

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

STEPHANY CASTOR DOS SANTOS GUIMARÃES

**IMPRESSÃO EM 3D PARA FINS DE REPARO ÓSSEO: UMA REVISÃO DA
LITERATURA**

**SÃO CARLOS
2023**

STEPHANY CASTOR DOS SANTOS GUIMARÃES

**IMPRESSÃO EM 3D PARA FINS DE REPARO ÓSSEO: UMA REVISÃO DA
LITERATURA**

Trabalho de Conclusão do Curso
apresentado como requisito para
obtenção de grau de Bacharel em
Biotecnologia pela Universidade
Federal de São Carlos
(UFSCar, campus Sede).

Orientadora: Prof^a Dr^a Karina Nogueira Zambone Pinto Rossi

SÃO CARLOS

2023

RESUMO

As fraturas ósseas são uma condição comum que pode afetar pessoas de todas as idades, podendo ser causadas por traumas, como quedas ou acidentes, ou por doenças. O processo de cicatrização óssea é altamente regulado, envolvendo células e fatores de crescimento. Uma má recuperação de fraturas pode levar a consequências como calos ósseos inadequados e não união óssea. Os tratamentos atuais incluem imobilização, enxertos ósseos e intervenções cirúrgicas. No entanto, novas terapias estão em desenvolvimento para melhorar os resultados clínicos e a qualidade de vida dos pacientes. Recentemente, a tecnologia de impressão tridimensional (3D) tem sido estudada para desenvolvimento de estruturas biomiméticas que favoreçam o reparo tecidual. Esta revisão narrativa teve como objetivo investigar quais são os atuais usos da tecnologia tridimensional (3D) na medicina, acerca do desenvolvimento e aplicabilidade de biomateriais para a produção de scaffolds no reparo ósseo *in vitro* e *in vivo*. Trata-se de uma revisão de literatura realizada mediante pesquisa na biblioteca virtual SciELO e na base de dados Science Direct e PubMed, a partir da seleção de artigos publicados nos últimos 5 anos. Foram empregadas as palavras chave: “impressão tridimensional”, “bioimpressão”, “medicina regenerativa”, “engenharia de tecidos” e seus equivalentes em inglês. Os biomateriais desempenham um papel crucial na impressão 3D para reparo ósseo. Entre eles, o titânio é amplamente utilizado devido à sua biocompatibilidade e resistência. Os hidrogéis são outra categoria importante, oferecendo uma estrutura semelhante à matriz extracelular e facilitando a regeneração óssea. Além disso, a biosílica, derivada de fontes naturais, ganha destaque devido às suas propriedades bioativas e capacidade de promover a mineralização óssea. Esses biomateriais são fundamentais para a impressão 3D de implantes personalizados, oferecendo soluções promissoras para o reparo ósseo e o desenvolvimento de novas terapias regenerativas. Acreditamos que, futuramente, scaffolds impressos em tecnologia de impressão 3D possam substituir os tratamentos convencionais e espera-se que se tornem mais atraentes do ponto de vista comercial, sendo assim mais acessível ao público.

Palavras-chave: Impressão tridimensional; bioimpressão; medicina regenerativa; engenharia de tecidos; e seus equivalentes em inglês, *3D printing*; *bioprinting*; *regenerative medicine*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
1.1 REPARO ÓSSEO E RELEVÂNCIA DO ESTUDO.....	6
1.2 TRATAMENTOS ATUAIS.....	7
1.3 IMPRESSÃO 3D.....	9
1.4 BIOMATERIAIS PARA REPARO ÓSSEO.....	12
1.5 JUSTIFICATIVA.....	14
2. OBJETIVO.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4.1 PRINCIPAIS TEORIAS, CONCEITOS E MODELOS CLÍNICOS.....	17
4.1.1 PRINCIPAIS BIOMATERIAIS PARA REPARO ÓSSEO.....	17
4.1.1.1 TITÂNIO.....	18
4.1.1.2 HIDROGÉIS.....	19
4.1.1.3 GELATINA METACRILATO.....	21
4.1.1.4 COMBINAÇÃO DE HIDROGÉIS E TITÂNIO.....	22
4.1.1.5 BIOSÍLICA.....	23
4.1.1.6 OUTROS MÉTODOS.....	23
4.2 DESAFIOS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
6. BIBLIOGRAFIA.....	28

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fases do reparo ósseo.....	7
Figura 2 - Ilustração da exemplificação do método de fixação óssea utilizando placas e parafusos metálicos.....	8
Figura 3 - Esquematização da movimentação suportada pelos pinos intramedulares. A: É resistente a dobramento. B e C: Baixa resistência à rotação e axial, além de falsa fixação óssea.....	8
Figura 4 - Ilustração da exemplificação do método de fixação óssea utilizando fixação externa.....	9
Figura 5 - Ilustração do processo de impressão em uma máquina de impressão 3D.....	10
Figura 6 - A: Demonstração do protótipo da impressão 3D; B: Demonstração de uma impressora 3D na produção de um <i>scaffold</i>	11
Figura 7 - Representação esquemática do fluxo da síntese de scaffolds utilizando tecnologia da impressão 3D.....	12

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Títulos, autores, base de dados e ano de publicação dos artigos encontrados a partir da busca descrita.....	15
Tabela 2 - Alguns exemplos de Biomateriais e seus benefícios e limitações para a produção de scaffolds em tecnologia 3D.....	24

1. INTRODUÇÃO

1.1 REPARO ÓSSEO E RELEVÂNCIA DO ESTUDO

As fraturas ósseas representam um desafio significativo para a saúde pública, acarretando não apenas altos custos financeiros, mas também uma demanda considerável por recursos médicos. Estudos epidemiológicos revelaram uma incidência alarmante de aproximadamente 178 milhões de casos de fraturas e defeitos ósseos críticos ao longo do período de 1990 a 2019 em todo o mundo. Esse aumento é atribuído, em grande parte, ao envelhecimento da população, uma vez que a expectativa de vida está em crescimento. Projeções indicam que até o ano de 2060, a população idosa deverá triplicar, o que intensificará ainda mais a incidência de fraturas ósseas e demandará um cuidado médico mais eficiente e abrangente para lidar com essa crescente necessidade de tratamentos (MCCLOSKEY et al., 2021). Essas fraturas podem ser causadas por diversos fatores, como acidentes, quedas, atividades esportivas ou condições médicas subjacentes. Além do ônus físico e emocional para os pacientes, o tratamento adequado dessas fraturas representa um desafio financeiro considerável, resultando em custos elevados para os sistemas de saúde e para os próprios pacientes (EINHORN; GERSTENFELD, 2014).

As fraturas são as lesões traumáticas mais frequentes em órgãos grandes em seres humanos. A cura das fraturas ósseas é um processo regenerativo que imita muitos dos eventos do desenvolvimento esquelético embrionário. Embora a maioria das fraturas se curem e restaurem a composição celular, estrutura e função biomecânica do órgão esquelético danificado à condição pré-lesão, aproximadamente 10% das fraturas não se recuperam adequadamente (EINHORN; GERSTENFELD, 2014).

A cicatrização óssea é um processo complexo e altamente regulado que ocorre em resposta a lesões ou fraturas nos ossos do corpo humano. Segundo estudos, a regeneração óssea envolve uma sequência coordenada de eventos celulares e moleculares, com destaque para a participação fundamental de células osteoprogenitoras, osteoblastos e osteoclastos, além da matriz extracelular (SOUSA, 2011). O processo inicia-se com a formação de um hematoma na região da fratura (Figura 1), proporcionando um ambiente propício para a migração de células inflamatórias e fatores de crescimento (EINHORN et al., 2014). Posteriormente, células mesenquimais são

recrutadas e diferenciadas em osteoblastos, que desempenham um papel crucial na síntese de matriz óssea (LONG et al., 2013). Por outro lado, os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção óssea, contribuindo para a remodelação adequada do tecido (BOYLE et al., 2003).

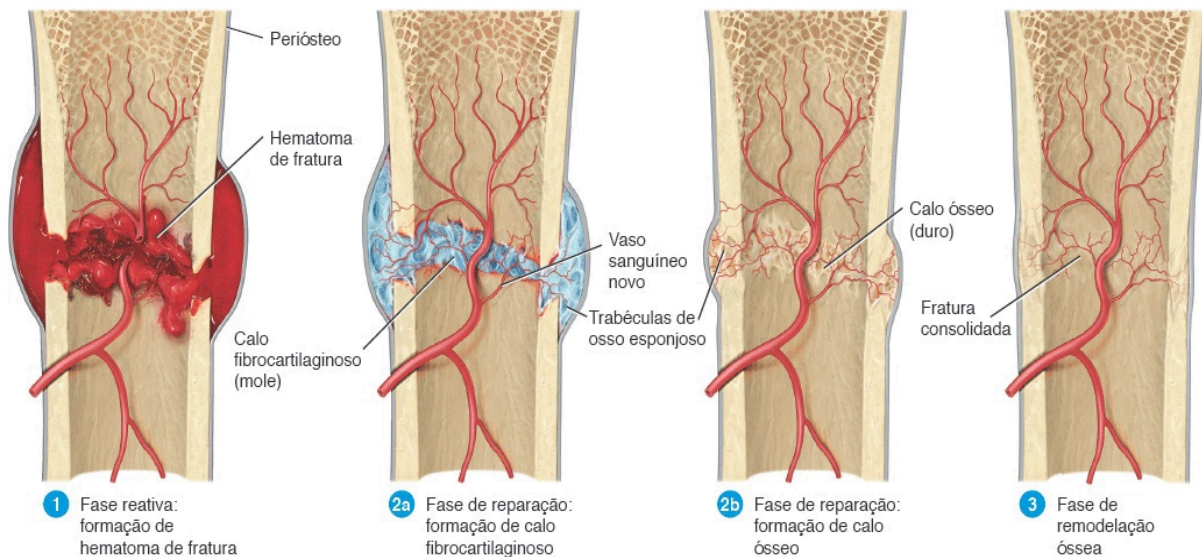


Figura 1 - Fases do reparo ósseo. Fonte: DERRICKSON; TORTORA, 2016

As consequências da cicatrização óssea inadequada podem ser significativas, levando a diversas complicações como a não união ou má união da fratura, que podem resultar em dor crônica, perda de funções e limitações na mobilidade (GERSTENFELD et al., 2006). Estudiosos da área ressaltam a importância do entendimento detalhado desses mecanismos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem otimizar a regeneração óssea, seja por meio de intervenções farmacológicas, biomateriais ou abordagens cirúrgicas inovadoras (EINHORN et al., 2014).

1.2 TRATAMENTOS ATUAIS

No contexto dos tratamentos para lesões ósseas, diversos métodos de fixação podem ser empregados para lidar com fraturas. Uma abordagem comumente utilizada consiste no emprego de placas e parafusos metálicos para a estabilização da fratura, como mostrado na figura 2. Embora essa técnica seja reconhecida por sua eficácia, destaca-se a potencial ocorrência infecção devido aos materiais implantados, além da necessidade de procedimentos cirúrgicos invasivos (BHANDARI et al., 2005).



Figura 2 - Ilustração da exemplificação do método de fixação óssea utilizando placas e parafusos metálicos. Fonte: MEDICALEXPO, 2019.

Outra modalidade frequente de tratamento envolve o uso de pinos intramedulares, inseridos diretamente no canal medular do osso. Essa abordagem visa minimizar a invasividade cirúrgica, entretanto não está isenta de desafios (KREGOR et al., 2004). A inserção desses pinos intramedulares pode causar altos danos articulares e periarticulares, como anquilose e lesões aos tendões ou ligamentos, com consequente disfunção parcial ou total do membro afetado, além da possibilidade de movimentação ou deslocamento ao longo do tempo como ilustrado abaixo (Figura 3) (RUI et al., 2017).

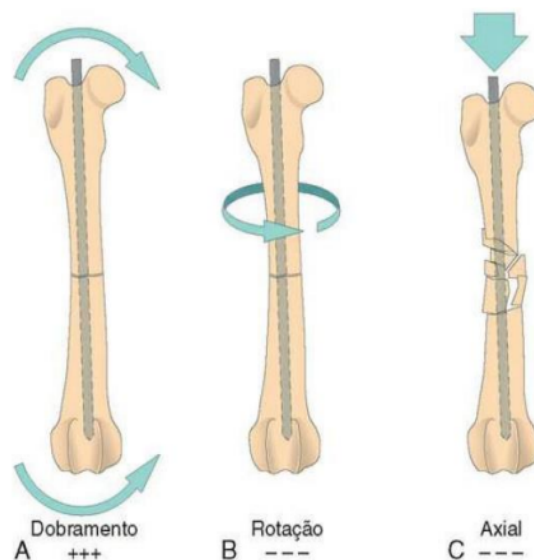


Figura 3 - Esquematização da movimentação suportada pelos pinos intramedulares. A: É resistente a dobramento. B e C: Baixa resistência à rotação e axial, além de falsa fixação óssea. Fonte: JOHNSON, 2015.

Por fim, a fixação externa surge como uma alternativa, recorrendo a presas e pinos posicionados externamente ao osso afetado, como mostrado na Figura 4. Embora represente uma opção, esse método não é específico, podendo ocasionar complicações aumentando o risco de infecções (KREGOR et al., 2004) e consequentemente causar prejuízos à circulação e que exijam fixação por período prolongado (PÉREZ et al., 2008).



Figura 4 - Ilustração da exemplificação do método de fixação óssea utilizando fixação externa. Fonte: SELAZ, 2019.

1.3 IMPRESSÃO 3D

A impressão 3D, também chamada de fabricação aditiva, é uma tecnologia que possibilita a criação de objetos tridimensionais a partir de modelos digitais. Funciona através do processo de adição de material, camada por camada, por meio de uma impressora 3D. O modelo digital é criado em *software* de modelagem 3D ou pode ser obtido através de um escaneamento tridimensional. À medida que a impressora executa a construção, o objeto vai se formando gradualmente conforme o solicitado, resultando em uma peça física e funcional (VOLPATO et al., 2018) como demonstrado na Figura 5. Essa tecnologia tem aplicações em diversas áreas, desde prototipagem rápida até produção

personalizada, impulsionando a criatividade e eficiência em diversos setores industriais (MURPHY; ATALA, 2014).

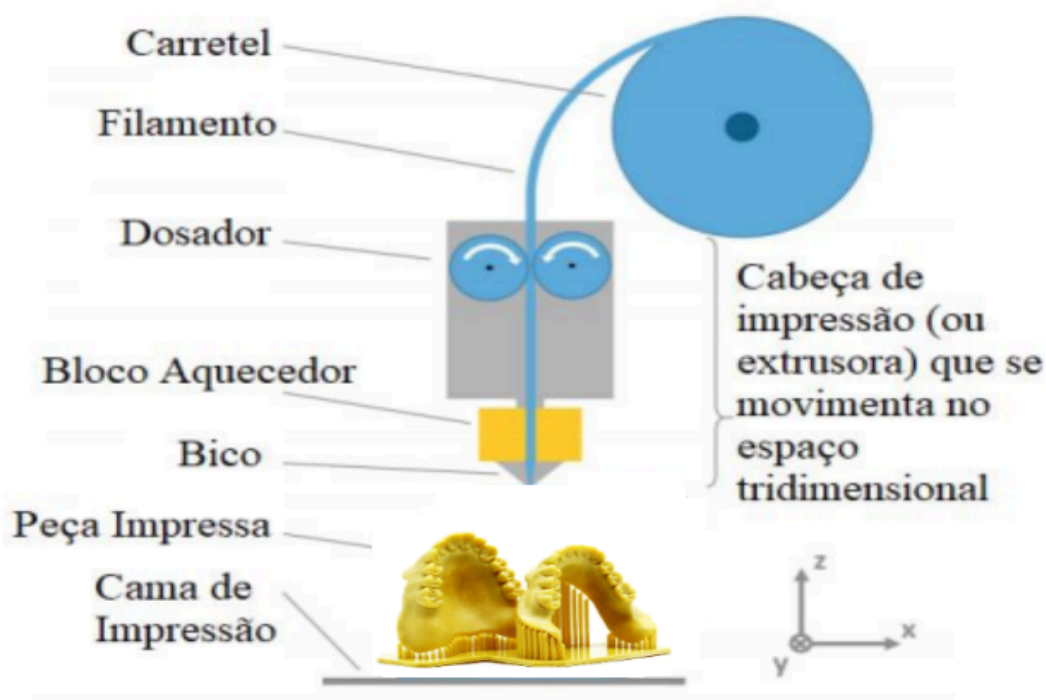


Figura 5 - Ilustração do processo de impressão em uma máquina de impressão 3D.
Fonte: adaptado de LOFFLER, 2019.

A utilidade médica para impressão em 3D, tanto real como potencial, pode ser organizada em amplas categorias, incluindo: uso farmacêutico, fabricação de tecidos vivos, órgãos e etc (GROSS et al., 2014). Além disso, possui a capacidade de criar e fabricar estruturas tridimensionais personalizadas e precisas, possibilitando avanços significativos na medicina regenerativa e ortopedia (MURPHY; ATALA, 2014). A aplicação da impressão 3D em medicina regenerativa e engenharia de tecidos, tem sido usada para criar substitutos personalizados que podem se adaptar melhor às deficiências (BARCZEWSKI et al., 2022). Além disso, a impressão 3D tem sido aplicada no campo de próteses médicas, como próteses de dedos, dentárias e mãos personalizadas, reduzindo significativamente os custos em comparação com as próteses comerciais convencionais (MURPHY; ATALA, 2014).

A impressão 3D é vantajosa pois permite a criação precisa e específica do substituto, com parâmetros ajustáveis, como controle de tamanho, velocidade de impressão, porosidade e formato (Figura 6) (GU et al., 2018). Os poros criados durante a impressão 3D são essenciais para o reparo efetivo do tecido ósseo, permitindo a adesão

e o crescimento de células ósseas. Essa tecnologia também tem sido útil na preparação de intervenções cirúrgicas complexas, permitindo que cirurgiões pratiquem e modifiquem o plano de tratamento com base em modelos impressos em 3D dos tecidos a serem operados (MEHROTRA et al., 2019).

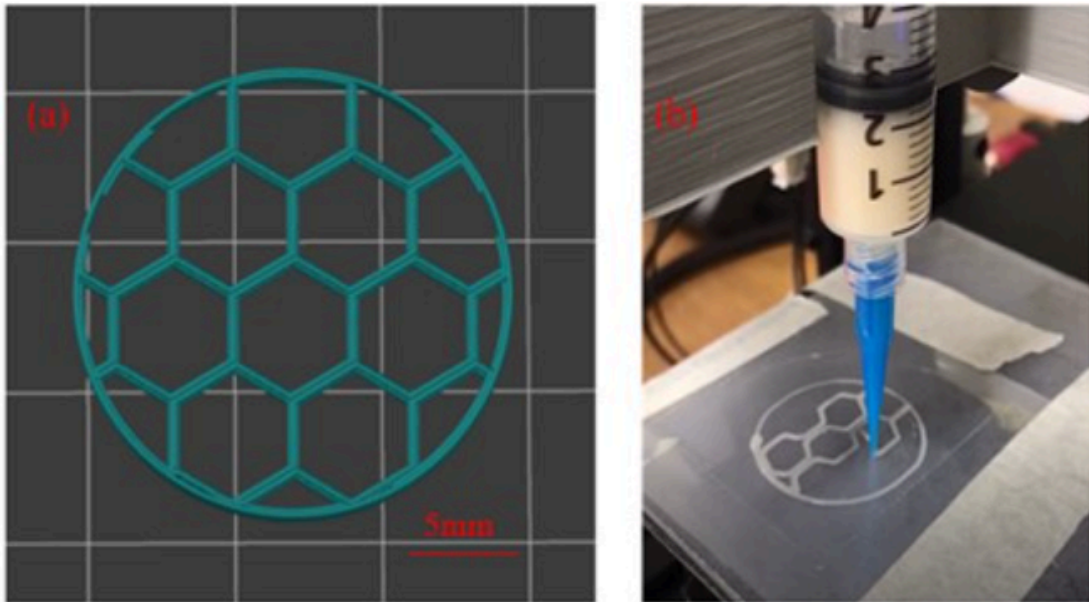


Figura 6 - A: Demonstração do protótipo da impressão 3D; B: Demonstração de uma impressora 3D na produção de um *scaffold*. Fonte: ALVES et al., 2023.

Existem muitos protocolos para a produção de *scaffolds* utilizando a tecnologia 3D, mas de modo geral, a fabricação desses *scaffolds* pode ser subdividida entre a preparação do pó de hidroxiapatita, por exemplo, seguida pela preparação da suspensão com material cerâmico, e por fim, a produção dos *scaffolds* em si (Figura 7). Essa fabricação pode se dar por meio de técnica de replicação, com a impregnação da suspensão cerâmica e posteriormente a sinterização da estrutura tridimensional (SARKAR et al., 2015).

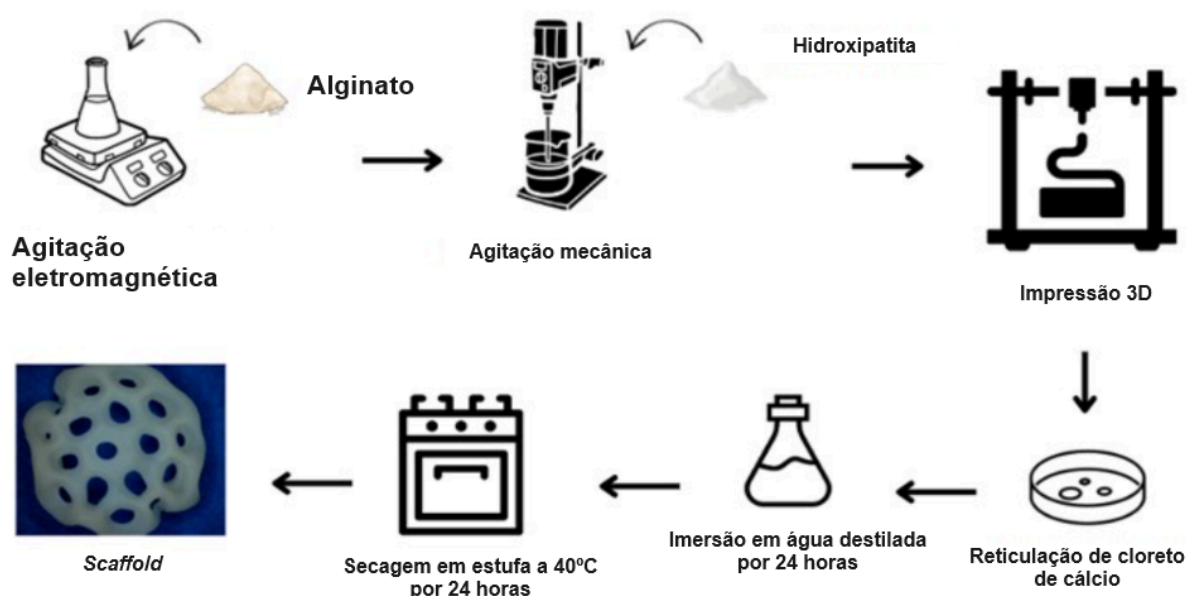


Figura - Representação esquemática do fluxo da síntese de scaffolds utilizando tecnologia da impressão 3D. Fonte: Modificado de ALVES et al., 2023.

1.4 BIOMATERIAIS PARA REPARO ÓSSEO

Diante da problemática da incompatibilidade, emerge uma abordagem alternativa e promissora no cenário dos tratamentos para lesões ósseas: o emprego de biomateriais. Esta metodologia apresenta uma série de vantagens notáveis. Ao serem utilizados como enxertos ósseos sintéticos e substitutos de tecido ósseo, os biomateriais se destacam por sua capacidade de estimular a regeneração óssea, acelerando significativamente o processo de cicatrização. Adicionalmente, proporcionam um ambiente propício para a formação de novo tecido ósseo, facilitando a união óssea e a consolidação da fratura (VIATEAU et al., 2007).

Uma característica distinta dos biomateriais é sua biocompatibilidade intrínseca. Essa propriedade reduz consideravelmente o risco de rejeição ou a ocorrência de reações adversas no organismo do paciente, promovendo uma resposta positiva ao material implantado. Essa vantagem é crucial para garantir que o tratamento seja bem tolerado pelo corpo, minimizando complicações indesejadas (SOARES et al., 2010).

Além disso, a versatilidade dos biomateriais se destaca na capacidade de preencher defeitos ósseos, oferecendo um suporte estrutural temporário até que o osso se regenere completamente. Essa característica é particularmente valiosa em situações

em que a integridade estrutural do osso foi comprometida, permitindo a reconstrução gradual e segura do tecido ósseo (VIATEAU et al., 2007).

Os polímeros biodegradáveis, como o ácido polilático (PLA) e o poliácido láctico-co-glicólico (PLGA), são utilizados na manufatura de *scaffolds* para reparo ósseo devido à sua biocompatibilidade e degradação controlada. No entanto, sua limitação está relacionada à força mecânica (PROIKAKIS et al., 2002), que pode diminuir ao longo do tempo, comprometendo a sustentação estrutural do molde. Os *scaffolds* compostos por hidroxiapatita (HA) ou tricálcio fosfato (TCP) mimetizam a composição mineral do osso, promovendo a osteocondução. Apesar de suas propriedades osteoindutoras, também possuem fragilidade mecânica como uma limitação, o que pode exigir a incorporação com outros materiais para melhorar a resistência (DOROZHKIN, 2010). Também existem os polímeros naturais, como colágeno e quitosana, que podem ser utilizados para manufatura de *scaffolds*. Esses oferecem excelentes propriedades biológicas e interações favoráveis com células. No entanto, sua estabilidade mecânica pode ser insuficiente para algumas aplicações, exigindo estratégias de reforço ou combinação com outros materiais para melhorar a resistência (ELANGO et al., 2019).

Metais biocompatíveis como ligas de titânio e magnésio são escolhas comuns devido à sua biocompatibilidade e resistência. No entanto, a densidade relativamente alta do titânio pode limitar sua aplicação em *scaffolds* leves. Além disso, a rápida degradação do magnésio pode ser um desafio, requerendo formulações específicas para controlar a sua taxa de degradação (NIINOMI, 2010; STAIGER et al., 2006).

As cerâmicas como zircônia e alumina exibem alta resistência e estabilidade química. No entanto, sua falta de degradação pode ser uma desvantagem em aplicações de reparo ósseo a longo prazo, pois não se integram totalmente com o tecido circundante (CHEVALIER; GREMILLARD, 2009).

Em suma, apesar de algumas limitações e da escolha correta do material para cada caso, a utilização de biomateriais na regeneração óssea representa uma abordagem inovadora. A capacidade desses materiais de promover a cicatrização, aliada à sua biocompatibilidade e capacidade de preenchimento de defeitos ósseos, abre novas perspectivas no campo da ortopedia, proporcionando tratamentos mais eficazes e com menor incidência de complicações (HAK et al., 2014; VIATEAU et al., 2007).

1.5 JUSTIFICATIVA

Realizar um trabalho de revisão literária sobre impressão em 3D para fins de reparo ósseo é justificado pela importância e relevância crescentes dessa tecnologia inovadora nos últimos anos na área da biotecnologia, medicina regenerativa e ortopedia. A impressão 3D oferece a capacidade de criar estruturas personalizadas e precisas, que podem ser utilizadas para a regeneração de tecidos ósseos danificados, bem como para a fabricação de implantes e próteses sob medida. Através dessa revisão bibliográfica, será possível examinar e sintetizar pesquisas mais recentes e relevantes nesse campo, abrangendo os avanços em biomateriais, métodos de fabricação e aplicações clínicas. Além disso, permitirá identificar lacunas no conhecimento atual, apontando direções futuras de pesquisa e fornecendo subsídios para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e personalizadas. Dessa forma, o trabalho apresentado poderá contribuir significativamente para o avanço científico e tecnológico nesse campo, com potencial para beneficiar pacientes que enfrentam lesões ou doenças ósseas.

1. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi revisar quais são os atuais usos da tecnologia tridimensional (3D) na medicina, acerca do desenvolvimento e aplicabilidade de biomateriais para a produção de scaffolds no reparo ósseo. Além disso, buscou-se salientar, sob um ponto de vista crítico, quais as limitações e vantagens de cada abordagem e técnica exemplificada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo é uma revisão narrativa onde, de acordo com Rother (2007): são trabalhos amplos apropriados para descrever e discutir o desenvolvimento ou o 'estado da arte' de um determinado assunto, sob ponto de vista teórico ou conceitual".

De modo geral, são textos que constituem a análise da literatura científica na interpretação e análise do autor. Apesar de sua força de evidência científica ser considerada baixa devido à impossibilidade de reprodução de sua metodologia, as revisões narrativas podem contribuir no debate de determinadas temáticas, levantando

questões e colaborando na aquisição e atualização do conhecimento em curto espaço de tempo (ROTHER, 2007).

O processo de coleta do material foi realizado de forma não sistemática no período de agosto de 2023 a janeiro de 2024. Foram pesquisadas bases de dados científicas: PubMed, Science Direct e SciELO. O banco de dados foi sendo complementado com materiais indicados por especialistas na temática que foram lidos na íntegra, categorizados e analisados criticamente. Foram empregadas as palavras chave: impressão tridimensional, bioimpressão, medicina regenerativa, engenharia de tecidos e seus equivalentes em inglês: *3D printing*, *bioprinting*, *regenerative medicine*. Foram selecionados textos que apresentavam uma relação com a proposta do trabalho apresentado. Os artigos foram selecionados tanto na língua inglesa quanto portuguesa, e por fim, foram excluídos estudos com publicação anterior ao ano 2018.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado desta revisão, a partir dos métodos e das ferramentas de busca acima descritas, utilizando as palavras chave: impressão tridimensional, bioimpressão, medicina regenerativa, engenharia de tecidos e seus equivalentes em inglês: *3D printing*, *bioprinting*, *regenerative medicine*, foram de 15 artigos científicos, apresentados na tabela abaixo (Tabela 1).

Os artigos foram selecionados na língua inglesa, e por fim, foram excluídos estudos com publicação anterior ao ano de 2018.

Tabela 1: Títulos, autores, base de dados e ano de publicação dos artigos encontrados a partir da busca descrita.

Título	Autores	Base de dados	Ano da publicação
Multifunctional Coatings of Titanium Implants Toward Promoting Osseointegration and Preventing Infection: Recent Developments.	LU, X. et al.	ScienceDirect	2021

Enhanced Osseointegration of Titanium Implants by Surface Modification with Silicon-doped Titania Nanotubes.	ZHAO, X. et al.	PubMed	2020
Opportunities and challenges in additive manufacturing of functionally graded metallic materials via powder-fed laser directed energy deposition: A review.	ANSARI, M. et al.	ScienceDirect	2021
Additive manufacturing of titanium-based alloys- A review of methods, properties, challenges, and prospects	TSHEPHE S, et al.	PubMed	2022
Calcium silicate bioactive ceramics induce osteogenesis through oncostatin M.	ZHOU P, et al.	PubMed	2021
Decellularized annulus fibrosus matrix/chitosan hybrid hydrogels with basic fibroblast growth factor for annulus fibrosus tissue engineering.	LIU C, et al.	PubMed	2019
A 3D Printing Scaffold Using Alginate/Hydroxyapatite for Application in Bone Regeneration.	ALVES, B. C. et al.	SciELO	2023
Novel 3D-printing bilayer GelMA-based hydrogel containing BP, β -TCP and exosomes for cartilage–bone integrated repair.	SUN, T. et al.	PubMed	2023
Silicon-phosphorus-nanosheets-integrated 3D-printable hydrogel as a bioactive and biodegradable scaffold for vascularized bone regeneration.	XU C, et al.	PubMed	2022
Stratified-structural hydrogel incorporated with magnesium-ion-modified black phosphorus nanosheets for promoting neuro-vascularized bone regeneration.	XU Y, et al.	PubMed	2022
Combined photothermal and sonodynamic therapy using a 2D black phosphorus nanosheets loaded coating	ZENG J, et al.	ScienceDirect	2023

for efficient bacterial inhibition and bone-implant integration.			
Human tendonderived collagen hydrogel significantly improves biomechanical properties of the tendon-bone interface in a chronic rotator cuff injury model.	KAIZAWA Y, et al.	PubMed	2019
Regional gene therapy with 3D printed scaffolds to heal critical sized bone defects in a rat model.	ALLURI, R. et al.	PubMed	2019
Form and functional repair of long bone using 3D-printed bioactive scaffolds.	TOVAR N, et al.	PubMed	2018
In Vivo Biological Effects of Marine Biosilica on a Tibial Bone Defect in Rats.	CRUZ, M. et al.	SciELO	2020

Os artigos supracitados estão apresentados nesta revisão narrativa da literatura em dois subitens, abaixo descritos:

4.1 PRINCIPAIS TEORIAS, CONCEITOS E MODELOS CLÍNICOS

O reparo de tecidos ósseos é um processo complexo que envolve a interação de várias células e proteínas. O objetivo do reparo ósseo é reconstituir a estrutura e a função do osso danificado (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

Como já citado, a impressão em 3D pode ser usada para auxiliar no reparo de tecidos ósseos de várias maneiras. Uma das aplicações é a criação de *scaffolds* ósseos que, de modo geral, são estruturas tridimensionais que fornecem suporte e orientação para o crescimento de células ósseas. Esses *scaffolds* impressos em 3D podem ser personalizados para atender às necessidades específicas do paciente, moldando-se, por exemplo, conforme a forma e tamanho do defeito ósseo a ser corrigido. Além disso, possuem a vantagem de serem confeccionados com materiais biocompatíveis e bioativos, estimulando o desenvolvimento celular ósseo (OLIVEIRA et al., 2017).

4.1.1 PRINCIPAIS BIOMATERIAIS PARA REPARO ÓSSEO

Os biomateriais constituem uma classe diversificada de materiais que desempenham um papel fundamental em uma variedade de aplicações biomédicas. Esses materiais são projetados para interagir de forma segura e eficaz com sistemas biológicos, com o objetivo de restaurar, substituir ou melhorar funções teciduais comprometidas. Desde implantes ortopédicos até sistemas de liberação controlada de medicamentos, os biomateriais desempenham um papel crucial em diversas áreas da medicina (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Sua composição e propriedades são cuidadosamente selecionadas e modificadas para atender às necessidades específicas de cada aplicação, levando em consideração fatores como biocompatibilidade, resistência mecânica, degradação e capacidade de interação com células e tecidos vivos (SOARES et al., 2010).

4.1.1.1 TITÂNIO

O titânio (Ti) desempenha um papel essencial como biomaterial em implantes, é amplamente utilizado nas áreas ortopédica e odontológica. Alguns pesquisadores expressam apoio à ideia do uso de titânio em impressão 3D para aplicações como implantes e scaffolds devido às propriedades únicas desse metal. Estudos, como os de Lu et al. (2021) e Zhao et al. (2020), destacam a biocompatibilidade, a resistência e a afinidade do titânio com o osso, o que favorece a integração e a osteointegração.

Em contrapartida é fundamental reconhecer algumas limitações associadas a essa abordagem como por exemplo a corrosão de biomateriais metálicos, que é um processo inevitável, no qual os íons liberados de suas superfícies podem causar toxicidade e reações alérgicas. Estudos como o de Tshephe et al. (2022) destacam desafios relacionados à susceptibilidade do titânio à deformação térmica durante o processo de impressão, podendo resultar em defeitos nas estruturas.

A complexidade no controle da porosidade, necessária para promover o crescimento celular e a vascularização, é mencionada em estudos como o de Chen et al. (2019), evidenciando a necessidade de otimização cuidadosa dos parâmetros de impressão, além do pós-processamento e os tratamentos térmicos, como discutido por Wang et al. (2020), podem ser necessários para melhorar as propriedades mecânicas, adicionando complexidade ao processo de fabricação.

Outro fator que não podemos deixar de lado é o alto custo desse material. A obtenção do titânio envolve processos complexos e intensivos em energia, como a redução do dióxido de titânio através do processo de Kroll, que consiste basicamente na redução do tetracloreto de titânio ($TiCl_4$) com magnésio metálico (O processo como um todo consiste de uma etapa de cloração, uma de purificação e uma de redução). Estes processos consomem uma quantidade significativa de energia e recursos, contribuindo para os altos custos (ROSENQVIST, 2004).

4.1.1.2 HIDROGÉIS

Os hidrogéis são materiais tridimensionais compostos por cadeias poliméricas reticuladas. Esses materiais apresentam propriedades únicas, como alta porosidade e capacidade de absorção de água, que os tornam adequados para uma variedade de aplicações biomédicas e industriais (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). Os hidrogéis podem ser sintetizados a partir de uma ampla gama de polímeros, permitindo ajustes em suas propriedades físicas e químicas para atender a requisitos específicos, como permeabilidade, biocompatibilidade e resistência mecânica (ZHOU et al., 2021).

Na busca por soluções avançadas na engenharia de tecidos ósseos, os hidrogéis surgem como uma escolha proeminente entre os biomateriais disponíveis. Sua estrutura polimérica reticulada, altamente hidrofílica, assemelha-se à matriz extracelular (LIU et al., 2019), facilitando a troca de fluidos corporais e componentes essenciais, como fatores bioativos e íons, para promover a ação biológica no local do implante (ZHOU et al., 2021). Apesar de possuírem propriedades como injetabilidade e alta porosidade, os hidrogéis apresentam limitações, como baixa resistência mecânica e osteocondutividade. A complexidade das propriedades estruturais e mecânicas entre os diferentes tecidos ósseos, como perióstio, osso cortical e esponjoso, demanda uma abordagem sinérgica (CHAI et al., 2017). Portanto, a combinação de diversos polímeros é essencial para superar as limitações biológicas, físicas e químicas, buscando resultados ótimos na reparação de defeitos ósseos.

A interação entre polímeros carregados de maneira oposta foi explorada, onde polissacarídeos naturais, como ácido hialurônico e alginato de sódio, exibem uma carga negativa devido aos íons carboxilato em sua cadeia principal, enquanto a gelatina e a

quitosana possuem um grupo amino inerente, conferindo-lhes uma carga positiva (PATIL, 2010). Isso possibilita a ligação entre os dois polímeros com cargas opostas, facilitando a formação de um gel.

Recentemente Alves e colaboradores (2023), também empregou hidrogel composto por uma matriz de alginato de sódio com reforços de hidroxiapatita utilizando uma bioimpressora 3D, com o objetivo de aplicá-lo na regeneração de tecido ósseo. A solução de alginato foi preparada dissolvendo o alginato de sódio em uma concentração específica. A hidroxiapatita foi adicionada à solução mencionada anteriormente em diferentes concentrações, seguida pela imersão das amostras em uma solução de cloreto de cálcio. Os *scaffolds* resultantes foram analisados quanto à concentração de hidroxiapatita. As análises espectroscópicas confirmaram a formação do hidrogel e a incorporação da hidroxiapatita na matriz de alginato. As propriedades hidrofílicas dos *scaffolds* foram consideradas compatíveis com os obtidos por impressão 3D a partir de polissacarídeos, e a análise térmica mostrou comportamento esperado desses materiais. Resultados preliminares indicaram que os *scaffolds* contendo hidroxiapatita estavam dentro do limite de citotoxicidade em relação às células da linhagem canina E20. Por outro lado, os *scaffolds* sem hidroxiapatita e aqueles com uma maior concentração demonstraram ser não citotóxicos. Notavelmente, o scaffold com maior concentração de hidroxiapatita mostrou uma proliferação celular aprimorada, atribuída às propriedades hidrofílicas do alginato que facilitam o rápido cultivo celular, o transporte de nutrientes e o crescimento celular dentro do *scaffold*.

Um estudo adicional utilizou o poli [2- (metacriloxi)etil] dimetil- (3-sulfopropil) amônio hidróxido (PSBMA) como suporte de hidrogel para carregar proteínas bioativas, visando alcançar uma liberação sustentada de proteínas iônicas (Liu et al., 2022). Já Zhang et al. (2022), optaram por utilizar quitosana carboximetilcisteína modificada em conjunto com alginato de sódio oxidado, empregando uma ligação covalente por meio da reação de base de Schiff para estabelecer uma rede de hidrogel monomolecular estável. Por outro lado, Wang et al. (2023), exploraram a ligação do anidrido maléico à quitosana, seguida de L-cisteína através de uma abordagem química, resultando na formação de um hidrogel anfotérico destinado à reparação de defeitos ósseos.

As propriedades mecânicas dos hidrogéis têm sido alvo de aprimoramentos diversos. Por exemplo, a introdução do íon metálico Mg^{2+} tem demonstrado capacidade de fortalecer as estruturas de hidrogel, melhorando as interações de ligação de hidrogênio

e eletrostáticas entre íons e polímeros foram feitas por Liu et al. (2022). Além disso, Xu et al. (2022) mostrou que os íons de magnésio têm sido associados à promoção do crescimento nervoso e à vascularização durante a osteogênese. Adicionalmente, Lou et al. (2022) mostrou que a incorporação de nanopartículas de fosfato de cálcio tem sido promissora como uma estratégia para melhorar as propriedades de tração e a atividade osteogênica dos hidrogéis.

4.1.1.3 GELATINA METACRILATO

Em um estudo recente conduzido por Sun e colaboradores (2023), foi explorado o potencial do biomaterial natural gelatina na construção da gelatina metacrilato (GelMA), uma matriz de hidrogel com afinidade celular. A GelMA foi combinada com diferentes componentes para fabricar uma matriz de hidrogel poroso em duas camadas, utilizando a tecnologia de impressão tridimensional (3D). A camada superior foi enriquecida com fósforo negro (BP) e exossomos (exos) de células-tronco mesenquimais de cordão umbilical humano (hUMSCs) em GelMA, apresentando um módulo elástico mais baixo e favorecendo a diferenciação de células-tronco mesenquimais da medula óssea (BMSCs) em cartilagem. Já na camada inferior, além do BP e exos de hUMSCs, foi adicionado fosfato tricálcico β (β -TCP), conhecido por seus efeitos osteocondutivos e osteoindutivos. Essa adição aumentou significativamente o módulo elástico da matriz de hidrogel, promovendo a diferenciação osteogênica das BMSCs. Estudos *in vitro* validaram a capacidade das matrizes em promover tanto a osteogênese quanto a condrogênese. Imagens de ressonância magnética (MRI) e micro-CT demonstraram que as matrizes biestratificadas de GelMA impressas em 3D apresentaram efeitos de reparação próximos ao tecido normal em um modelo de lesão cartilaginosa-óssea em coelhos.

Já Xu e colaboradores (2022) utilizaram o hidrogel de uma forma biohíbrida impresso em 3D denominado GelMA-PEGDA/SiPAC, incorporando nanofolhas de silício-fósforo 2D (SiP) fotorreticuláveis, para aplicação na engenharia de tecidos ósseos. O silício-fósforo 2D (SiP) foi selecionado como um novo nanomaterial bioativo e biodegradável, reconhecido por sua capacidade de promover angiogênese e osteogênese. Os resultados revelam que o GelMA-PEGDA/SiPAC exibe excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade, com liberação sustentável de elementos SiP. Em

comparação com os hidrogéis biohíbridos contendo nanofolhas de fósforo preto, o GelMA-PEGDA/SiPAC demonstrou potencial aprimorado na promoção da osteogênese de células-tronco mesenquimais e na formação de redes tubulares por células endoteliais vasculares umbilicais humanas. Em um modelo de defeito ósseo da calvária de ratos, a superioridade do GelMA-PEGDA/SiPAC na indução de angiogênese e osteogênese foi confirmada *in vivo*, destacando seu potencial como uma abordagem promissora na regeneração óssea.

4.1.1.4 COMBINAÇÃO DE HIDROGÉIS E TITÂNIO

Além disso, a combinação de hidrogéis com materiais como o titânio tem sido explorada em diversos estudos biomédicos com o intuito de melhorar a osseointegração de implantes ortopédicos e prevenir infecções associadas. Zeng et al., (2023) por exemplo, desenvolveram implantes ortopédicos revestidos com nanochapas de titânio/polidopamina/fósforo negro (Ti/PDA/BP). A introdução depolidopamina (PDA) conferiu a este revestimento uma biocompatibilidade melhorada, além de ser uma “cola” estável para ligar nanopartículas de fosfeto de boro (BPNSs) e implantes de Ti. De modo geral nesse estudo, a atividade antibacteriana e o desempenho de integração osso-implante deste novo revestimento Ti/PDA/BP foram avaliados, demonstrando eficácia na promoção da osseointegração *in vivo*. Além disso, a pesquisa na área biomédica tem avançado não apenas na composição dos tecidos ósseos, mas também na replicação de suas estruturas.

Um estudo recente explorou a formação de hidrogéis biestratificados de cartilagem articular-óssea, utilizando metacrilato de alginato de sódio, gelatina metacrilato e β -fosfato tricálcico em diferentes gradientes de concentração para facilitar a reparação óssea. Da mesma forma, Kaizawa et al. (2019) desenvolveram hidrogéis biestratificados de tecido tendão-ósseo, permitindo a reparação de defeitos com tecidos interfaciais não homogêneos e estruturas complexas. Posteriormente, para melhor corresponder à osteogênese induzida por tensão do periósteo após estimulação mecânica, uma pesquisa recente desenvolveu uma estrutura de hidrogel em rede biestratificada de tecido periosteal-ósseo, com nanochapas de fósforo negro modificadas com íon magnésio,

acelerando a eficiência da reparação óssea ao imitar as propriedades do periósteo para promover a osteogênese vascularizada.

Esses avanços representam uma promissora direção na regeneração tecidual, oferecendo novas possibilidades para o desenvolvimento de terapias regenerativas mais eficazes e adaptadas às necessidades clínicas.

4.1.1.5 BIOSÍLICA

A utilização de biocerâmicos, incluindo a biosílica extraída de esponjas marinhas, surgiu como uma opção acessível e eficaz para a regeneração de tecido ósseo. A técnica de impressão 3D tem se mostrado promissora na fabricação de scaffolds tridimensionais, favorecendo a adesão e proliferação celular (SANTOS, 2023)

Cruz et al. (2020), mostrou que *in vitro* a biosílica proveniente de esponjas marinhas destacaram potencial osteogênico. No entanto, a compreensão da interação da biosílica (BS) com o tecido ósseo ainda requer investigações *in vivo*. A análise histopatológica revelou que o Grupo Controle (GC) apresentou maior formação de tecido ósseo recém-formado em comparação com o Bioglass (BG) e a BS, embora a neoformação óssea do BG seja superior à da BS. Notavelmente, a BS exibiu degradação do material, formação de tecido de granulação e ausência de processo inflamatório, com a formação de uma cápsula fibrosa. Os resultados da histomorfometria ressaltaram a influência positiva da BS na atividade osteoblástica. A imuno-histoquímica (IHQ) demonstrou expressão positiva de VEGF e TGF- β para GC, BS e BG. No teste mecânico, não são observadas diferenças significativas. Esses resultados indicam o potencial da BS na reparação óssea, embora sejam necessários estudos adicionais explorando outras formas de apresentação da BS.

Um estudo que vem sendo desenvolvido, propõe comparar dois modelos de *scaffolds* 3D de biosílica marinha e avaliar suas propriedades físico-químicas e eficácia biológica em ensaios *in vitro*. Diversas análises foram conduzidas, incluindo testes de pH, perda de massa entre outros, além de ensaio de porosidade aparente. A avaliação estatística dos resultados revelaram resultados positivos nas análises físico-químicas, o estudo encontra-se em desenvolvimento para análises mecânicas (SANTOS, 2023).

4.1.1.6 OUTROS MÉTODOS

A utilização da impressão 3D emergiu como uma ferramenta crucial para o desenvolvimento facilitado de scaffolds a partir de uma variedade de biomateriais, como hidrogéis, biocerâmicas, metais e compostos.

Nick et al. (2018) empregaram a tecnologia de *robocasting* para projetar e imprimir scaffolds personalizáveis, compostos por 100% de beta-tricálcio fosfato (β -TCP), que foram usados para reparar defeitos ósseos longos de tamanho crítico. A análise histológica não revelou reações imunes adversas e mostrou uma remodelação progressiva do osso no scaffolds, juntamente com uma redução gradual do volume dos scaffolds ao longo do tempo. As imagens de micro-CT indicaram um crescimento direcional do osso, com aumento da formação óssea ao longo do tempo. Os dados do módulo de elasticidade reduzida (E_r) para o osso recém-regenerado foram estatisticamente semelhantes ao osso nativo em todos os momentos, enquanto os valores de dureza (H) foram comparáveis apenas ao osso radial nativo após 24 semanas. As amostras de controle negativo mostraram cicatrização limitada após 8 semanas.

Enquanto isso, Ram et al. (2019) demonstraram a eficácia da terapia gênica regional utilizando scaffolds impressos em 3D na cura de defeitos ósseos críticos. A terapia gênica regional induziu superexpressão de BMP-2 (proteínas morfogenéticas ósseas, que desempenha um papel importante no desenvolvimento de ossos e cartilagens) via células da medula óssea de ratos transduzidas (RBMCs) combinadas com um scaffolds de fosfato tricálcico (TCP) impresso em 3D osteocondutivo, capaz de curar um defeito femoral criticamente dimensionado em um modelo animal. O estudo mostrou que a combinação de terapia gênica regional e scaffolds osteocondutivos impressos em 3D tem um potencial clínico significativo para aumentar a regeneração óssea.

É evidente que a combinação de diferentes elementos em compostos demonstrou uma melhora significativa no desempenho dos substitutos ósseos, trazendo benefícios mais amplos para a regeneração óssea. Por exemplo, a heparina otimiza a entrega e liberação controlada do BMP-2 *in vivo* (WANG et al., 2022); os hidrogéis de fibrina, enriquecidos com plaquetas, promovem a diferenciação dos osteoblastos através da via de sinalização da proteína Yes-associada (YAP) (REN et al., 2022); e os biomateriais funcionais (Tabela 2), carregados com osteoindutores e exossomas, são empregados na regulação da homeostase óssea e na regeneração do tecido ósseo (VIG et al., 2022).

Tabela 2 - Alguns exemplos de Biomateriais e seus benefícios e limitações para a produção de *scaffolds* em tecnologia 3D. Fonte: (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015)

Biomateriais	Benefícios	Limitações
Titânio	Excelente resistência mecânica, biocompatibilidade, resistência à corrosão.	Alto custo de produção, dificuldade de processamento na impressão 3D devido à alta temperatura de fusão.
Cerâmicas	Boa biocompatibilidade, resistência à compressão, estabilidade química.	Fragilidade, dificuldade de controle dimensional na impressão 3D, exigência de processos de sinterização.
Fosfatos de cálcio	Biocompatibilidade, propriedades osteocondutoras, degradação controlada.	Baixa resistência mecânica, dificuldade de controle da porosidade na impressão 3D.
Biovidros	Biocompatibilidade, propriedades osteocondutoras, potencial de liberação de íons.	Fragilidade, dificuldade de controle dimensional na impressão 3D, necessidade de altas temperaturas de processamento.
Polímeros	Versatilidade de formulação, baixo custo, facilidade de processamento na impressão 3D.	Menor resistência mecânica em comparação com outros materiais, possíveis reações adversas devido à biodegradação.

4.2 DESAFIOS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A impressão 3D oferece perspectivas inovadoras para o tratamento de fraturas ósseas, defeitos ósseos e outras condições que afetam o tecido. No contexto de fraturas, a tecnologia possibilita a fabricação de *scaffolds* personalizados que se adaptam à geometria da lesão, promovendo uma regeneração óssea mais eficaz (VOLPATO et al., 2018).

Além disso, a impressão 3D permite a criação de tecidos ósseos artificiais, onde *scaffolds* complexos e biomiméticos podem ser projetados para replicar a estrutura e as propriedades do osso natural. Essa abordagem promissora oferece soluções

personalizadas, reduzindo a dependência de enxertos autólogos e minimizando problemas de rejeição (MURPHY; ATALA, 2014).

A personalização do tratamento é um aspecto crucial facilitado pela impressão 3D. A capacidade de adaptar os *scaffolds* e os implantes de acordo com as características específicas do paciente melhora significativamente a eficácia do tratamento, considerando as variações individuais na anatomia e nas condições médicas. Isso não apenas acelera o processo de recuperação, mas também minimiza complicações relacionadas à incompatibilidade ou rejeição (GU et al., 2018).

Para que essas inovações se tornem amplamente acessíveis, é essencial enfrentar desafios relacionados ao custo (TSHEPHE et al., 2022). O barateamento da tecnologia de impressão 3D para uso na população em geral é um objetivo crucial. A pesquisa contínua, avanços em materiais acessíveis e o desenvolvimento de técnicas mais eficientes são elementos fundamentais para tornar essa tecnologia revolucionária mais acessível e integrada às práticas clínicas convencionais (ROSENQVIST, 2004).

A seguir, são apresentados alguns dos principais desafios que precisam ser superados para a consolidação da impressão 3D no reparo de tecidos ósseos:

- Desenvolvimento de materiais biocompatíveis e bioativos: Os materiais utilizados para a impressão de *scaffolds* ósseos devem ser biocompatíveis, ou seja, não causarem reações adversas ao organismo, e bioativos, ou seja, precisam estimular a regeneração óssea. No entanto, ainda existem desafios a serem superados em relação ao desenvolvimento de materiais que atendam a todos esses requisitos.
- Precisão da impressão em 3D: A precisão da impressão em 3D é um fator importante para garantir a qualidade dos *scaffolds* ósseos. No entanto, ainda existem desafios a serem superados, como a falta de controle quanto ao tamanho e irregularidades nas interconexões dos poros.
- Técnicas e protocolos para a impressão de células ósseas: Existe uma falta de consenso em relação aos protocolos de impressão de células ósseas, incluindo a escolha de materiais e parâmetros de impressão. Essa falta de consenso dificulta a comparação entre diversos estudos e a implementação dessa tecnologia em escala clínica.
- Avaliação longitudinal: Muitos estudos carecem de uma avaliação longitudinal adequada, limitando a compreensão a longo prazo dos efeitos da impressão 3D e dos biomateriais nos tecidos reparados.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão narrativa da literatura, exploramos os avanços recentes em biomateriais voltados para a reparação de defeitos ósseos, investigando seus mecanismos, composição e os progressos na pesquisa de *scaffolds* na engenharia de tecidos ósseos.

Um *scaffold* ideal deve combinar robustez mecânica, hidrofiliabilidade e porosidade para facilitar a troca de fluidos e componentes corporais, além de propriedades biológicas que estimulem a adesão celular, a proliferação e a vascularização, enquanto são biodegradáveis. Os *scaffolds* desempenham um papel crucial como veículos para fatores biologicamente ativos, medicamentos, íons metálicos e células-tronco, controlando eficientemente a liberação de substâncias.

Através de tecnologias como a impressão 3D, é viável produzir *scaffolds* integrados mais uniformes, promovendo o acesso vascular, a proliferação celular e a diferenciação. Olhando para o futuro, necessitamos de uma investigação mais profunda dos biomateriais, especialmente em relação à estrutura óssea, integração com o osso e vascularização *in vivo*, bem como uma compreensão mais precisa dos mecanismos subjacentes que estimulam a osteogênese, visando uma aplicação clínica mais efetiva.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Alluri R, Song X, Bougioukli S, et al. Regional gene therapy with 3D printed scaffolds to heal critical sized bone defects in a rat model. *J Biomed Mater Res A* 2019; 107: 2174–2182.
2. ALVES, B. C. et al. A 3D Printing Scaffold Using Alginate/Hydroxyapatite for Application in Bone Regeneration. *Materials Research-ibero-american Journal of Materials*, v. 26, n. suppl 1, 1 jan. 2023.
3. ANSARI, M.; JABARI, E.; TOYSERKANI, E. Opportunities and challenges in additive manufacturing of functionally graded metallic materials via powder-fed laser directed energy deposition: A review. *Journal of Materials Processing Technology*, v. 294, p. 117117, ago. 2021.
4. BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 41, n. 1, mar. 2005.
5. BARCZEWSKI, B. F. et al. Aplicações da manufatura aditiva em oftalmologia. *Revista Brasileira de Oftalmologia*, v. 81, 2022.
6. BHANDARI, M. et al. Intramedullary Nailing Following External Fixation in Femoral and Tibial Shaft Fractures. *Journal of Orthopaedic Trauma*, v. 19, n. 2, p. 140–144, fev. 2005.
7. BHANDARI, M. et al. Operative Management of Displaced Femoral Neck Fractures in Elderly Patients. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, v. 87, n. 9, p. 2122–2130, set. 2005.
8. BOSE S, ROY M, BANDYOPADHYAY A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol.* 2012.
9. CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society*, v. 29, n. 7, p. 1245–1255, 1 abr. 2009.
10. CRUZ, M. DE A. et al. In Vivo Biological Effects of Marine Biosilica on a Tibial Bone Defect in Rats. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 63, 2020.
11. DERRICKSON, B.; TORTORA, G. J. *Princípios de anatomia e fisiologia*. [s.l: s.n.].
12. DOROZHKIN, S. V. Amorphous calcium (ortho)phosphates. *Acta Biomaterialia*, v. 6, n. 12, p. 4457–4475, dez. 2010.
13. EINHORN, T. A.; GERSTENFELD, L. C. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology*, v. 11, n. 1, p. 45–54, 30 set. 2014.

14. EINHORN, T. A.; GERSTENFELD, L. C. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nature Reviews Rheumatology*, v. 11, n. 1, p. 45–54, 30 set. 2014.
15. ELANGO, J. et al. Collagen Peptide Upregulates Osteoblastogenesis from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells through MAPK- Runx2. *Cells*, v. 8, n. 5, p. 446, 11 maio 2019.
16. GERSTENFELD, L. C. et al. Three-dimensional Reconstruction of Fracture Callus Morphogenesis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, v. 54, n. 11, p. 1215–1228, 24 jul. 2006.
17. GU, B. K. et al. 3D Bioprinting Technologies for Tissue Engineering Applications. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, p. 15–28, 2018.
18. JIANG, P. et al. Advanced surface engineering of titanium materials for biomedical applications: From static modification to dynamic responsive regulation. *Bioactive Materials*, v. 27, p. 15–57, 1 set. 2023.
19. Kaizawa Y, Leyden J, Behn AW, et al. Human tendonderived collagen hydrogel significantly improves biomechanical properties of the tendon-bone interface in a chronic rotator cuff injury model. *J Hand Surg Am* 2019; 44, 899-811
20. KASEMO, B. Biocompatibility of titanium implants: Surface science aspects. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, v. 49, n. 6, p. 832–837, jun. 1983.
21. KREGOR, P. J. et al. Treatment of Distal Femur Fractures Using the Less Invasive Stabilization System. *Journal of Orthopaedic Trauma*, v. 18, n. 8, p. 509–520, set. 2004.
22. LIAO H-T, CHEN Y-Y, LAI Y-T, HSIEH M-F, JIANG C-P. The osteogenesis of bone marrow stem cells on mPEG-PCL-mPEG/hydroxyapatite composite scaffold via solid freeform fabrication. *Biomed Res Int*. 2014
23. Liu C, Jin Z, Ge X, et al. Decellularized annulus fibrosus matrix/chitosan hybrid hydrogels with basic fibroblast growth factor for annulus fibrosus tissue engineering. *Tissue Eng Part A* 2019; 25: 1605–1613
24. LOFFLER, R.; KOCH, M. INNOVATIVE EXTRUDER CONCEPT FOR FAST AND EFFICIENT ADDITIVE MANUFACTURING. Department of Mechanical Engineering and Building Services Engineering, Technische Hochschule Nurnberg Georg Simon Ohm. Nuremberg - Germany, 2019.
25. LU, X. et al. Multifunctional Coatings of Titanium Implants Toward Promoting Osseointegration and Preventing Infection: Recent Developments. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 9, 7 dez. 2021.
26. MCCLOSKEY, E. V. et al. Romosozumab efficacy on fracture outcomes is greater in patients at high baseline fracture risk: a post hoc analysis of the first year of the frame study. *Osteoporosis International*, v. 32, n. 8, p. 1601–1608, 3 fev. 2021.
27. MEHROTRA, S. et al. 3D Printing/Bioprinting Based Tailoring of in Vitro Tissue Models: Recent Advances and Challenges. *ACS Applied Bio Materials*, v. 2, n. 4, p. 1385–1405, 22 mar. 2019.

28. MURPHY, S. V.; ATALA, A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature Biotechnology*, v. 32, n. 8, p. 773–785, 5 ago. 2014.
29. NIINOMI, M. Recently metallic materials for biomedical applications, *metalurgical and materials transactions*, Warrendale, 33, 477-486. 2010.
30. OLIVEIRA, N. A. et al. Bioimpressão e produção de mini-órgãos com células tronco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 37, n. 9, p. 1032–1039, set. 2017.
31. PATIL, J. S. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation : The novel techniques to design hydrogel particulate sustained , modulated drug delivery system : A review. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v. 5, n. 1, p. 241–248, 2010.
32. PÉREZ, E. C.; SEOANE, M. S.; SANTAMARINA, B. V.; CANTALAPIEDRA, A. G. Comparison of holding power of three different pin designs for external skeletal fixation in avian bone: a study in a common buzzard (*Buteo buteo*). *Veterinary Surgery*, Philadelphia, v. 37, p. 702-705, 2008.
33. PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, Â. M. BIOMATERIALS: TYPES, APPLICATIONS, AND MARKET. *Química Nova*, 2015.
34. PROIKAKIS, C. S. et al. Stability of DL-poly(lactic acid) in aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 87, n. 5, p. 795–804, 21 nov. 2002.
35. QUINN, J. et al. Titanium for Orthopedic Applications: An Overview of Surface Modification to Improve Biocompatibility and Prevent Bacterial Biofilm Formation. *iScience*, v. 23, n. 11, p. 101745, nov. 2020.
36. Ren S, Tang X, Liu L, et al. Reinforced blood-derived protein hydrogels enable dual-level regulation of bio- physiochemical microenvironments for personalized bone regeneration with remarkable enhanced efficacy. *Nano Lett* 2022; 22: 3904–3913.
37. ROTHER, E. T. Systematic literature review X narrative review. *Acta Paulista de Enfermagem*, v. 20, n. 2, p. v–vi, jun. 2007.
38. RUI, L. A. et al. External fixation to correct tarsal-metatarsal fracture in rock pigeon (*Columba livia*). *Revista Ceres*, v. 64, n. 1, p. 25–30, fev. 2017.
39. SARKAR, N.; KIM, I. J. Porous Ceramics. *Advanced Ceramic Processing*, 11 nov. 2015.
40. SOARES, L. et al. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras - *Revista de Ciências Médicas e Biológicas. méd. biol.*, v. 9, n. 1, p. 37–44, 2010.
41. SOUSA, K.; ORIENTADOR, S.; MARGARIDA, N. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL Disciplina: SEMINÁRIOS APLICADOS PRINCÍPIOS DA CICATRIZAÇÃO ÓSSEA (Revisão de literatura). [s.l: s.n.].

42. STAIGER, M. P. et al. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials*, v. 27, n. 9, p. 1728–1734, mar. 2006.
43. SUN, T. et al. Novel 3D-printing bilayer GelMA-based hydrogel containing BP, β -TCP and exosomes for cartilage–bone integrated repair. *Biofabrication*, v. 16, n. 1, p. 015008–015008, 31 out. 2023.
44. TERKEL ROSENQVIST. *Principles of extractive metallurgy*. Trondheim: Tapir Academic Press, 2004.
45. Tovar N, Witek L, Atria P, et al. Form and functional repair of long bone using 3D-printed bioactive scaffolds. *J Tissue Eng Regen Med* 2018; 12: 1986–1999.
46. TSHEPHE, T. S. et al. Additive manufacturing of titanium-based alloys- A review of methods, properties, challenges, and prospects. *Heliyon*, v. 8, n. 3, p. e09041, 1 mar. 2022.
47. VIATEAU, V.; GUILLEMIN, G.; BOUSSON, V. et al. Long-bone critical size defects treated with tissue-engineering grafts: a study on sheep. *J. Orthop. Res*, v.12, p.741-749, 2007.
48. Vig S and Fernandes MH. Bone cell exosomes and emerging strategies in bone engineering. *Biomedicines* 2022; 10: 767.
49. VOLPATO, Neri et al. *Manufatura aditiva: tecnologias e aplicações da impressão 3d*. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2018. 400 p.
50. WANG, G. et al. Corrosion Behavior of Titanium Implant with different Surface Morphologies. *Procedia Manufacturing*, v. 10, p. 363–370, 2017.
51. Wang J, Xiao L, Wang W, et al. The auxiliary role of heparin in bone regeneration and its application in bone substitute materials. *Front Bioeng Biotechnol* 2022; 10: 837172.
52. Xu C, Chang Y, Xu Y, et al. Silicon-phosphorus-nanosheets-integrated 3D-printable hydrogel as a bioactive and biodegradable scaffold for vascularized bone regeneration. *Adv Healthc Mater* 2022; 11; e2101911.
53. Xu Y, Xu C, He L, et al. Stratified-structural hydrogel incorporated with magnesium-ion-modified black phosphorus nanosheets for promoting neuro-vascularized bone regeneration. *Bioact Mater* 2022; 16: 271–284.
54. Zeng J, Gu C, Geng X, et al. Combined photothermal and sonodynamic therapy using a 2D black phosphorus nanosheets loaded coating for efficient bacterial inhibition and bone-implant integration. *Biomaterials* 2023; 297: 122122.
55. ZHAO, X. et al. Enhanced Osseointegration of Titanium Implants by Surface Modification with Silicon-doped Titania Nanotubes. *International Journal of Nanomedicine*, v. 15, p. 8583–8594, 2020.

56. Zhou P, Xia D, Ni Z, et al. Calcium silicate bioactive ceramics induce osteogenesis through oncostatin M. *Bioact Mater* 2021; 6: 810–822.
57. Zou, Y., Zhang, Y., Bo, L., Li, L., & Chen, W. Challenges and Opportunities in Laser Additive Manufacturing of Titanium Alloys. *Additive Manufacturing*, 21, 221-242, 2018.