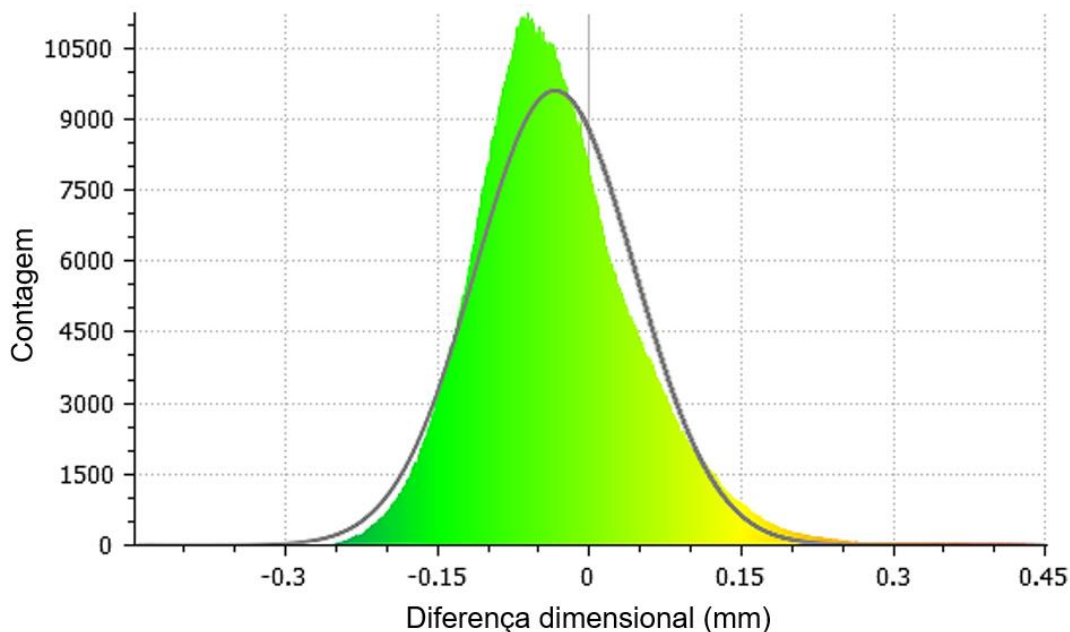


Figura 52 - Análise de dados de distribuição Gaussiana da diferença dimensional de arcabouço giroide modelo 2 impresso 3D em relação ao modelo 3D projetado.

A análise de dados pela Figura 52 a partir da diferença dimensional obtida do arcabouço giroide modelo 2 impresso 3D em comparação ao modelo 3D de referência possui distribuição Gaussiana, com média da diferença da distância de $-0,034$ mm e desvio padrão de $\pm 0,079$ mm. Desta maneira, essa distribuição informa que até ± 3 sigmas ($-0,271$ a $0,203$ mm) cerca de 99,3% dos dados estão contidos nesta curva. Além disso, a distribuição possui formato simétrico com a maioria dos dados dispersos em torno da média. Em outras palavras, desta distribuição, até ± 1 sigma ($-0,113$ a $+0,045$ mm) estão contidos por volta de 70,7% dos dados e que majoritariamente estes dados possuem valor negativo em relação à referência.

A diferença dimensional geral, em maioria negativa, corrobora ao valor de 78,3 % de porosidade (volume vazio) calculado neste arcabouço que é maior daquele projetado de 70%. Isto pode ser justificado pela presença de absorvedor de luz Orange II anteriormente citado no item 5.5.3.2. Ao passo que há a presença deste componente na resina para melhorar a definição na peça, também se espera que o excesso, pelo menor que seja, prejudique negativamente as dimensões da impressão 3D da peça desejada.

A partir destas análises anteriormente expostas, pode-se afirmar que a diferença dimensional ao longo do arca-bouço giroide modelo 2 impresso 3D na resina PCLMA10SO_r com boa resolução e imprimibilidade, conforme discutido anteriormente no item 5.5.2.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se inferir que:

A síntese de HAp e a subsequente reação de substituição dos grupos hidroxila pelo silano APTES foi realizada com sucesso, resultado do produto o HAp-Si. Isto pôde ser comprovado pelos resultados obtidos nas análises de FTIR, DRX, RMN pela presença de grupamentos importantes característicos de ambos os materiais. Ainda, foi possível estimar pelo TGA que a diferença de massa de cinzas entre HAp e HAp-Si foi de aproximadamente 4,7%, evidenciando a presença do teor de APTES.

Outro aspecto a ser destacado foi a eficácia na síntese e modificação de PCLdiol em PCLMA, ou PCL dimetacrilado. Espectros de FTIR e RMN, demonstraram que ocorreu a substituição dos grupos hidroxila pelo metacrilato, e ainda pôde-se estimar que o grau de substituição foi de 75%. Além de identificar a presença dos grupamentos substituídos houve, ao mesmo tempo, aumento na \overline{M}_n do oligômero de 668 para 826 g/mol e dispersidade (\mathcal{D}) de 1,47. Esta modificação foi importante pela inserção de grupos vinílicos que possibilitam a fotopolimerização na presença de fotoiniciador. Em posse destes materiais, foi viável misturá-las e produzir resinas com variadas formulações como material fotopolimerizável. Estas resinas, a princípio, foram curadas em formato cilíndrico em molde de silicone para realização de experimentos anteriores à impressão 3D.

As imagens obtidas por MEV dos corpos de prova revelam a presença de aglomerados dispersos no interior das amostras curadas e confirmam que, pelos sinais de cálcio e fósforo, se trata da HAp adicionada. A observação destas partículas aglomeradas comprova que o diâmetro médio das amostras testadas foi estatisticamente parecido, embora a contagem destas se torne maior conforme aumenta proporção de carga. Ainda, a silanização por APTES da HAp influenciou em maior interação com a matriz polimérica pela maior dispersão nas amostras.

Ensaio de tensiometria demonstrou que a inserção de HAp na matriz polimérica tornou a matriz polimérica de PCLMA, como um todo, menos hidrofóbico. E que, quando na superfície da carga havia a presença de APTES, este ainda permaneceu hidrofóbico para quantidade de 10% em massa. Contudo, a hidroxiapatita também adiciona propriedades de bioatividade à matriz polimérica e a presença do grupamento amina ($-NH_2$) no APTES proporciona interação iônica com a proteína de células. Assim, apesar do PCLMA10S ser conceitualmente hidrofóbico, as células de fibroblasto humano primário cultivadas, apresentaram morfologia saudável e espreada, sendo totalmente aderente à superfície apresentada no ensaio de adesão e em seguida efetivamente estimuladas para a produção de matriz extracelular sob a superfície dos corpos de prova. Do contrário, na amostra PCLMA, as células apresentaram formato esférico evitando contato com a superfície por conta de sua hidrofobicidade e a ausência de HAp, que atribuiria maior interação com as células.

O ensaio de dureza aponta que a adição de 25% em massa de HAp-Si torna o material mais duro e resistente, entretanto a viscosidade à temperatura ambiente não é suficiente para que seja possível realizar a impressão 3D nesta composição. Sob esta perspectiva, foram impressos corpos de prova para ensaio de compressão para formulações até 10% de carga, que por sinal, a amostra que obteve maior valores em propriedades mecânicas foi o PCLMA10S, com módulo de Young de $71,1 \pm 2,1$ MPa, resistência à compressão de $269,4 \pm 35,0$ MPa e deformação na ruptura de $52,7 \pm 1,1$ %. Este confronta o valor inferior e o menor obtido para a resina de PCLMA $54,4 \pm 1,1$ MPa, $148,1 \pm 21,7$ MPa, $47,4 \pm 1,2$ %, para a mesma sequência de resultados. Estes valores de propriedades mecânicas são comparáveis àqueles encontrados em tecidos conjuntivos especiais, para todas as resinas.

De modo a entender o processamento das resinas quando utilizadas como insumo para impressão 3D por fotopolimerização LCD, foi observado por espectroscopia no UV-Vis que a presença de carga causou dispersão de luz influenciando diretamente na conversão e na cinética de polimerização das resinas. Estas conversões foram demonstradas pela análise de fotocalorimetria do qual se obteve o resultado de GC%, quais sejam, 70,9% para PCLMA, 67,1% para PCLMA10S, 66,7% PCLMA10 e 55,4% PCLMA10SOr. Embora já esperado menor conversão para esta última resina contendo

absorvedor, foi a única da qual possibilitou a impressão 3D de estruturas que dependem de maior resolução, como o arcabouço giroide modelo 2 com poro (ρ) projetado de 0,6 mm.

Corpos de prova de PCLMA e compósitos impressos foram também medidos e comparados ao que foi projetado no software 3D de modelagem para verificação de imprimibilidade. Assim, o que se identificou é que a fidelidade dimensional na impressão 3D se tornou mais certa quando adicionadas as cargas com 5% (erro negativo) e 10% (erro positivo) de HAp independentemente se houve a silanização por APTES.

Compreendendo que a resina com melhor potencial para uso em aplicação final é a qual possui 10% de HAp-Si, a PCLMA10S foi selecionada como teste preliminar para comparar com a resina PCLMA para a impressão de arcabouço giroide com tamanho de poro projetado de 1,2 mm (modelo 1) e 0,6 mm (modelo 2). Primeiramente, apenas foi possível imprimir por completo arcabouço giroide modelo 1 com a resina PCLMA10S. Este fato pode ser justificado pelas suas propriedades mecânicas superiores, das quais suportam mais os esforços causados intrinsecamente pelo processo de impressão 3D utilizado. Em segundo momento, o arcabouço giroide modelo 2 obteve resultado semelhante para ambas as resinas, PCLMA e PCLMA10S. Os poros foram suficientemente pequenos para que a luz espalhada durante o processo de impressão 3D curasse as redondezas e os bloqueasse. À vista disso, foi adicionado o absorvedor de luz Orange II para que a resina se tornasse menos sensível à exposição de luz. Com esta alteração surgiu nova resina denominada PCLMA10SOr, que foi possível imprimir arcabouço giroide modelo 2 que possui poros mais estreitos.

As análises por microCT confirmaram boa resolução e qualidade da impressão 3D do arcabouço giroide modelo 2 em PCLMA10SOr. Evidenciou boa dispersão da carga de HAp-Si ao longo de todo o objeto volumetricamente. Os tamanhos de poros medidos foram de $0,666 \pm 0,032$ mm (vista lateral) e de $0,653 \pm 0,033$ mm (vista superior) próximos àqueles projetados de 0,6 mm digitalmente. O arcabouço impresso em 3D e escaneado por microCT não teve dimensional obstatante do modelo 3D e a porosidade calculada foi de 78,3%, maior dos 70% projetados por conta da presença de absorvedor de luz Orange II adicionado. Por fim, o desenvolvimento desta resina demonstrou que possui boa

imprimibilidade para a obtenção de arcabouços porosos para o uso em engenharia tecidual.

Esta tese apresenta resultados altamente promissores no desenvolvimento de resina para impressão 3D por fotopolimerização, abrindo caminho para o avanço de novos materiais na área de engenharia tecidual óssea. Os resultados obtidos neste estudo demonstraram com sucesso a impressão de arcabouços com poros bem definidos, apresentando uma porosidade uniforme e próxima ao modelo projetado. Além disso, a carga foi devidamente dispersa, e o material exibiu sinais de biocompatibilidade, atoxicidade e potencial bioatividade.

7. SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

- Modificação da matriz polimérica com outros grupos de ligação cruzada como o tiol-eno;
- Desenvolvimento de resinas com outras formulações e/ou cargas silanizadas;
- Desenvolvimento de resina para outras técnicas de impressão 3D, como às que utilizam seringa ou 2-fótons;
- Impressão de outros designs de arcabouços e estudo sobre as propriedades mecânicas;
- Adsorção de fármacos como antibióticos ou fatores de crescimento para aplicações específicas;
- Realização de testes *in vitro* mais aprofundados e com outras células;
- Impressão de arcabouços a partir de tomografia de falhas ósseas (paciente-específico) e posterior aplicação *in vivo*;
- Impressão de dispositivos médicos com *stents* coronários ou neuro indutores.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM F52900-21: Additive manufacturing — general principles — fundamentals and vocabulary. ASTM, 2021. Disponível em: <https://www.astm.org/f3177-21.html>. Acesso em: 19 ago. 2023.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D695-23: Standard test method for compressive properties of rigid plastics. ASTM, 2023. Disponível em: <https://www.astm.org/d0695-23.html>. Acesso em: 19 ago. 2023.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D2240-15: Standard test method for rubber property—durometer hardness. ASTM, 2021. Disponível em: <https://www.astm.org/d2240-15r21.html>. Acesso em: 19 ago. 2023.

ACRES, R. G.; ELLIS, A. V.; ALVINO, J.; LENEHAN, C. E.; KHODAKOV, D. A.; METHA, G. F.; ANDERSSON, G. G. Molecular structure of 3-aminopropyltriethoxysilane layers formed on silanol-terminated silicon surfaces. **Journal of Physical Chemistry C**, Washington, v.116, n. 10, p. 6289-6297, Mar 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jp212056s>. Acesso em: 20 maio 2023.

AKRAM, M.; AHMED, R.; SHAKIR, I.; IBRAHIM, W. A. W.; HUSSAIN, R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. **Journal of Materials Science**, New York, v. 49, n. 4, p. 1461-1475, Feb 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10853-013-7864-x>. Acesso em: 20 maio 2023.

ATAK, B. H.; BUYUK, B.; HUYSAL, M.; ISIK, S.; SENEL, M.; METZGER, W.; CETIN, G. Preparation and characterization of amine functional nano-hydroxyapatite/chitosan bionanocomposite for bone tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, Kidlington, v. 164, p. 200-213, May 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486171730111X>. Acesso em: 20 maio 2023.

BABILOTTE, J.; GUDURIC, V.; LE NIHOANNEN, D.; NAVEAU, A.; FRICAIN, J-C; CATROS, S. 3D printed polymer–mineral composite biomaterials for bone tissue engineering: Fabrication and characterization. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: applied biomaterials**, Hoboken, v. 107, n. 8, p. 2579-2595, 2019-11-01 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.34348>. Acesso em: 20 maio 2023.

BAO, Y.; PAUNOVIĆ, N.; LEROUX, J. C. Challenges and opportunities in 3d printing of biodegradable medical devices by emerging photopolymerization techniques.

Advanced Functional Materials, Weinheim, v. 32, n. 15, p. 2109864, 2022-04-01 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.202109864>. Acesso em: 20 maio 2023.

BAPTISTA, L. S.; KRONEMBERGER, G. S.; CORTES, I.; CHARELLI, L. E.; MATSUI, R. A. M.; PALHARES, T. N.; SOHIER, J.; ROSSI, A. M.; GRANJEIRO, J. M. Adult stem cells spheroids to optimize cell colonization in scaffolds for cartilage and bone tissue engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 19, n. 5, p. 14, May 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/5/1285>. Acesso em: 20 maio 2023.

BASYUNI, S.; FERRO, A.; SANTHANAM, V.; BIRCH, M.; MCCASKIE, A. Systematic scoping review of mandibular bone tissue engineering. **British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**, Cambridge, v. 58, n. 6, p. 632-642, Jul 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32247521/>. Acesso em: 20 maio 2023.

BIGGEMANN, J.; MÜLLER, P.; KÖLLNER, D.; SIMON, S.; HOFFMANN, P.; HEIK, P.; LEE, J. H.; FEY, T. Hierarchical surface texturing of hydroxyapatite ceramics: influence on the adhesive bonding strength of polymeric polycaprolactone. **Journal of Functional Biomaterials**, Erlangen, v. 11, n. 4, p. 73, 2020-10-03 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4983/11/4/73>. Acesso em: 20 maio 2023.

BLANQUER, S. B. G.; WERNER, M.; HANNULA, M.; SHARIFI, S.; LAJOINIE, G. P. R.; EGLIN, D.; HYTTINEN, J. POOT, A. A., GRIJPMA, D. W. Surface curvature in triply-periodic minimal surface architectures as a distinct design parameter in preparing advanced tissue engineering scaffolds. **Biofabrication**, Bristol, v. 9, n. 2, p. 12, Jun 2017. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5090/aa6553>. Acesso em: 20 maio 2023.

CAI, L.; WANG, S. F. Poly(epsilon-caprolactone) acrylates synthesized using a facile method for fabricating networks to achieve controllable physicochemical properties and tunable cell responses. **Polymer**, Tennessee, v. 51, n. 1, p. 164-177, Jan 2010.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386109010362?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

CASTRO AGUIRRE, E.; IÑIGUEZ FRANCO, F.; SAMSUDIN, H.; FANG, X; AURAS, R. Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life.

Advanced Drug Delivery Reviews, Lansing, v. 107, p. 333-366, 2016-12-01 2016. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X16300965?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHARTRAIN, N. A.; WILLIAMS, C. B.; WHITTINGTON, A. R. A review on fabricating tissue scaffolds using vat photopolymerization. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 74, p. 90-111, Jul 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706118302794?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHEN, H.; NOIRBENT, G.; SUN, K.; BRUNEL, D.; GIGMES, D.; SAVARY-MORLET, F.; ZHANG, Y.; LIU, S.; XIAO, P.; DUMUR, F.; LALEVÉE, J. Photoinitiators derived from natural product scaffolds: monochalcones in three-component photoinitiating systems and their applications in 3D printing. **Polymer Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 28, p. 4647-4659, 2020-01-01 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X16300965?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHIA, H. N.; WU, B. M. Recent advances in 3D printing of biomaterials. **Journal of Biological Engineering**, Los Angeles, v. 9, p. 14, Mar 2015. Disponível em: <https://jbioleng.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13036-015-0001-4>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHO, Y. H.; LEE, I. H.; CHO, D-W. Laser scanning path generation considering photopolymer solidification in micro-stereolithography. **Microsystem Technologies**, Cheongju, v. 11, n. 2-3, p. 158-167, 2005-02-01 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00542-004-0468-2>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHOI, J. W.; WICKER, R. B.; CHO, S. H.; HA, C. S.; LEE, S-H. Cure depth control for complex 3D microstructure fabrication in dynamic mask projection microstereolithography. **Rapid Prototyping Journal**, Bingley, v. 15, n. 1, p. 59-70, 2009-01-16 2009. Disponível em: <https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/13552540910925072/full/html>. Acesso em: 20 maio 2023.

CHUA, C. K.; LEONG, K. F.; TAN, K. H.; WIRIA, F. E.; CHEAH, C. M. Development of tissue scaffolds using selective laser sintering of polyvinyl alcohol/hydroxyapatite biocomposite for craniofacial and joint defects. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, Nanyang, v. 15, n. 10, p. 1113-1121, Oct 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:JMSM.0000046393.81449.a5>. Acesso em: 20 maio 2023.

CROSBY, A. J.; LEE, J. Y. Polymer nanocomposites: the "nano" effect on mechanical properties. **Polymer Reviews**, Amherst, v. 47, n. 2, p. 217-229, 2007. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15583720701271278>. Acesso em: 20 maio 2023.

CRUZ, T. R.; SILVA, E. A.; OLIVEIRA, D. P.; MARTINS, D. M.; GOIS, P. D. S.; MACHADO, A. E. H.; MAIA, P. I. S.; GOI, B. E.; LIMA-NETO, B. S.; CARVALHO-JR, V. P. Dual catalytic performance of arene-ruthenium amine complexes for norbornene ring-opening metathesis and methyl methacrylate atom-transfer radical polymerizations. **Applied Organometallic Chemistry**, Mumbai, v. 34, n. 5, 2020-05-01 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/aoc.5602>. Acesso em: 20 maio 2023.

DASKALAKIS, E.; HUANG, B. Y.; HASSAN, M. H.; OMAR, A. M.; VYAS, C.; ACAR, A. A.; FALLAH, A.; COOPER, G.; WEIGHTMAN, A.; BLUNN, G.; KOÇ, B.; BARTOLO, P. In vitro evaluation of pore size graded bone scaffolds with different material composition. **3D Printing and Additive Manufacturing**, Manchester, p. 13, 2022. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/3dp.2022.0138>. Acesso em: 21 ago. 2023.

DE OLIVEIRA LOMELINO, R.; CASTRO-SILVA, I. I.; LINHARES, A. B. R.; ALVES, G. G.; SANTOS, S. R. A.; GAMEIRO, V. S.; ROSSI, A. M.; GRANJEIRO, J. M. The association of human primary bone cells with biphasic calcium phosphate (β TCP/HA 70:30) granules increases bone repair. **Journal of Materials Science: materials in medicine**, Amsterdam, v. 23, n. 3, p. 781-788, 2012-03-01 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-011-4530-1>. Acesso em: 20 maio 2023.

DHARMADHIKARI, S.; LIU, L.; SHONTZ, K.; WIET, M.; WHITE, A.; GOINS, A.; AKULA, H.; JOHNSON, J.; REYNOLDS, S. D.; BREUER, C. K.; CHIANG, T. Deconstructing tissue engineered trachea: Assessing the role of synthetic scaffolds, segmental replacement and cell seeding on graft performance. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 102, p. 181-191, 2020-01-01 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706119307482?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

DICKENS, S. H.; STANSBURY, J. W.; CHOI, K. M.; FLOYD, C. J. E. Photopolymerization kinetics of methacrylate dental resins. **Macromolecules, Washington**, v. 36, n. 16, p. 6043-6053, Aug 2003. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma021675k>. Acesso em: 20 maio 2023.

DONNALOJA, F.; JACCHETTI, E.; SONCINI, M.; RAIMONDI, M. T. Natural and synthetic polymers for bone scaffolds optimization. **Polymers**, Basel, v. 12, n. 4, p. 905, 2020-04-14 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/4/905>. Acesso em: 20 maio 2023.

DWIVEDI, R.; KUMAR, S.; PANDEY, R.; MAHAJAN, A.; NANDANA, D.; KATTI, D. S.; MEHROTRA, D. Polycaprolactone as biomaterial for bone scaffolds: review of literature. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research**, Lucknow, v. 10, n. 1, p. 381-388, 2020-01-01 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212426819302544?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

ELLIOTT, J. E.; LOVELL, L. G.; BOWMAN, C. N. Primary cyclization in the polymerization of bis-GMA and TEGDMA: a modeling approach to understanding the cure of dental resins. **Dental Materials**, Kidlington, v. 17, n. 3, p. 221-229, May 2001. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0109564100000750>. Acesso em: 20 maio 2023.

ELOMAA, L.; KANG, Y. Q.; SEPPALA, J. V.; YANG, Y. Z. Biodegradable photocrosslinkable poly(depsipeptide-co-epsilon-caprolactone) for tissue engineering: synthesis, characterization, and in vitro evaluation. **Journal of Polymer Science Part A-polymer chemistry**, Hoboken, v. 52, n. 23, p. 3307-3315, Dec 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pola.27400>. Acesso em: 20 maio 2023.

ELOMAA, L.; KESHI, E.; SAUER, I. M.; WEINHART, M. Development of GelMA/PCL and dECM/PCL resins for 3D printing of acellular in vitro tissue scaffolds by stereolithography. **Materials Science and Engineering C-materials for biological applications**, Amsterdam, v. 112, p. 10, Jul 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092849311933677X>. Acesso em: 20 maio 2023.

ELOMAA, L.; PAN, C. C.; SHANJANI, Y.; MALKOVSKIY, A.; SEPPALA, J. V.; YANG, Y. Three-dimensional fabrication of cell-laden biodegradable poly(ethylene glycol-co-depsipeptide) hydrogels by visible light stereolithography. **Journal of Materials Chemistry B**, Cambridge, v. 3, n. 42, p. 8348-8358, 2015. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2015/TB/C5TB01468A>. Acesso em: 20 maio 2023.

ELOMAA, L.; TEIXEIRA, S.; HAKALA, R.; KORHONEN, H.; GRIJPMA, D. W.; SEPPALA, J. V. Preparation of poly(epsilon-caprolactone)-based tissue engineering scaffolds by stereolithography. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 7, n. 11, p. 3850-3856, Nov 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706111002856?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

EOSOLY, S.; BRABAZON, D.; LOHFELD, S.; LOONEY, L. Selective laser sintering of hydroxyapatite/poly-epsilon-caprolactone scaffolds. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 6, n. 7, p. 2511-2517, 2010-07-01 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706109002992?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

ESHRAHGI, S.; DAS, S. Micromechanical finite-element modeling and experimental characterization of the compressive mechanical properties of polycaprolactone-hydroxyapatite composite scaffolds prepared by selective laser sintering for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 8, n. 8, p. 3138-3143, Aug 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706112001699>. Acesso em: 20 maio 2023.

FLORENCE, J. M.; YODER, L. A., Display system architectures for digital micromirror device (DMD(TM)) based projectors. *In: Proc. SPIE Projection Displays II*. San Jose, v. 2650, p. 193-208, 1996. Disponível em: <https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/2650/0000/Display-system-architectures-for-digital-micromirror-device-DMD-based-projectors/10.1117/12.237004.full?SSO=1>. Acesso em: 20 maio 2023

GASPERINI, F. M.; CALASANS-MAIA, M. D.; RESENDE, R. F. B.; GRANJEIRO, J. M.; ROSSI, A. M.; LOPES, R. T.; LIMA, I. Bone-nanohydroxyapatite spheres interface evaluation by synchrotron radiation X-ray microfluorescence. **X-Ray Spectrometry**, Hoboken, v. 41, n. 1, p. 6-11, 2012-01-01 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706112001699>. Acesso em: 20 maio 2023. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/xrs.1376>. Acesso em: 20 maio 2023.

GASTALDI, M.; CARDANO, F.; ZANETTI, M.; VISCARDI, G.; BAROLO, C.; BORDIGA, S.; MAGDASSI, S.; FIN, A.; ROPPOLO, I. Functional dyes in polymeric 3D printing: applications and perspectives. **ACS Materials Letters**, Washington, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2021-01-04 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsmaterialslett.0c00455>. Acesso em: 20 maio 2023.

GEMINI-PIPERNI, S.; MILANI, R.; BERTAZZO, S.; PEPPELENBOSCH, M.; TAKAMORI, E. R.; GRANJEIRO, J. M.; FERREIRA, C. V.; TETI, A.; ZAMBUZZI, W. Kinome profiling of osteoblasts on hydroxyapatite opens new avenues on biomaterial cell signaling. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 111, n. 9, p. 1900-1905, 2014-09-01 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.25246>. Acesso em: 20 maio 2023.

GEMINI-PIPERNI, S.; TAKAMORI, E. R.; SARTORETTO, S. C.; PAIVA, K. B. S.; GRANJEIRO, J. M.; OLIVEIRA, R. C.; ZAMBUZZI, W. F. Cellular behavior as a dynamic field for exploring bone bioengineering: a closer look at cell-biomaterial interface. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 561, p. 88-98, Nov 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986114002215?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

GIANNITELLI, S. M.; ACCOTO, D.; TROMBETTA, M.; RAINER, A. Current trends in the design of scaffolds for computer-aided tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 10, n. 2, p. 580-594, Feb 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706113005412?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

GOODNER, M. D.; LEE, H. R.; BOWMAN, C. N. Method for determining the kinetic parameters in diffusion-controlled free-radical homopolymerizations. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 36, n. 4, p. 1247-1252, 1997-04-01 1997. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ie9605387>. Acesso em: 20 maio 2023.

GOONASEKERA, C. S.; JACK, K. S.; COOPER-WHITE, J. J.; GRONDAHL, L. Attachment of poly(acrylic acid) to 3-aminopropyltriethoxysilane hydroxyapatite. **Journal of Materials Chemistry B**, Cambridge, v. 1, n. 42, p. 5842-5852, 2013. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/TB/c3tb21110j>. Acesso em: 21 maio 2023.

GREEN, B. J.; WORTHINGTON, K. S.; THOMPSON, J. R.; BUNN, S. J.; RETHWISCH, M.; KAALBERG, E. E.; JIAO, C.; WILEY, L. A.; MULLINS, R. F.; STONE, E. M.; SOHN, E. H.; TUCKER, B. A.; GUYMON, C. A. Effect of molecular weight and functionality on acrylated poly(caprolactone) for stereolithography and biomedical applications. **Biomacromolecules**, Washington, v. 19, n. 9, p. 3682-3692, Sep 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.8b00784>. Acesso em: 20 maio 2023.

GUERRA, A. J.; LARA-PADILLA, H.; BECKER, M. L.; RODRIGUEZ, C. A.; DAVID, D. Photopolymerizable resins for 3D-printing solid-cured tissue engineered implants. **Current Drug Targets**, Sharjah, v. 20, n. 8, p. 823-838, 2019-05-10 2019. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/95760>. Acesso em: 20 maio 2023.

GUPTA K.; MEENA K. Artificial bone scaffolds and bone joints by additive manufacturing: a review. **Bioprinting**, v. 31, p. e00268, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2405886623000118?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jul. 2023.

JAMSHIDIAN, M.; TEHRANY, E. A.; IMRAN, M.; JACQUOT, M.; DESOBRY, S. Poly-lactic acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Hoboken, v. 9, n. 5, p. 552-571, Sep 2010. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2010.00126.x>. Acesso em: 20 maio 2023.

JIAO, Z.; LUO, B.; XIANG, S.; MA, H.; YU, Y.; YANG, W. 3D printing of HA / PCL composite tissue engineering scaffolds. **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, Beijing, v. 2, n. 5, p. 196-202 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2542504819300363>. Acesso em: 20 maio 2023.

JURAK, M.; WIACEK, A. E.; LADNIAK, A.; PRZYKAZA, K.; SZAFRAN, K. What affects the biocompatibility of polymers?. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 294, p. 25, Aug 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001868621000920>. Acesso em: 20 maio 2023.

KATAOKA T., K.; KOTA., S.; MOTOHIRO, T. Design of hydroxyapatite-based multifunctional nanoparticles for cell labelling and cell growth inhibition. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, Seoul, v. 2, n. 1, 2019-01-01 2019. Disponível em: https://www.hapres.com/htmls/RMF_1138_Detail.html. Acesso em: 21 maio 2023.

KIM, H. K.; JANG, S.-J.; CHO, Y.-S.; PARK, H.-H. Fabrication of nanostructured polycaprolactone (pcl) film using a thermal imprinting technique and assessment of antibacterial function for its application. **Polymers**, Basel, v. 14, n. 24, p. 5527, 2022-12-16 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/14/24/5527>. Acesso em: 20 maio 2023.

KIM, J. Y.; SEIDLER, P.; WAN, L. S.; FILL, C. Formation, structure, and reactivity of amino-terminated organic films on silicon substrates. **Journal of Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 329, n. 1, p. 114-119, Jan 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021979708011569?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

KIM, S. H.; HAN, O. H.; KIM, J. K.; LEE, K. H. Multinuclear solid-state nmr investigation of nanoporous silica prepared by sol-gel polymerization using sodium silicate. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, Weinheim, v. 32, n. 10, p. 3644-3649, Oct 2011. Disponível em: <http://koreascience.or.kr/article/JAKO201132833920680.page>. Acesso em: 20 maio 2023.

KORPELA, J.; KOKKARI, A.; KORHONEN, H.; MALIN, M.; NARHI, T.; SEPPALA, J. Biodegradable and bioactive porous scaffold structures prepared using fused deposition modeling. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: applied biomaterials**, Hoboken, v. 101B, n. 4, p. 610-619, May 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.32863>. Acesso em: 20 maio 2023.

KOTHAPALLI, C. R.; SHAW, M. T.; WEI, M. Biodegradable HA-PLA 3-D porous scaffolds: effect of nano-sized filler content on scaffold properties. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 1, n. 6, p. 653-662, Nov 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706105000978>. Acesso em: 20 maio 2023.

KRONEMBERGER, G. S.; DALMONICO, G. M. L.; ROSSI, A. L.; LEITE, P. E. C.; SARAIVA, A. M.; BEATRICI, A.; SILVA, K. R.; GRANJEIRO, J. M. Scaffold- and serum-free hypertrophic cartilage tissue engineering as an alternative approach for bone repair. **Artificial Organs**, Hoboken, v. 44, n. 7, p. E288-E299, Jul 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31950507/>. Acesso em: 20 maio 2023.

KUDDANNAYA, S.; BAO, J. N.; ZHANG, Y. L. Enhanced in vitro biocompatibility of chemically modified poly(dimethylsiloxane) surfaces for stable adhesion and long-term investigation of brain cerebral cortex cells. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 7, n. 45, p. 25529-25538, Nov 2015. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.5b09032>. Acesso em: 20 maio 2023.

LAFRATTA, C.; BALDACCHINI, T. Two-photon polymerization metrology: characterization methods of mechanisms and microstructures. **Micromachines**, Basel, v. 8, n. 4, p. 101, 2017-03-27 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-666X/8/4/101>. Acesso em: 20 maio 2023.

LAI, Y. S.; CHEN, W. C.; HUANG, C. H.; CHENG, C. K.; CHAN, K. K.; CHANG, T. K. The effect of graft strength on knee laxity and graft in-situ forces after posterior cruciate ligament reconstruction. **PLOS ONE**, San Francisco, v. 10, n. 5, p. e0127293, 2015-05-22 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0127293>. Acesso em: 20 maio 2023.

LANGDAHL, B.; FERRARI, S.; DEMPSTER, D. W. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, London, v. 8, n. 6, p. 225-235, 2016-12-01 2016. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1759720X16670154>. Acesso em: 20 maio 2023.

LE FER, G.; BECKER, M. L. 4D printing of resorbable complex shape-memory poly(propylene fumarate) star scaffolds. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 12, n. 20, p. 22444-22452, May 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.0c01444>. Acesso em: 20 maio 2023.

LEE, J. S.; PARK, H. S.; JUNG, H.; LEE, H.; HONG, H.; LEE, Y. J.; SUH, Y. J.; LEE, O. J.; KIM, S. H.; PARK, C. H. 3D-printable photocurable bioink for cartilage regeneration of tonsil-derived mesenchymal stem cells. **Additive Manufacturing**, Amsterdam, v. 33, p. 13, May 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214860419312369>. Acesso em: 20 maio 2023.

LEE, J. Y.; ZHANG, Q. L.; EMRICK, T.; CROSBY, A. J. Nanoparticle alignment and repulsion during failure of glassy polymer nanocomposites. **Macromolecules**, Washington, v. 39, n. 21, p. 7392-7396, Oct 2006. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma061210k>. Acesso em: 20 maio 2023.

LEPRINCE, J. G.; PALIN, W. M.; HADIS, M. A.; DEVAUX, J.; LELOUP, G. Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. **Dental Materials**, Kidlington, v. 29, n. 2, p. 139-156, Feb 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564112004629?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

LIGON, S. C.; LISKA, R.; STAMPFL, J.; GURR, M.; MULHAUPT, R. Polymers for 3D printing and customized additive manufacturing. **Chemical Reviews**, Washington, v. 117, n. 15, p. 10212-10290, Aug 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/PY/C5PY01631B>. Acesso em: 20 maio 2023.

LIGON-AUER, S. C.; SCHWENTENWEIN, M.; GORSCHKE, C.; STAMPFL, J.; LISKA, R. Toughening of photo-curable polymer networks: a review. **Polymer Chemistry**, Cambridge, v. 7, n. 2, p. 257-286, 2016. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/PY/C5PY01631B>. Acesso em: 20 maio 2023.

LIM, L. T.; AURAS, R.; RUBINO, M. Processing technologies for poly(lactic acid). **Progress in Polymer Science**, Kidlington, v. 33, n. 8, p. 820-852, Aug 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670008000373?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

LUCIA, A.; BACHER, M.; VAN HERWIJNEN, H. W. G.; ROSENAU, T. A. Direct silanization protocol for dialdehyde cellulose. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 10, p. 12, May 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/10/2458>. Acesso em: 20 maio 2023.

LUO, Y. Y.; DOLDER, C. K.; WALKER, J. M.; MISHRA, R.; DEAN, R.; BECKER, M. L. Synthesis and biological evaluation of well-defined poly(propylene fumarate) oligomers and their use in 3D printed scaffolds. **Biomacromolecules**, Washington, v. 17, n. 2, p. 690-697, Feb 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.6b00014>. Acesso em: 20 maio 2023.

MARYCZ, K.; KORNICKA-GARBOWSKA, K.; PATEJ, A.; SOBIERAJSKA, P.; KOTELA, A.; TURLEJ, E.; KEPSKA, M.; BIENKO, A.; WIGLUSZ, R. J. Aminopropyltriethoxysilane (APTES)-modified nanohydroxyapatite (nhap) incorporated with iron oxide (io) nanoparticles promotes early osteogenesis, reduces inflammation and inhibits osteoclast activity. **Materials**, Basel, v. 15, n. 6, p. 2095, 2022-03-11 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/6/2095>. Acesso em: 20 maio 2023.

MICHELOT, A.; SARDA, S.; AUDIN, C.; DEYDIER, E.; MANOURY, E.; POLI, R.; REY, C. Spectroscopic characterization of hydroxyapatite and nanocrystalline apatite with grafted aminopropyltriethoxysilane: nature of silane–surface interaction. **Journal of Materials Science**, New York, v. 50, n. 17, p. 5746-5757, 2015-09-01 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10853-015-9122-x>. Acesso em: 20 maio 2023.

MONDSCHHEIN, R. J.; KANITKAR, A.; WILLIAMS, C. B.; VERBRIDGE, S. S.; LONG, T. E. Polymer structure-property requirements for stereolithographic 3D printing of soft tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**, Blacksburg, v. 140, p. 170-188, Sep 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/6/2095>. Acesso em: 20 maio 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014296121730399X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

MOTLOUNG, M. P.; MOFOKENG, T. G.; RAY, S. S. Viscoelastic, thermal, and mechanical properties of melt-processed poly (ϵ -caprolactone) (PCL)/hydroxyapatite (HAP) composites. **Materials**, Basel, v. 15, n. 1, p. 104, 2021-12-24 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/1/104>. Acesso em: 20 maio 2023.

MURPHY, C. A.; LIM, K. S.; WOODFIELD, T. B. F. Next evolution in organ-scale biofabrication: bioresin design for rapid high-resolution vat polymerization. **Advanced Materials**, Weinheim, v. 34, n. 20, p. 2107759, 2022-05-01 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.202107759>. Acesso em: 20 maio 2023.

NAGHIEH, S.; RAVARI, M. R. K.; BADROSSAMAY, M.; FOROOZMEHR, E.; KADKHODAEI, M. Numerical investigation of the mechanical properties of the additive manufactured bone scaffolds fabricated by FDM: The effect of layer penetration and post-heating. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, Amsterdam, v. 59, p. 241-250, Jun 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616116000345?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

NARASARAJU, T. S. B.; PHEBE, D. E. Some physico-chemical aspects of hydroxylapatite. **Journal of Materials Science**, New York, v. 31, n. 1, p. 1-21, Jan 1996. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00355120>. Acesso em: 20 maio 2023.

NEJATI, E.; MIRZADEH, H.; ZANDI, M. Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite rods/poly(L-lactide acid) composite scaffolds for bone tissue engineering. **Composites Part A: applied science and manufacturing**, Orford, v. 39, n. 10, p. 1589-1596, Oct 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359835X0800153X?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

O'BRIEN, A. K.; BOWMAN, C. N. Impact of oxygen on photopolymerization kinetics and polymer structure. **Macromolecules**, Washington, v. 39, n. 7, p. 2501-2506, 2006-04-01 2006. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma051863l>. Acesso em: 20 maio 2023.

OJEDA-LOPEZ, R.; DOMINGUEZ-ORTIZ, A.; FELIPE, C.; CERVANTES-URIBE, A.; PÉREZ-HERMOSILLO, I. J.; ESPARZA-SCHULZ, J. M. Isosteric enthalpy behavior of CO₂ adsorption on micro-mesoporous materials: carbon microfibers (CMFs), SBA-15, and amine-functionalized SBA-15. **Journal of Composites Science**, Basel, v. 5, n. 4, p. 20, Apr 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2504-477X/5/4/102>. Acesso em: 20 maio 2023.

PAGAC, M.; HAJNYS, J.; MA, Q.-P.; JANCAR, L.; JANSKA, J.; STEFEK, P.; MESICEK. A review of vat photopolymerization technology: materials, applications, challenges, and future trends of 3d printing. **Polymers**, Basel, v. 13, n. 4, p. 598, 2021-02-17 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/13/4/598>. Acesso em: 22 maio 2023.

PALHARES, T. N.; DE MENEZES, V. R.; KRONEMBERGER, G. S.; BORCHIO, P. G. D.; BAPTISTA, L. S.; PEREIRA, L. C. B.; SILVA, E. O. Production and characterization of poly (lactic acid)/nanostructured carboapatite for 3D printing of bioactive scaffolds for bone tissue engineering. **3D Printing and Additive Manufacturing**, New Rochelle, v. 8, n. 4, p. 227-237, Ago 2021. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/3dp.2020.0211>. Acesso em: 20 maio 2023.

PAUNOVIC, N.; BAO, Y. Y.; COULTER, F. B.; MASANIA, K.; GEKS, A. K.; KLEIN, K.; RAFSANJANI, A.; CADALBERT, J.; KRONEN, P. W.; KLEGER, N.; KAROL, A.; LUO, Z.; RUBER, F.; BRAMBILLA, D.; VON RECHENBERG, B.; FRANZEN, D.; STUDART, A. R.; LEROUX, J-C. Digital light 3D printing of customized bioresorbable airway stents with elastomeric properties. **Science Advances**, Washington, v. 7, n. 6, p. 12, Fev 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33536222/>. Acesso em: 20 maio 2023.

SKALAK, R.; FOX, C. F; Tissue engineering : proceedings of a workshop. **Tissue engineering**, New York, Fev 1988. Disponível em: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1130000797201362560>. Acesso em: 18 jul. 2023.

PIVESSO, B. P.; CAVALHEIRO, E. T. G.; PALHARES, T. N.; NEUMANN, M. G.; SCHMITT, C. C. 3D printed dental protheses using TPO-initiated photopolymerization. Effect of the photoinitiator concentration and the use of a UV-blocker. **Polymer-Plastics Technology and Materials**, Philadelphia, v. 62, n. 4, p. 10, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/25740881.2022.2121217>. Acesso em: 20 maio 2023.

PORTA, M.; TONDA-TURO, C.; PIERANTOZZI, D.; CIARDELLI, G.; MANCUSO, E. Towards 3D multi-layer scaffolds for periodontal tissue engineering applications: addressing manufacturing and architectural challenges. **Polymers**, Basel, v. 12, n. 10, Oct 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4360/12/10/2233>. Acesso em: 20 maio 2023.

PRABHAKARAN, M. P.; VENUGOPAL, J.; RAMAKRISHNA, S. Electrospun nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 5, n. 8, p. 2884-2893, Oct 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1742706109002098?via%3Dihub>. Acesso em: 20 maio 2023.

QUAN, H. Y.; ZHANG, T.; XU, H.; LUO, S.; NIE, J.; ZHU, X. Photo-curing 3D printing technique and its challenges. **Bioactive Materials**, Beijing, v. 5, n. 1, p. 110-115, Mar 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2452199X19300714>. Acesso em: 20 maio 2023.

RAMESH, N.; MORATTI, S. C.; DIAS, G. J. Hydroxyapatite-polymer biocomposites for bone regeneration: A review of current trends. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: applied biomaterials**, Hoboken, v. 106, n. 5, p. 2046-2057, 2018-07-01 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.33950>. Acesso em: 20 maio 2023.

REZAEI, F. S.; KHORSHIDIAN, A.; BERAM, F. M.; DERAKHSHANI, A.; ESMAEILI, J.; BARATI, A. 3D printed chitosan/polycaprolactone scaffold for lung tissue engineering: hope to be useful for COVID-19 studies. **RSC Advances**, Cambridge, v. 11, n. 32, p. 19508-19520, Jun 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9033623/>. Acesso em: 20 maio 2023.

RISANGUD, N.; JIRABORVORNPOONGSA, N.; PASEE, S.; KAEWKONG, P.; KUNKIT, N.; SUNGKHAPHAN, P.; JANVIKUL, W. Poly(ester-co-glycidyl methacrylate) for digital light processing in biomedical applications. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 138, n. 42, p. 17, Sep 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/app.51391>. Acesso em: 20 maio 2023.

RONCA, A.; RONCA, S.; FORTE, G.; ZEPPELELLI, S.; GLORIA, A.; DE SANTIS, R.; AMBROSIO, L. Synthesis and characterization of divinyl-fumarate poly-epsilon-caprolactone for scaffolds with controlled architectures. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, Hoboken, v. 12, n. 1, p. E523-E531, Jan 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/term.2322>. Acesso em: 20 maio 2023.

ROSENZWEIG, D. H.; CARELLI, E.; STEFFEN, T.; JARZEM, P.; HAGLUND, L. 3D-printed ABS and PLA scaffolds for cartilage and nucleus pulposus tissue regeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 7, p. 15118-15135, Jul 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/7/15118>. Acesso em: 20 maio 2023.

RUNGROD, A.; KAPANYA, A.; PUNYODOM, W.; MOLLOY, R.; MEERAK, J.; SOMSUNAN, R. Synthesis of poly(ϵ -caprolactone) diacrylate for micelle-cross-linked sodium amps hydrogel for use as controlled drug delivery wound dressing. **Biomacromolecules**, Washington, v. 22, n. 9, p. 3839-3859, Sep 2021. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.1c00683>. Acesso em: 20 maio 2023.

RUPP, F.; GITTENS, R. A.; SCHEIDELER, L.; MARMUR, A.; BOYAN, B. D.; SCHWARTZ, Z.; GEIS-GERSTORFER, J. A review on the wettability of dental implant surfaces I: Theoretical and experimental aspects. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 10, n. 7, p. 2894-2906, 2014-07-01 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.1c00683?fig=abs1&ref=pdf>. Acesso em: 21 maio 2023.

RUSSO, L.; TARABALLI, F.; LUPO, C.; POVEDA, A.; JIMÉNEZ-BARBERO, J.; SANDRI, M.; TAMPIERI, A.; NICOTRA, F.; CIPOLLA, L. Carbonate hydroxyapatite functionalization: a comparative study towards (bio)molecules fixation. *Interface Focus*, London, v. 4, n. 1, p. 7, Feb 2014. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsfs.2013.0040>. Acesso em: 21 maio 2023.

SALIM, S. A.; LOUTFY, S. A.; EL-FAKHARANY, E. M.; TAHA, T. H.; HUSSIEN, Y.; KAMOUN, E. A. Influence of chitosan and hydroxyapatite incorporation on properties of electrospun PVA/HA nanofibrous mats for bone tissue regeneration: Nanofibers optimization and in-vitro assessment. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 62, p. 10, Apr 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224721000976>. Acesso em: 21 maio 2023.

SANTONI, S.; GUGLIANDOLO, S. G.; SPONCHIONI, M.; MOSCATELLI, D.; COLOSIMO, B. M. 3D bioprinting: current status and trends—a guide to the literature and industrial practice. **Bio-Design and Manufacturing**, Heidelberg, v. 5, n. 1, p. 14-42, 2022-01-01 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42242-021-00165-0>. Acesso em: 21 maio 2023.

SHE, Y. L.; FAN, Z. W.; WANG, L.; LI, Y. Z.; SUN, W.; TANG, H.; ZHANG, L.; WU, L.; ZHENG, H.; CHEN, C. 3D printed biomimetic PCL scaffold as framework interspersed with collagen for long segment tracheal replacement. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, Lausanne, v. 9, p. 14, Jan 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33553186/>. Acesso em: 21 maio 2023.

SHUAI, C. J.; MAO, Z. Z.; LU, H. B.; NIE, Y.; HU, H.; PENG, S. Fabrication of porous polyvinyl alcohol scaffold for bone tissue engineering via selective laser sintering. **Biofabrication**, Bristol, v. 5, n. 1, p. 8, Mar 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23385303/>. Acesso em: 21 maio 2023.

SINGH, R.; BATHAEI, M. J.; ISTIF, E.; BEKER, L. A review of bioresorbable implantable medical devices: materials, fabrication, and implementation. **Advanced Healthcare Materials**, Hoboken, v. 9, n. 18, p. 2000790, 2020-09-01 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32790033/>. Acesso em: 21 maio 2023.

SLIMANI, N.; DAL POGGETTO, G.; LAURIENZO, P.; KSOURI, D.; KHIREDDINE, H. Chemical bonding of polycaprolactone on the surface of hydroxyapatite via silanization and ring opening polymerization. **Nova Biotechnologica et Chimica**, Trnava, v. 19, n. 2, p. 154-164, 2020-12-01 2020. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/a9a4/4821b953ef7db998bd62da0142035a0a1099.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2023.

SOARES, C. J.; FARIA E SILVA, A. L.; RODRIGUES, M. D. P.; VILELA, A. B. F.; PFEIFER, C. S.; TANTBIROJN, D.; VERSLUIS, A. Polymerization shrinkage stress of composite resins and resin cements – What do we need to know?. **Brazilian Oral Research**, São Paulo, v. 31, n. 1, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bor/a/vTYSY4F6WXWV5rBhJKWsQQR/?lang=en>. Acesso em: 21 maio 2023.

SONG, S. Y.; PARK, M. S.; LEE, D.; LEE, J. W.; YUN, J. S. Optimization and characterization of high-viscosity ZrO₂ ceramic nanocomposite resins for supportless stereolithography. **Materials & Design**, Kidlington, v. 180, p. 9, Oct 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127519303983?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

SUDARMADJI, N.; TAN, J. Y.; LEONG, K. F.; CHUA, C. K.; LOH, Y. T. Investigation of the mechanical properties and porosity relationships in selective laser-sintered polyhedral for functionally graded scaffolds. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 7, n. 2, p. 530-537, Feb 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706110004344?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

SUN, F.; ZHOU, H.; LEE, J. Various preparation methods of highly porous hydroxyapatite/polymer nanoscale biocomposites for bone regeneration. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 7, n. 11, p. 3813-3828, Nov 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174270611003011?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

SUNDELACRUZ, S.; KAPLAN, D. L. Stem cell- and scaffold-based tissue engineering approaches to osteochondral regenerative medicine. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, London, v. 20, n. 6, p. 646-655, Aug 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S108495210900069X?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

THIJSSSEN, Q.; CORNELIS, K.; ALKAISSY, R.; LOCS, J.; VAN DAMME, L.; SCHAUBROECK, D.; WILLAERT, R.; SNEELLING, S.; MOUTHUY, P-A.; VAN VLIERBERGHE, S. Tough photo-cross-linked pcl-hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. **Biomacromolecules**, Washington, v. 23, n. 3, p. 1366-1375, Feb 2022. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.1c01584>. Acesso em: 21 maio 2023.

TIAN, G.; ZHU, G.; REN, T.; LIU, Y.; WEI, K.; LIU, Y. X. The effects of PCL diol molecular weight on properties of shape memory poly(ϵ -caprolactone) networks. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 136, n. 6, p. 47055, 2019-02-10 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.47055>. Acesso em: 21 maio 2023.

TIAN, G. M.; ZHU, G. M.; XU, S. G.; REN, T. N. A novel shape memory poly(epsilon-caprolactone)/hydroxyapatite nanoparticle networks for potential biomedical applications. **Journal of Solid State Chemistry**, San Diego, v. 272, p. 78-86, Apr 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022459619300428?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

TRIPATHI, S.; MANDAL, S. S.; BAURI, S.; MAITI, P. 3D bioprinting and its innovative approach for biomedical applications. **MedComm**, Hoboken, v. 4, n. 1, 2023-02-01 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mco2.194>. Acesso em: 21 maio 2023.

TUMBLESTON, J. R.; SHIRVANYANTS, D.; ERMOSHKIN, N.; JANUSZIEWICZ, R.; JOHNSON, A. R.; KELLY, D.; CHEN, K.; PINSCHMIDT, R.; ROLLAND, J. P.; ERMOSHKIN, A.; SAMULSKI, E. T.; DESIMORE, J. M. Continuous liquid interface production of 3D objects. **Science**, Washington, v. 347, n. 6228, p. 1349-1352, Mar 2015. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaa2397>. Acesso em: 21 maio 2023.

TUSI, S. K.; HAMDOLLAHPOOR, H.; SAVADROODBARI, M. M.; FATHOLLAHI, M. S. Comparison of polymerization shrinkage of a new bulk-fill flowable composite with other composites: An in vitro study. **Clinical and Experimental Dental Research**, Hoboken, v. 8, n. 6, p. 1605-1613, Dec 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36062844/>. Acesso em: 21 maio 2023.

TYTGAT, L.; MARKOVIC, M.; QAZI, T. H.; VAGENENDE, M.; BRAY, F.; MARTINS, J. C.; ROLANDO, C.; THIENPONT, H.; OTTEVAERE, H.; OVSIANIKOV, A.; DUBRUEL, P.; VAN VLIERBERGHE, S. Photo-crosslinkable recombinant collagen mimics for tissue engineering applications. **Journal of Materials Chemistry B**, Cambridge, v. 7, n. 19, p. 3100-3108, May 2019. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/TB/C8TB03308K>. Acesso em: 21 maio 2023.

VAN BOCHOVE, B.; HANNINK, G.; BUMA, P.; GRIJPMA, D. W. Preparation of designed poly(trimethylene carbonate) meniscus implants by stereolithography: challenges in stereolithography. **Macromolecular Bioscience**, Weinheim, v. 16, n. 12, p. 1853-1863, Dec 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mabi.201600290>. Acesso em: 21 maio 2023.

VAN HOORICK, J.; GRUBER, P.; MARKOVIC, M.; ROLLOT, M.; GRAULUS, G-J.; VAGENENDE, M.; TROMAYER, M.; VAN ERPS, J.; THIENPONT, H.; MARTINS J. C.; BAUDIS, S.; OVSIANIKOV, A.; DUBRUEL, P.; VAN VLIERBERGHE, S. highly reactive thiol-norbornene photo-click hydrogels: toward improved processability. **Macromolecular Rapid Communications**, Weinheim, v. 39, n. 14, p. 7, Jul 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/marc.201800181>. Acesso em: 21 maio 2023.

VAN HOORICK, J.; TYTGAT, L.; DOBOS, A.; OTTEVAERE, H.; VAN ERPS, J.; THIENPONT, H.; OVSIANIKOV, A.; DUBRUEL, P.; VAN VLIERBERGHE, S. (Photo-)crosslinkable gelatin derivatives for biofabrication applications. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 97, p. 46-73, Oct 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31344513/>. Acesso em: 21 maio 2023.

VOET, V. S. D.; GUIT, J.; LOOS, K. Sustainable photopolymers in 3D printing: a review on biobased, biodegradable, and recyclable alternatives. **Macromolecular Rapid Communications**, Weinheim, v. 42, n. 3, p. 2000475, 2021-02-01 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/marc.202000475>. Acesso em: 21 maio 2023.

WALLACE, J.; WANG, M. O.; THOMPSON, P.; BUSSO, M.; BELLE, V.; MAMMOSER, N.; KIM, K.; FISHER, J. P.; SIBLANI, A.; XU, Y. Validating continuous digital light processing (cDLP) additive manufacturing accuracy and tissue engineering utility of a dye-initiator package. **Biofabrication**, Bristol, v. 6, n. 1, p. 14, Mar 2014. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5082/6/1/015003>. Acesso em: 21 maio 2023.

WANG, F.; CHONG, Y.; WANG, F.; HE, C. Photopolymer resins for luminescent three-dimensional printing. **Journal of Applied Polymer Science**, Hoboken, v. 134, n. 32, p. 44988, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.44988>. Acesso em: 21 maio 2023.

WANG, J.; GOYANES, A.; GAISFORD, S.; BASIT, A. W. Stereolithographic (SLA) 3D printing of oral modified-release dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 503, n. 1-2, p. 207-212, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517316302150?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

WANG, J.; LI, J. B.; WANG, X. F.; CHENG, Q.; WENG, Y.; REN, J. Synthesis and properties of UV-curable polyester acrylate resins from biodegradable poly(L-lactide) and poly(epsilon-caprolactone). **Reactive & Functional Polymers**, Amsterdam, v. 155, p. 10, Oct 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381514820303485>. Acesso em: 21 maio 2023.

WANG, Y. L.; JIANG, X. S.; YIN, J. Novel polymeric photoinitiators comprising of side-chain benzophenone and coinitiator amine: Photochemical and photopolymerization behaviors. **European Polymer Journal**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 437-447, Feb 2009.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001430570800565X?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

WEI, J.; LIU, F. Novel highly efficient macrophotoinitiator comprising benzophenone, coinitiator amine, and thio moieties for photopolymerization. **Macromolecules**, Washington, v. 42, n. 15, p. 5486-5491, Aug 2009. Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ma900887h>. Acesso em: 21 maio 2023.

WEIS, P.; WU, S. Light-switchable azobenzene-containing macromolecules: from UV to near infrared. **Macromolecular Rapid Communications**, Weinheim, v. 39, n. 1, p. 1700220, 2018-01-01 2018. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/marc.201700220>. Acesso em: 21 maio 2023.

WIRIA, F. E.; LEONG, K. F.; CHUA, C. K.; LIU, Y. Poly-epsilon-caprolactone/hydroxyapatite for tissue engineering scaffold fabrication via selective laser sintering. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 3, n. 1, p. 1-12, Jan 2007. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706106001012?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

WU, L. F.; ZHAO, L. D.; JIAN, M.; MAO, Y. X.; YU, M.; GUO, X. EHMP-DLP: multi-projector DLP with energy homogenization for large-size 3D printing. **Rapid Prototyping Journal**, Bingley, v. 24, n. 9, p. 1500-1510, 2018. Disponível em:

<https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/RPJ-04-2017-0060/full/html>. Acesso em: 21 maio 2023.

WU, S. L.; LIU, X. M.; YEUNG, K. W. K.; LIU, C. S.; YANG, X. Biomimetic porous scaffolds for bone tissue engineering. **Materials Science & Engineering R-Reports**, Lausanne, v. 80, p. 1-36, Jun 2014. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927796X14000503?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.

XU, N.; YE, X.; WEI, D.; ZHONG, J.; CHEN, Y.; XU, G.; HE, D. 3D artificial bones for bone repair prepared by computed tomography-guided fused deposition modeling for bone repair. **ACS Applied Materials & Interfaces**, Washington, v. 6, n. 17, p. 14952-14963, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/am502716t>. Acesso em: 21 maio 2023.

YANG Y.; HE C.; E D.; YANG W.; QI F.; XIE D.; SHEN L.; PENG S.; SHUAI C. Mg bone implant: Features, developments and perspectives. **Materials & Design**, Kidlington, v. 185, p. 108259, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264127519306975?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jul. 2023.

ZHANG, H. F.; MAO, X. Y.; DU, Z. J.; JIANG, W. B.; HAN, X.; ZHAO, D. Three dimensional printed macroporous polylactic acid/hydroxyapatite composite scaffolds for promoting bone formation in a critical-size rat calvarial defect model. **Science and Technology of Advanced Materials**, Abingdon, v. 17, n. 1, p. 136-148, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14686996.2016.1145532>. Acesso em: 21 maio 2023.

ZHANG, J.; XIAO, P. 3D printing of photopolymers. **Polymer Chemistry**, Cambridge, v. 9, n. 13, p. 1530-1540, Apr 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/PY/C8PY00157J>. Acesso em: 21 maio 2023.

ZHU, M. X.; WANG, Y. Y.; FERRACCI, G.; ZHENG, J.; CHO, N.-J.; LEE, B. H. Gelatin methacryloyl and its hydrogels with an exceptional degree of controllability and batch-to-batch consistency. **Scientific Reports**, Berlin, v. 9, p. 13, May 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-42186-x>. Acesso em: 21 maio 2023.

ZHU, Y. F.; RAMADANI, E.; EGAP, E. Thiol ligand capped quantum dot as an efficient and oxygen tolerance photoinitiator for aqueous phase radical polymerization and 3D printing under visible light. **Polymer Chemistry**, Cambridge, v. 12, n. 35, p. 5106-5116, Sep 2021. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/py/d1py00705j/unauth>. Acesso em: 22 maio 2023.

ZIVIC, N.; BROSSIER, T.; CRESTEY, F.; CATROUILLET, S.; CHEMTOB, A.; HÉROGUEZ, V.; LACROIX-DESMAZES, P.; JOLY-DUHAMEL, C.; BLANQUER, S.; PINAUD, J. Photo-induced ring-opening polymerization of trimethylene carbonate-based liquid resins: Towards biodegradable patterned coatings. **Progress in Organic Coatings**, Lausanne, v. 172, p. 8, Nov 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944022004258?via%3Dihub>. Acesso em: 21 maio 2023.