

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto



**Desenvolvimento de Estruturas 3D Customizadas
para Regeneração Óssea por Fabrico Aditivo**

Pedro Corte-Real Soares

Porto, Setembro 2020

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto



Desenvolvimento de Estruturas 3D Customizadas para Regeneração Óssea por Fabrico Aditivo

Pedro Corte-Real Soares

Dissertação realizada no âmbito do
Mestrado em Engenharia Biomédica

Orientador: Professora Doutora Maria Ascensão Ferreira Silva Lopes
Coorientador: Professor Doutor José Domingos da Silva Santos

Porto, Setembro de 2020

Resumo

O facto de o tecido ósseo ser o segundo mais transplantado do mundo, logo a seguir ao sangue, com recurso a autoenxertos e aloenxertos e destes apresentarem desvantagens conhecidas, tais como, infeção no local dador, dor crónica, entre outros, tem conduzido à grande procura de substitutos ósseos sintéticos.

A área de fabrico aditivo de cerâmicos, associada à produção de substitutos ósseos, tem sofrido avanços significativos, uma vez que é possível produzir peças customizadas com geometrias complexas e controlar de forma rigorosa a localização, interconectividade e geometria dos poros, permitindo obter substitutos ósseos com propriedades e arquitetura semelhantes às do osso.

Nesta dissertação foi utilizada a técnica de *DLP - Digital Light Processing* com o objetivo de se produzir enxertos ósseos sintéticos capazes de mimetizar a arquitetura complexa do osso trabecular humano, partindo de modelos de *DAC - Desenho Assistido por Computador*, os quais tiveram de ser otimizados, assim como os parâmetros de impressão do software da máquina. Após esta otimização foi possível fabricar peças de alumina e também de alumina com pequenas adições de *Bioglass 45S5* com o objetivo de conferir bioatividade às peças impressas, que era o objetivo principal deste trabalho.

Foram analisados três ciclos térmicos distintos onde se variou a temperatura máxima de sinterização atingida em cada ciclo. Posteriormente, as peças impressas foram sujeitas a diversos ensaios que visaram avaliar as suas propriedades mecânicas. O ciclo A em que a temperatura atingida foi de 1600 °C foi o que apresentou melhores resultados, e por isso, o escolhido para os trabalhos experimentais posteriores. Ainda assim, as peças obtidas com este ciclo apresentaram alguma fissuração pelo que um novo ciclo térmico foi desenvolvido, com diferentes patamares de aquecimento para a queima gradual da resina e arrefecimento controlado de 4 °C/min de forma a reduzir as tensões residuais.

Foram produzidas formulações constituídas por alumina/*Bioglass 45S5*, com concentrações de *Bioglass 45S5* de 0,5, 1 e 5%. Os estudos reológicos mostraram que a formulação com 5% de *Bioglass 45S5* apresentou os valores de viscosidade mais elevados, provavelmente como consequência da irregularidade e distribuição granulométrica alargada do pó de *Bioglass 45S5*. As quantidades de *Bioglass 45S5* adicionadas à alumina não promoveram o aparecimento de novas fases cristalinas durante o processo de sinterização, tendo sido identificada em todos os materiais apenas a fase α -alumina, nem conferiram bioatividade. No entanto, as adições de *Bioglass 45S5* à alumina foram suficientes para originar uma maior resistência à compressão.

Abstract

Bone is the second most transplanted tissue in the world, right after blood. This way, autografts, and allografts are widely used, though having known disadvantages, such as infection in the donor site, chronic pain, among others, has led to the great demand for synthetic bone substitutes.

The field of additive ceramic manufacturing, associated with the production of bone substitutes, has undergone significant advances, being now possible to produce customized pieces with complex geometries and to strictly control the location, interconnectivity, and geometry of the pores, allowing the design of bone substitutes with properties and architecture similar to bone.

In this dissertation the technique of *DLP - Digital Light Processing* was used to produce synthetic bone grafts capable of mimicking the complex architecture of human trabecular bone, starting from models of CAD - Computer-Aided Design, which had to be optimized, as well as the printing parameters of the machine software. After this optimization, it was possible to manufacture parts of alumina and of alumina with small additions of *Bioglass 45S5* to endow bioactivity to the printed parts, which was the main objective of this work.

Three different thermal cycles were analyzed where the maximum sintering temperature reached in each cycle was varied. Subsequently, the printed parts were subjected to several tests aimed at evaluating their mechanical properties. Cycle A, in which the temperature reached was 1600 °C presented the best results, and therefore, the one chosen for subsequent experimental work. Even so, the parts obtained with this cycle presented some cracking, so a new thermal cycle was developed, with different levels of heating for the gradual burning of the resin and controlled cooling of 4 °C/min to reduce the residual stresses.

Formulations consisting of alumina/*Bioglass 45S5* were produced, with concentrations of *Bioglass 45S5* of 0.5, 1 and 5%. Rheological studies showed that the 5% *Bioglass 45S5* formulation had the highest viscosity values, probably as a consequence of the irregularity and extended particle size distribution of *Bioglass 45S5* powder. The amounts of *Bioglass 45S5* added to alumina did not promote the appearance of new crystalline phases during the sintering process and only the α -alumina phase was identified in all materials, nor did they confer bioactivity. However, the additions of *Bioglass 45S5* to alumina were sufficient to give a higher compressive strength.

Agradecimentos

No final de mais uma etapa da minha vida, tenho de fazer alguns agradecimentos a quem esteve sempre do meu lado.

Aos meus orientadores, Professora Doutora Ascensão Lopes e Professor Doutor José Domingos Santos, pela orientação e oportunidade que me deram em participar num projeto desafiante e inovador.

À empresa parceira, pelo voto de confiança e ajuda ao longo do desenvolvimento desta dissertação.

Aos meus amigos Miguel, António e Alexandre do laboratório F201 pelo bom ambiente que sempre tivemos e boa disposição. Quero deixar um agradecimento muito especial ao Miguel por toda a ajuda, companheirismo, entrega e dedicação para comigo. Tornou tudo muito mais fácil.

Aos meus amigos de sempre e para sempre, Guilherme, Marcelo, Rita, Sandra e Sara por todos os momentos incríveis que tivemos juntos e por me proporcionarem das melhores recordações da minha vida. Sem vocês ao meu lado isto não tinha metade da piada.

A todo o pessoal da FEUP (docente e não docente) que direta ou indiretamente me ajudou a concluir esta fase.

Por último, mas não menos importante, aos meus pais, irmã e família que sempre estiveram comigo a dar-me força e ânimo nos momentos menos bons. Obrigado por estarem sempre aqui. Se pedisse uma família como a nossa não iria conseguir pedir melhor. Obrigado por tudo.

Índice

Resumo	iv
Abstract	vi
Agradecimentos	viii
Lista de figuras	xiv
Lista de tabelas	xvii
Abreviaturas e Acrónimos	xix
Capítulo 1: Introdução	1
1.1 - Contextualização	1
1.2 - Panorama Mundial e Europeu	2
1.3 - Objetivos	3
Capítulo 2: Revisão da Literatura	5
2.1 - Osso	5
2.1.1 - Matriz óssea.....	5
2.1.2 - Células do Osso.....	7
2.1.3 - Remodelação óssea.....	8
2.2 - Medicina Regenerativa	9
2.2.1 - Transplantação.....	10
2.2.2 - Dispositivos Implantáveis.....	11
2.2.3 - <i>Scaffolds</i> em Regeneração Óssea.....	12
2.2.3.1 - Biocompatibilidade.....	12
2.2.3.2 - Porosidade.....	12
2.2.3.3 - Osteocondutividade.....	12
2.2.3.4 - Biodegradabilidade.....	12
2.3 - Biocerâmicos	13
2.4 - Fabrico Aditivo	14
2.4.1 - Biomodelo.....	15
2.4.2 - Ficheiro STL.....	15
2.4.4 - Processamento de Materiais Cerâmicos por Fabrico Aditivo.....	16
2.4.4.1 - Estereolitografia (SL ou SLA).....	17
2.4.4.2 - Impressão por Digital Light Processing (DLP).....	18

2.4.4.3 - Comparação das Técnicas de SLA e DLP	19
2.5 - Suspensões Cerâmicas no Processo de Estereolitografia.....	19
Capítulo 3: Materiais e Métodos	21
3.1 - Matérias - primas	21
3.1.1 - Resina	21
3.1.2 - Pó de Alumina e <i>Bioglass 45S5</i>	21
3.1.3 - Dispersante.....	21
3.1.4 - Líquido de Limpeza das Peças após Polimerização	22
3.2 - Preparação da Suspensão Cerâmica.....	22
3.3 - Caracterização dos Materiais.....	23
3.3.1 - Pós de Alumina e <i>Bioglass 45S5</i>	23
3.3.1.1 - Análise Granulométrica	23
3.3.1.2 - Microscopia Eletrônica de Varrimento	23
3.3.1.3 - Difração de Raios - X	23
3.3.1.4 - Potencial Zeta	23
3.3.2 - Suspensões Cerâmicas	24
3.3.3 - Peças Impressas	24
3.3.3.1 - Ciclos Térmicos Analisados	24
3.3.3.2 - Microscopia Eletrônica de Varrimento	25
3.3.3.3 - Porosidade das peças.....	25
3.3.3.4 - Contração Volumétrica e Variação Mássica	26
3.3.3.5 - Difração de Raios - X	26
3.3.3.6 - Ensaio de Compressão.....	26
3.3.3.7 - Ensaio de Fluidos Biológicos Simulados	27
3.4 - Análise Estatística	27
3.5 - Resina “Home-Made”	27
Capítulo 4: Modelação e Impressão 3D.....	29
4.1 - Equipamento Utilizado	29
4.2 - Modelação: Suportes, Parâmetros e Divisão em Camadas	29
4.3 - Tratamento Pós - Impressão.....	31
Capítulo 5: Resultados e Discussão	33
5.1 - Caracterização de pós de Alumina e <i>Bioglass 45S5</i>.....	33
5.1.1 - Análise por Microscopia Eletrônica de Varrimento	33
5.1.2 - Análise Granulométrica.....	34
5.1.3 - Análise de Difração de Raios - X.....	35
5.1.4 - Análise do Potencial Zeta	36
5.2 - Otimização do Tratamento Térmico	37
5.2.1 - Análise de Contração Volumétrica e da Variação Mássica	37
5.2.2 - Resistência à Compressão	38
5.2.3 - Análise por Microscopia Eletrônica de Varrimento	39

5.3 - Impressão de peças por DLP	39
5.3.1 - Suspensões Cerâmicas	39
5.3.2 - Análise da Porosidade, Contração Volumétrica e Variação Mássica	43
5.3.3 - Tratamento Térmico para Redução da Fissuração	45
5.3.4 - Análise de Difração de Raios - X	48
5.3.5 - Ensaio de Fluídos Biológicos Simulados	48
5.3.6 - Resistência à Compressão	49
5.4 - Especificações da Resina “Home-Made”	49
Capítulo 6: Conclusões e Trabalhos Futuros	51
Referências	53

Lista de figuras

Figura 1.1 - Crescimento do mercado Mundial da impressão 3D até 2020.	3
Figura 2.1 - Diferentes tipos de tecidos existentes no osso.	6
Figura 2.2 - Esperança média de vida a nível global.	9
Figura 2.3 - Ciclo de obtenção de um protótipo ou produto final.	15
Figura 2.4 - Malha de triângulos representados na superfície de um crânio.	16
Figura 2.5 - Esquema do processo de Estereolitografia.	18
Figura 2.6 - Funcionamento da técnica DLP.	19
Figura 3.1 - Ciclos térmicos aplicados às peças.	24
Figura 3.2 - Modelo 1, descrito no Capítulo 4, antes de sofrer o processo de sinterização (esquerda) e após sinterização (direita).	26
Figura 4.1 - Modelo trabecular esférico.	29
Figura 4.2 - Diferentes modelos produzidos no software <i>AnyCubic Photon Slicer64</i>	30
Figura 5.1 - Imagens do pó de alumina obtidas por MEV, com uma ampliação de 1000x (esquerda) e uma ampliação de 5000x (direita).	33
Figura 5.2 - Imagens de pó de biovidro obtidas por MEV, com uma ampliação de 1000x (esquerda) e de 5000x (direita).	34
Figura 5.3 - Análise de distribuição granulométrica dos pós de biovidro e alumina.	35
Figura 5.4 - Difractogramas resultantes da análise de difração de raios-X do pó de alumina, pré e pós sinterização, utilizando o tratamento térmico A.	36
Figura 5.5 - Peça utilizada para realizar ensaios de compressão e analisar a contração volumétrica e variação mássica.	37
Figura 5.6 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 50x. Peças sujeitas a diferentes tratamentos térmicos (esquerda - ciclo A; centro - ciclo B e direita - ciclo C).	39
Figura 5.7 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação Al99,5:0,5BV.	40
Figura 5.8 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação Al99:1BV.	40
Figura 5.9 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação Al95:5BV.	41
Figura 5.10 - Valores de viscosidade em função da taxa de corte das diferentes formulações.	42
Figura 5.11 - Novo ciclo térmico testado para reduzir a fissuração das amostras.	45
Figura 5.12 - Modelo 3 utilizado para análise por MEV.	46
Figura 5.13 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x.	46
Figura 5.14 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x.	47

Figura 5.15 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x (esquerda) e 10 000x (direita).	47
Figura 5.16 - Difratoformas resultantes da análise de difração de raios - X às diferentes peças produzidas que foram sujeitas ao novo ciclo térmico.	48
Figura 5.17 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 10000x.	49

Lista de tabelas

Tabela 1.1 - Classificação de complicações no local dador do enxerto ósseo.	2
Tabela 2.1 - Fatores de sinalização produzidos pelos osteoblastos e respetiva função.	7
Tabela 2.2 - Fatores de promoção de regeneração óssea.	9
Tabela 2.3 - Biomateriais e respetivo tempo cronológico.	11
Tabela 2.4 - Exemplos de materiais biocerâmicos.	13
Tabela 3.1 - Formulações utilizadas para impressão por DLP.	22
Tabela 3.2 - Propriedades dos reagentes escolhidos para incluir nas formulações da resina fotocurável.	28
Tabela 5.1 - Potenciais Zeta médios e desvio padrão das partículas de alumina e biovidro. ...	36
Tabela 5.2 - Valores médios e desvio padrão relativos à contração e à perda de massa das peças correspondentes ao modelo 2, produzido com alumina.	38
Tabela 5.3 - Valores médios de resistência à compressão e desvio padrão de peças produzidas com alumina.	38

Abreviaturas e Acrónimos

3D	Tridimensional
BEA	Acetato de Butoxietil
BMP	<i>Bone Morphogenetic Protein</i>
CQ	Canforquinona
DAC	Desenho Assistido por Computador
DiTMPTA	Di(Trimetil-ol-propano) Tetra-Acrilato
DMAEMA	Amina Terciária Metacrilato de 2-(Dimetil-Amino) Etil
DLP	<i>Digital Light Processing</i>
HA	Hidroxiapatite
FA	Fabrico Aditivo
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
HA	Hidroxiapatite
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor</i>
LOM	Fabricação de Objetos por Camadas
MEV	Microscopia Eletrónica de Varrimento
PDGF	<i>Platelet-derived Growth Factor</i>
PEG	Diacrilato de Poli(Etileno-Glicol)
SBF	<i>Simulated Body Fluid</i>
SLA	Estereolitografia
STL	<i>Standard Triangle Language</i>
SLI	<i>Spline File</i>
TCP	Fosfato Tricálcico
TGF - β	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
UV	Ultra-Violeta
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

Capítulo 1: Introdução

1.1 - Contextualização

A evolução tecnológica na área da saúde, o maior conhecimento científico, e ainda, o importante contributo da melhoria dos cuidados de saúde prestados à maioria da população mundial tem vindo a traduzir-se num exponencial aumento da esperança média de vida. No entanto, vários problemas de saúde começam a surgir afetando o tecido ósseo. Doenças como a osteoporose associada à perda óssea, problemas articulares e, ainda, ferimentos e traumas (fraturas), são das principais lesões que afetam o tecido ósseo. A exigência estrutural e celular deste tecido traduz-se em elevadas dificuldades em mimetizar a sua estrutura cortical e medular (1, 2).

Atualmente, com o avanço das tecnologias de fabrico aditivo, é possível a produção de enxertos ósseos personalizáveis que podem ser utilizados como *scaffolds* para ajudar no processo de regeneração óssea. Aliando esta revolucionária tecnologia à utilização de biocerâmicos adequados para este tipo de tecido, alguns dos problemas associados à regeneração óssea são ultrapassados, traduzindo-se numa melhor qualidade de vida para os pacientes (3).

Há um grande desafio na área de Engenharia de Tecidos no que diz respeito ao tecido ósseo, como já referido é altamente dinâmico. As exigências de resistência mecânica deste tecido são elevadas, estando sujeito a altos esforços mecânicos desde o nascimento até à morte do ser humano.

O uso de biocerâmicos associado à técnica de fabrico aditivo tem sido uma das áreas de maior interesse e investimento por parte de várias empresas da área biomédica e, também foco de investigação realizada por diversos grupos dedicados à regeneração de tecidos. A produção de peças customizadas graças ao fabrico aditivo e a utilização de biocerâmicos capazes de mimetizar a composição da matriz óssea tem trazido bons resultados (4, 5).

O tamanho dos poros, a sua interconectividade e a composição química do enxerto ósseo sintético é facilmente manipulável com recurso à fabricação aditiva e à escolha do biocerâmico pretendido.

Apesar de vantajoso a utilização de biocerâmicos como materiais que permitem mimetizar tecido ósseo no que respeita à sua resistência mecânica (suporte estrutural), existe um comprometimento, muitas vezes, entre conseguir manter essa resistência e tentar que a composição química e estrutura produzida seja idêntica à nativa do tecido ósseo, o que leva a

que as características osteogénicas e osteoindutivas ainda não sejam as ideais, comprometendo uma regeneração tecidual óssea mais eficiente (6, 7).

1.2 - Panorama Mundial e Europeu

Nos dias de hoje, o procedimento comumente mais utilizado para a substituição óssea é o uso de enxertos ósseos autólogos, onde é utilizado um enxerto do próprio paciente e aplicado no local de defeito, no sentido de estimular a formação óssea (8). Há características que devem ser tidas em conta para uma eficaz regeneração óssea, os enxertos devem ser *ostecondutores* - para permitirem a deposição óssea e favorecerem a integração de tecido ósseo adjacente - e *osteoindutores* - devem promover a proliferação e diferenciação das células (9).

Anualmente nos Estados Unidos da América realizam-se perto de 2 milhões de cirurgias em que se utilizam autoenxertos, estes procedimentos têm um custo estimado de 2,5 biliões de dólares, fazendo deste tecido o segundo transplantado com maior frequência, abaixo apenas do sangue (4, 10).

A utilização de enxertos ósseos autólogos não é totalmente isenta de desvantagens e apresenta complicações no local dador do enxerto ósseo, consoante o tempo decorrente da transplantação, como é possível perceber pela tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Classificação de complicações no local dador do enxerto ósseo. Retirado e adaptado de (8).

Inicialmente	Tardamente (consoante extensão da lesão)
Infeção profunda	Perda sensorial
Drenagem prolongada da ferida	Infeção crónica
Hematoma	Dor crónica severa

Torna-se, por isso, necessário recorrer a outras vias e materiais que podem ser utilizados no tratamento de lesões ósseas. Inicialmente, e apesar de ainda serem utilizados, materiais como aço inoxidável e ligas de titânio podem funcionar como próteses de suporte de carga ou dispositivos de fixação de fraturas, uma vez que na maioria dos casos, são implantes permanentes. Estes materiais apresentam uma elevada resistência a forças de tração, no entanto, os metais apresentam módulos de *Young* diferentes o que favorece possíveis fraturas. Assim, a utilização de biocerâmicos, preferencialmente, de fosfato de cálcio tem sido altamente utilizada na área de regeneração óssea (11).

A produção de estruturas porosas à base de biocerâmicos pode ser conseguida por diferentes métodos, sendo os modelos de réplicas dos mais utilizados. Ainda assim, a produção destas estruturas recorrendo às técnicas acima referidas, apresenta desvantagens, sobretudo na porosidade final e da sua interconectividade fatores de alta importância num contexto de regeneração óssea (12). A impressão 3D como forma de tecnologia de fabrico aditivo pode ajudar a colmatar estas situações, uma vez que permite a obtenção de estruturas complexas com uma arquitetura interna controlada, estando em franca expansão como demonstrado na figura 1.1 (13).

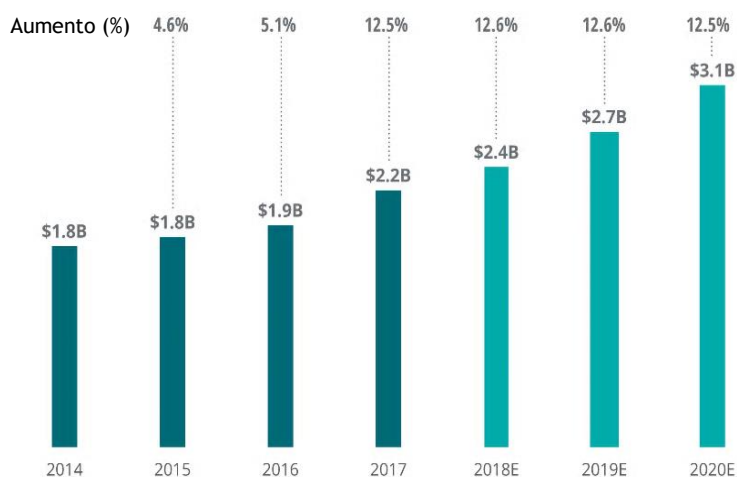


Figura 1.1 - Crescimento do mercado Mundial da impressão 3D até 2020. Fonte: Deloitte ®.

1.3 - Objetivos

Assim, e para tentar combater os problemas acima referidos, alguns objetivos foram propostos durante esta dissertação. O principal objetivo era o de obter um enxerto ósseo cerâmico macroporoso, customizado, biocompatível e bioativo para aplicações dentárias. Assim, para atingir este objetivo procedeu-se:

- À utilização e comparação de pós de alumina e *bioglass 4555* provenientes de diferentes fornecedores e o seu impacto na produção e caracterização de peças 3D macroporosas;
- Ao estudo de diferentes ciclos térmicos de sinterização;
- À análise da resistência mecânica final das peças produzidas, através de ensaios de resistência à compressão.

Um segundo foi o de propor uma formulação de uma resina “*home-made*”, que seja vantajosa economicamente, assim como do ponto de vista ambiental. Para conseguir atingir este objetivo procedeu-se à análise exaustiva da composição de resinas para impressão 3D descrita na bibliografia.

Esta dissertação que foi realizada em colaboração com uma empresa da área de Medicina Dentária permitirá também encontrar soluções para o suporte estrutural de implantes dentários em caso de ausência de osso, através da técnica de fabrico aditivo.

Capítulo 2: Revisão da Literatura

2.1 - Osso

Os ossos que, juntamente com os tendões, cartilagem e ligamentos, formam o sistema esquelético - matriz estrutural que fornece suporte ao nosso corpo - são constituídos por uma matriz óssea extracelular mineralizada que lhes conferem resistência e rigidez. São constituídos por três tipos celulares: osteoblastos, osteoclastos e osteócitos (14, 15).

O tecido ósseo é vital e extremamente dinâmico, estando em constante “movimento” - processos de modulação e remodelação são recorrentes neste tipo de tecido - sendo, por isso, difícil de mimetizar. É composto por dois tipos de tecidos especializados: *tecido calcificado*: contém as células constituintes do osso, matriz (calcificada e orgânica) e ainda um conjunto de fatores solúveis; *tecido vascular*: compreende a medula óssea - habitat para células hematopoiéticas e células estaminais indiferenciadas - e o conjunto de vasos sanguíneos fundamentais para as trocas metabólicas que ocorrem neste tecido (16, 17).

Os ossos têm papéis mecânicos rigorosos, estando sujeitos a altas tensões, sendo responsáveis, como já descrito, pelo *suporte* do nosso corpo, assim como pelo *movimento*, *proteção* de órgãos vitais, *formação sanguínea*, *equilíbrio ácido-base* e *processos de destoxificação* (18).

2.1.1 - Matriz óssea

O tecido ósseo é constituído por uma componente *inorgânica* (entre 60-70% peso seco), que contém cristais de hidroxiapatite (HA) com a fórmula química $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$, uma componente *orgânica* (cerca de 35%) e água (entre 5-8%) (19).

A matriz orgânica do osso é formada em cerca de 90% por colagénio tipo I, sendo os restantes 10% proteínas e células. É nesta matriz que se encontram sistemas de libertação de sinais moleculares que afetam a diferenciação e expressão fenotípica. É também um reservatório de fatores de crescimento importantes para o desenvolvimento do tecido ósseo. A matriz inorgânica é constituída por iões de fosfato e de cálcio que vão originar cristais de hidroxiapatite através de fenómenos de nucleação e cristalização. Outros iões como magnésio, sódio, potássio por exemplo estão presentes, no entanto em menor quantidade. A orientação dos cristais de HA e colagénio é feito de modo paralelo, isto é, os cristais de HA estão orientados paralelamente às fibras de colagénio tipo I, de modo a aumentar a resistência às tensões de compressão e tração sofridas pelos cristais de HA e colagénio, respetivamente (20).

Estrutura

O tecido ósseo é formado por osso cortical (80%) e osso trabecular (20%), a proporção destes dois diferentes tecidos varia consoante o tipo de osso e também a sua localização (14).

- *Ossos Cortical/Compacto:*

Encontra-se na camada externa mais dura dos ossos e é extremamente denso quando comparado com o osso esponjoso. Está rodeado por dois tecidos: internamente pelo endóstio e externamente pelo perióstio. Do ponto de vista estrutural, é constituído por canais de *Volkman*, vasos sanguíneos, nervos, osteócitos, osteões e lacunas (21). Um osteão é formado por lamelas ósseas dispostas concentricamente em torno de um canal central (canal haversiano - local de passagem de vasos sanguíneos e nervos). Entre as lamelas existem lacunas que consistem em espaços ocupados por osteócitos, cada lacuna contém apenas um osteócito (22). Estas células comunicam através de junções que permitem que as células passem para as vizinhas pequenas moléculas e iões, recebendo nutrientes dos vasos sanguíneos. As lamelas são formadas por fibras de colagénio que se enrolam de forma alternada, isto é, enrolam-se numa determinada direção numa lamela, e na direção oposta na lamela seguinte. Este arranjo de camadas fortalece o osso conferindo-lhe alta resistência e capacidade de suportar elevadas tensões mecânicas (21).

- *Ossos trabecular/esponjoso:*

O osso trabecular é altamente poroso, tendo menos matriz óssea e mais espaço em comparação com o osso compacto. Esta estrutura é formada por inúmeros espaços medulares unidos por trabéculas - estruturas formadas por camadas de osso - que fornecem suporte para a medula óssea preencher os espaços intertrabeculares. Estes espaços entre trabéculas, como já referido, contêm medula e vasos sanguíneos que fornecem uma resposta às necessidades fisiológicas celulares entre as quais, nutrição e secreção de metabolitos. Os osteócitos que estão localizados nas lacunas comunicam com outros osteócitos através de canalículos, não sendo necessários canais centrais, uma vez que a irrigação sanguínea e a distância dos osteócitos aos vasos sanguíneos é reduzida (14). Na figura 2.1 é possível, do ponto de vista anatómico, comparar os diferentes tipos de tecido ósseo.

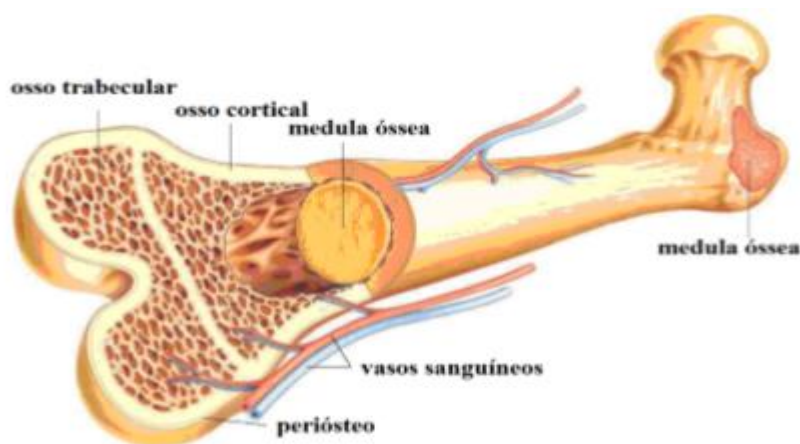


Figura 2.1 - Diferentes tipos de tecidos existentes no osso. Retirado e adaptado de (23).

2.1.2 - Células do Osso

Formação de osso: linhagem osteoblástica

- *Células osteoprogenitoras*

Estas células encontram-se na medula óssea, no perióstio (membrana diáfise) e no endóstio (membrana do canal medular). São células que já se encontram comprometidas para a linhagem óssea, mas não se encontram ainda totalmente diferenciadas. Têm capacidade de se dividirem e diferenciarem em osteoblastos após uma estimulação adequada. Derivam de células-tronco mesenquimais (24).

- *Osteoblastos*

São responsáveis pela formação de novo osso, apresentam uma morfologia cuboide e apenas um núcleo. Sintetizam também colagénio e substâncias da matriz que constituem o osso desmineralizado inicial ou osteoide. A produção de fosfatase alcalina por parte destas células é também importante na mineralização óssea. Este marcador dos osteoblastos permite analisar a sua maior ou menor diferenciação, uma vez que a maior expressão desta enzima está associada à diferenciação progressiva dos osteoblastos (25). Uma parte dos osteoblastos ficam retidos no interior da matriz óssea orgânica e diferenciam-se em osteócitos; as restantes células permanecem à superfície do osso, tornando-se células inativas do revestimento ósseo. Outro papel importante destas células é a expressão de fatores de sinalização solúveis cuja ação no osso se encontra esquematizada na tabela 2.1. Os osteoblastos derivam de células estaminais mesenquimais multipotentes (24).

Tabela 2.1 - Fatores de sinalização produzidos pelos osteoblastos e respetiva função. Adaptado de (25).

Fator	Função
BMP's	Desenvolvimento
TGF - β	Formação e Reabsorção
IGF's	Crescimento e Mineralização
FGF's	Formação
VEGF's	Angiogénese, reparação e remodelação
PDGF	Formação

- *Osteócitos*

São osteoblastos diferenciados, embebidos na matriz óssea: cada um ocupa uma lacuna junto ao perióstio. Os osteócitos correspondem a 90% das células ósseas, contra 4-6% de osteoblastos e 1-2% de osteoclastos, fazendo destas células a mais abundante na matriz e superfície óssea (26). Entre essas lacunas, as células formam uma rede complexa e interconectiva de projeções citoplasmáticas - canalículos - que tornam permeável a matriz óssea, permitindo a difusão de nutrientes, sinais químicos e lixo metabólico entre os osteócitos. Estas células não se dividem nem formam osso, apenas delimitam o tecido ósseo e são

responsáveis pela manutenção da integridade da matriz óssea, através da manutenção homeostática da densidade óssea e das concentrações sanguíneas dos iões cálcio e fosfato (21).

- *Osteoclastos*

Encarregam-se da reabsorção/degradação de tecido ósseo, encontram-se em contacto com uma superfície óssea calcificada e em zonas de reabsorção. São células multinucleadas, de grandes dimensões (com um diâmetro até 100 µm), ricas em lisozima e pertencem à família dos monócitos. Estas células encontram-se em cavidades na superfície óssea, chamadas zonas de reabsorção ou lacunas de *Howship*. Os osteoclastos aderem à superfície da matriz óssea e degradam o osso a partir da acidificação e proteólise da matriz e cristais de hidroxiapatite. O processo de reabsorção óssea compreende várias etapas: *a)* inicialmente ocorre a adesão dos osteoclastos à matriz óssea; *b)* segue-se a criação de um microambiente extracelular isolado, rodeado por uma membrana; *c)* ocorre a dissolução da componente inorgânica do osso por acidificação dos componentes extracelulares - este processo é mediado pela H⁺ATPase: as bombas de hidrogénio libertam iões de hidrogénio e os iões cloreto são atraídos por forças iónicas, originando deste modo ácido clorídrico (HCl); o HCl, com um pH de aproximadamente 4, dissolve os minerais do osso; a degradação da matriz orgânica é posterior e ocorre por ação das lisozimas (colagenase e catepsinas) que digerem a componente orgânica; por último, os osteoblastos vão ocupar os espaços que sofreram degradação para originar novo osso. Os osteoclastos derivam das células hematopoiéticas mononucleadas (14, 21, 27).

Como já referido, o tecido ósseo é extremamente dinâmico e, em grande parte, deve-se ao processo contínuo de remodelação óssea, em que se verifica uma constante degradação e substituição do tecido ósseo. Este processo é conduzido por osteoclastos e osteoblastos nas superfícies ósseas.

2.1.3 - Remodelação óssea

Ao longo da vida o osso sofre fenómenos de remodelação, há a formação de unidades multicelulares (agregado de osteoclastos e osteoblastos) que vão removendo matriz óssea antiga substituindo-a por uma nova matriz óssea. A vida útil destes agregados celulares é de cerca de 6 meses mas sabe-se que todo o esqueleto é renovado a cada 10 anos, estimando-se uma taxa de renovação de aproximadamente 10% ao ano (28).

No sentido de garantir a homeostase do tecido ósseo, é necessário garantir que existe um equilíbrio entre a taxa de reabsorção/degradação e a taxa de formação/reparação do osso.

- *Reparação óssea:*

O tecido ósseo tem a capacidade de cicatrizar de forma natural no caso de pequenas fraturas sem que haja uma alteração anatómica considerável. O processo de reparação óssea engloba quatro etapas principais; em primeiro lugar - *formação de um hematoma* - fase inicial do processo de cicatrização, sendo uma fase crítica e com forte influência no resultado da cicatrização. Com o início da inflamação inicia-se a migração de células mesenquimais, células endoteliais e imunes em direção à região de dano. A rutura dos vasos sanguíneos no osso e no perióstio circundante levam à formação de um hematoma, que origina um coágulo interrompendo o sangramento; numa segunda etapa - *formação de calo* - há produção de uma massa de tecido (calo) que se forma no local da fratura e, permite, conectar as extremidades do osso. A ação dos osteoblastos é importante nesta etapa, ocorrendo de forma expressiva a

sua proliferação, iniciando a formação de osso, de modo, a unir as extremidades; na terceira etapa - *ossificação do calo* - o calo final vai-se formando, de forma demorada, à medida que a cartilagem é reabsorvida e substituída por novo tecido ósseo, permitindo que o tecido fibrocartilágneo inicial origine novo osso; na última etapa - *remodelação óssea* - a reparação é concluída quando o calo é totalmente substituído por um osso compacto (tecido mineralizado organizado) (2).

É necessário ter em conta que há vários fatores que ajudam a promover a regeneração/cicatrização óssea, estando esquematizados parte deles na tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Fatores de promoção de regeneração óssea. Adaptada de (29).

Promoção
Juventude
Máximo contacto entre fragmentos
Alta vascularização
Estímulos mecânicos
Hormonas adequadas

2.2 - Medicina Regenerativa

Os contributos e avanços tecnológicos na área da Medicina e da Ciência têm contribuído de forma expressiva para um aumento significativo da esperança média de vida: em 1920 situava-se nos 40 anos, em 2009 passou para os 78,89 anos estando atualmente situada nos 84,32 (29). Como é de esperar os países desenvolvidos apresentam maior esperança média de vida quando comparado com países em desenvolvimento como é possível verificar a partir da figura 2.2.

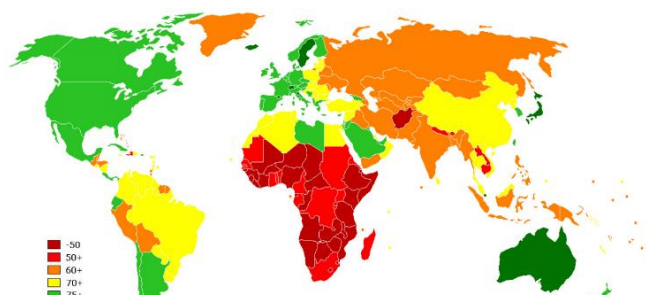


Figura 2.2 - Esperança média de vida a nível global (29).

Associado a um aumento exponencial da esperança média de vida surgem novos problemas de saúde que é necessário combater, como é o caso do envelhecimento da população e dos novos desafios que daí advêm, sobretudo com a maior expressão de doenças crónicas - doenças de longa duração e, geralmente, de progressão lenta, com maior prevalência em adultos com

mais de 65 anos (30). Atualmente existem tecnologias que permitem a reparação e regeneração de tecidos e órgãos (31), através de diversos mecanismos, tais como:

- Transplantação (auto-, alo- ou xenotransplantação);
- Administração de produtos metabólicos;
- Dispositivos implantáveis;
- Organogénese.

A área de engenharia regenerativa permite o desenvolvimento e/ou manipulação de moléculas, células ou órgãos para reparar, substituir ou suportar partes do corpo defeituosas, tem como objetivo recuperar a função perdida de determinada região. É importante salientar que as técnicas acima enumeradas, podem ser usadas de forma combinada o que ajuda a compreender o enorme “leque” de opções que a Engenharia de Tecidos engloba.

2.2.1 - Transplantação

É a tecnologia mais utilizada pelos cirurgiões por ter altas taxas de sucesso. Foi realizado o primeiro transplante em 1954 a um rim (32). Há três tipos de enxertos que podem ser realizados: auto-transplantação - ocorre transplantação de tecido de uma região do corpo para outra, do mesmo indivíduo; alo-transplantação - são enxertos retirados de um indivíduo diferente, mas da mesma espécie. Neste caso de transplantação são utilizados muitas vezes cadáveres dos quais se extraem tecidos para utilização em pessoas vivas que deles necessitem; xeno-transplantação - um fragmento/enxerto de tecido é retirado de um dador de uma espécie e colocado no corpo de outra espécie (uso frequente de animais) (33). Esta técnica apresenta limitações que obrigam a uma evolução na área da transplantação médica, bem como na dos materiais que podem ser utilizados para este fim. A ausência de órgãos suficientes impede que esta técnica esteja acessível a toda a população, a rejeição crónica do enxerto (implicando o uso de imunossuppressores provocando efeitos colaterais), e ainda, a morbilidade no local dador são dos principais problemas associados à transplantação (31).

Para colmatar estas situações, são utilizados dispositivos implantáveis que fornecem suporte estrutural e permitem a regeneração tecidual. Dependendo da região afetada e da extensão do dano podemos utilizar estes tipos de materiais. Existem três gerações de implantes que se podem dividir da seguinte forma (34):

- **Primeira geração de implantes:** usados para uma situação especial e imediata, não sendo necessário qualquer planeamento prévio. Neste tipo de geração de implantes não há interligação nem conhecimentos científicos e/ou tecnológicos; os materiais usados são inertes, não originando reação imune no organismo; enchimentos de ouro, dentes de madeira, são exemplos destes dispositivos;
- **Segunda geração de implantes - implantes *fabricados*:** desenvolvidos nos anos 80 através de colaborações entre médicos e engenheiros; implantes dentários e ortopédicos de ligas de titânio, implantes ortopédicos Co-Cr-Mo, válvulas cardíacas e pacemakers fazem parte desta geração de implantes;

- **Terceira geração:** com o propósito de induzir uma regeneração total com o mínimo vestígio possível da implantação; utilização de dispositivos poliméricos e de outros materiais modificados.

É importante ressaltar que existem materiais de segunda geração que são utilizados ainda nos dias de hoje - como é o caso das ligas de titânio e implantes ortopédicos Co-Cr-Mo -, nos materiais de terceira geração os conceitos de biocompatibilidade, biodegradabilidade, a própria interação nas interfaces dispositivo/tecido são motivo de estudo quando a sua implantação. O tipo de materiais utilizados foi sofrendo alterações com o avanço tecnológico e científico, ainda assim, é possível fazer uma compilação de alguns materiais utilizados bem como do tempo cronológico em que foram descobertos estando esquematizados na tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Biomateriais e respetivo tempo cronológico. Retirada e adaptada de (34, 35).

Tempo Cronológico	Exemplos de Biomateriais
3000 A.C	Suturas de linho para fechar feridas
600 A.C	Ouro para material odontológico
1504	Prótese em ferro para mão
1847	Amálgamas dentárias em prata
1886	Placas ósseas em aço inoxidável
1888	Lentes de contacto de vidro
1930	Primeiras articulações ósseas metálicas
1941	Implante de celulose (primeiro polímero)
1969	<i>NovaBone</i> ®
1985	<i>Biovidro</i> ®
1996	<i>Carticel</i> ®

2.2.2 - Dispositivos Implantáveis

Associando a regeneração de tecidos, em concreto ao tecido ósseo, tem sido estudado de forma exaustiva a utilização de *scaffolds* 3D - estruturas micro e macro porosas (sintéticas ou naturais) que fornecem suporte estrutural e mecânico às células (35). São desenvolvidas no sentido de mimetizar a estrutura, facilitando a vascularização e regeneração do novo osso. É importante realçar a diferença entre implantes e *scaffolds*. Os implantes são utilizados com o objetivo de fornecer suporte mecânico, não implicando a presença de porosidade que permite a regeneração óssea por ação celular. Os *scaffolds* do ponto de vista estrutural são distintos, como já referido, são estruturas micro e macroporosas que têm como principal função estimular o desenvolvimento celular, levando à sua fixação, expansão e diferenciação com consequente regeneração e crescimento tecidual (36, 37). São desenvolvidos e aprimorados do ponto de vista mecânico para promover a regeneração tecidual.

2.2.3 - *Scaffolds* em Regeneração Óssea

Há requisitos necessários para que estas estruturas consigam desempenhar o seu papel *biocompatibilidade*, *porosidade*, *osteocondutividade* e *biodegradabilidade* são palavras-chaves para o sucesso de *scaffolds* em regeneração tecidual óssea (38).

2.2.3.1 - Biocompatibilidade

Biocompatibilidade pode ser definida como a propriedade de ser biologicamente compatível, não causando dano e/ou toxicidade, evitando o desencadear de uma resposta imunológica num tecido vivo (39). O uso de *scaffolds* com esta característica é fundamental para não lesionar regiões tecidulares saudáveis. Vários tipos de biocerâmicos são utilizados para a regeneração óssea, sobretudo materiais à base de fosfatos de cálcio, como a hidroxiapatite e o fosfato tricálcico pois são quimicamente semelhantes com a componente inorgânica do osso, e por isso, apresentam boa biocompatibilidade e bioatividade.

2.2.3.2 - Porosidade

Porosidade é definida como a percentagem de um espaço vazio num sólido, sendo uma propriedade morfológica independente do material. A existência de poros e interconectividade num *scaffold* é fundamental para o crescimento celular. Em primeiro lugar, por permitir a migração celular, e posteriormente, para garantir a irrigação sanguínea necessária para a proliferação das células responsáveis pela regeneração óssea. Foi descoberto que macroporos com um diâmetro entre os 200-350 μm são considerados ótimos para o crescimento celular ósseo (38).

2.2.3.3 - Osteocondutividade

Osteocondutividade permite controlar a orientação sob a qual o crescimento ósseo deve ocorrer, preferencialmente, na superfície óssea e nas regiões de porosidade (15). Quanto maior a osteocondutividade do *scaffold* maior será a migração e adesão celular. O parâmetro da osteocondutividade pode ser melhorado e aumentado recorrendo a algumas técnicas, nomeadamente, através da utilização de proteínas específicas derivadas da matriz extracelular (osteocondutoras e indutoras) e ainda, através do revestimento com colagénio de *scaffolds*, uma vez que esta proteína é a que existe em maior abundância no corpo humano e tem um papel estrutural importante na constituição da matriz extracelular.

2.2.3.4 - Biodegradabilidade

Biomateriais degradáveis devem também ser biocompatíveis isto porque os produtos resultantes da sua degradação não devem ser tóxicos (40). A reabsorção/degradação de um biomaterial vai depender de vários fatores, destacando-se o tipo de material utilizado bem como a sua aplicação.

2.3 - Biocerâmicos

Os materiais cerâmicos têm vindo a ser explorados no setor biomédico, sobretudo na área de regeneração óssea. Estes materiais inorgânicos são constituídos por elementos metálicos e não metálicos que se ligam quimicamente entre si. Do ponto de vista estrutural, podem ser cristalinos, não-cristalinos ou uma mistura de ambos. A maioria destes materiais possui elevada resistência mecânica a altas temperaturas, alta resistência à compressão e baixa ductilidade, proporcionando elevada resistência à deformação, o que os torna alicientes para a produção de *scaffolds* que podem ser utilizados na área de regeneração (41).

Podemos classificar os biocerâmicos em três tipos principais, tendo em conta a resposta que provocam no corpo humano. Podem classificar-se em: cerâmicos *bioinertes* (material não provoca uma reação significativa com os tecidos); cerâmicos *bioativos* (há interação com os tecidos e trocas iónicas, formando ligações muito fortes) e, cerâmicos *bioabsorvíveis* (o material vai sendo degradado ao longo do tempo, sendo substituído pelo osso). Na tabela 2.4 encontram-se alguns exemplos de biocerâmicos e a sua categorização (11).

Tabela 2.4 - Exemplos de materiais biocerâmicos. Adaptada de (40).

Cerâmicos	Exemplos de Biocerâmicos
Bioativos	Hidroxiapatite; Bioglass®
Bioinertes	Óxido de alumínio; Óxido de zircónio
Bioabsorvíveis	Fosfato Tricálcico (fases alfa e beta)

Estes biocerâmicos devem possuir as características definidas acima, para o processo de regeneração ser bem-sucedido.

➤ Biocerâmicos para Regeneração Óssea

É sabido que os materiais à base de fosfato de cálcio são os mais utilizados na regeneração óssea, a sua semelhança com a apatite natural do osso, torna-os altamente biocompatíveis e com uma alta bioatividade. Para aplicação clínica utiliza-se atualmente, HA e fosfato tricálcico (TCP) nas fases α e β , estando também a ser estudado o uso de biocerâmicos como alumina e zircónia. As características destes quatro biocerâmicos são clarificadas de seguida:

- **HA:**

Com fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ apresenta algumas desvantagens: o elevado tempo de permanência deste composto no organismo (taxa de reabsorção baixa) e baixas propriedades mecânicas que levam a que este biocerâmico não possa ser utilizado em situações que exigem um grande suporte de carga (42).

- **TCP:**

Com fórmula química $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ é formado por cerca de 39% em massa de cálcio e 20% em massa de fósforo. Este composto apresenta-se sob duas formas alotrópicas: α e β . Estas duas formas apresentam taxas de absorção diferentes; a β é totalmente absorvida em alguns meses, ao contrário da α que é rapidamente absorvida (43).

- Alumina:

Com fórmula química Al_2O_3 apresenta uma estrutura cristalina hexagonal compacta, que lhe conferem elevada dureza e resistência à compressão e abrasão. Do ponto de vista químico, as suas fortes ligações iónicas e a presença de oxigénio tornam este biocerâmico quimicamente inerte. É amplamente utilizado devido às suas boas propriedades mecânicas, mais propriamente à elevada resistência mecânica. É utilizada, principalmente, na colocação em próteses de cabeças femorais e aparelhos ortodônticos (44).

- Zircónia:

Com fórmula química ZrO_2 apresenta uma estrutura polimórfica com três diferentes formas de cristal: cúbica, monocíclica e tetragonal. As diferentes formas são observadas a temperaturas diferentes, sendo a forma tetragonal predominante a temperaturas mais elevadas ($2370\text{ }^\circ\text{C}$) (45). Comparando com a alumina, este cerâmico apresenta maior resistência mecânica, maior tenacidade, mas menor dureza e menor módulo elástico (44). Do ponto de vista de aplicações este material é utilizado essencialmente em próteses de joelho, ombro e materiais odontológicos.

2.4 - Fabrico Aditivo

A fabricação aditiva ou fabrico aditivo (FA) define-se como uma tecnologia que permite a construção de objetos tridimensionais (3D) a partir de um modelo informatizado produzido através de sistemas de desenho assistido por computador (DAC) (46), adicionando, camada a camada de material, seja ele polimérico, metálico ou cerâmico (6) até à obtenção do produto final. Uma das principais vantagens desta técnica é a ausência de restrição geométrica das peças, podendo as mesmas adquirir as formas mais variadas e complexas (47). Do ponto de vista industrial esta técnica tem despertado interesse pois permite a produção de peças únicas ou em lotes pequenos, diminuindo o tempo de produção e consequentemente o prazo de entrega de um produto ao cliente (48).

É necessário descodificar alguns conceitos que fazem parte desta tecnologia, de modo a facilitar a sua compreensão. Teremos de considerar o *biomodelo* que é um ficheiro do tipo *STL* que é obtido a partir dos softwares de modelação e que depois é convertido num ficheiro tipo *SLI* que é lido e interpretado pelas máquinas de impressão 3D, conforme esquema apresentado na Figura 2.3 e - adaptando ao trabalho em causa - o *fabrico aditivo*, aplicado a cerâmicos ou outros materiais. De modo a ser de mais fácil compreensão é esquematizado na figura 2.3 todo o ciclo de obtenção de um protótipo, bem como as etapas subjacentes a todo o processo.

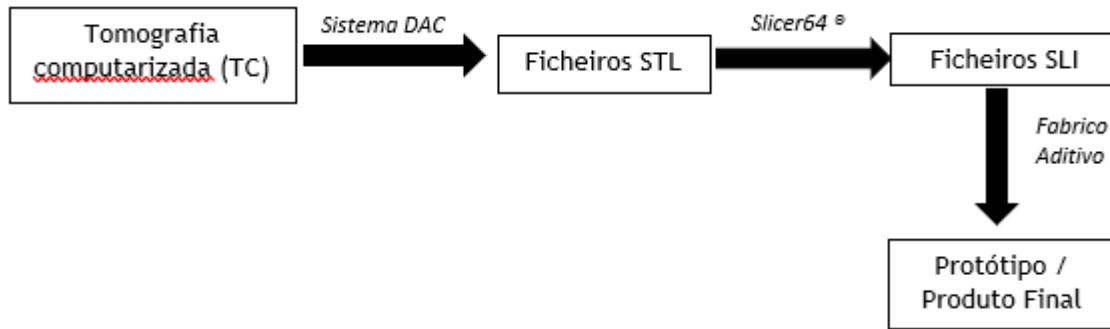


Figura 2.3 - Ciclo de obtenção de um protótipo ou produto final.

2.4.1 - Biomodelo

O conceito de biomodelo consiste num protótipo que pretende replicar a geometria ou morfologia de uma estrutura biológica, podendo ser baseado num modelo fabricado informaticamente (computorizado) ou num protótipo físico (49).

Uma das grandes vantagens da produção destes modelos virtuais a escalas macro - dimensão idêntica à do corpo humano -, é que permitem reproduzir, de forma rigorosa, a componente tecidual e óssea é, por exemplo, a capacidade de executar um planeamento rigoroso de uma cirurgia, bem como a de facilitar, ao próprio paciente, a compreensão dos procedimentos clínicos a que será sujeito (50). Estes biomodelos são manipulados pelo software DAC (Desenho Assistido por Computador - nome genérico de sistemas computacionais), que permite modelar e dimensionar o modelo de acordo com as especificações pretendidas. As tecnologias de diagnóstico e imagem médica que permitem a observação de estruturas biológicas em formato 3D são geradas usualmente a partir de tomografias computadorizadas (TAC), baseando-se na utilização de raios-X que incidem na região que se pretende analisar (51).

2.4.2 - Ficheiro STL

STL é uma abreviatura de “*Standard Triangle Language*”. Estes ficheiros são produzidos a partir de um programa de DAC e são amplamente utilizados na impressão 3D e na prototipagem rápida. De seguida, e de modo a originar um ficheiro STL, ocorre uma remodelação da geometria do modelo em pequenos triângulos fornecendo uma lista tripla de coordenadas, x, y e z (52). A complexidade e o grau de detalhe da superfície determinam o número de triângulos; se a complexidade da superfície for maior, o número de triângulos será elevado; se, por outro lado, a complexidade da superfície for menor, o número de triângulos será reduzido. Na figura 2.4 é possível ver um exemplo da malha de triângulos representados na superfície de um crânio.

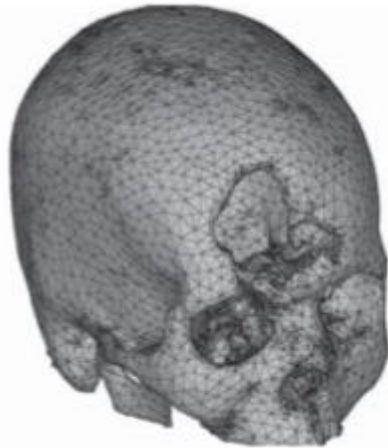


Figura 2.4 - Malha de triângulos representados na superfície de um crânio. Retirado e adaptado de (10).

2.4.3 - Ficheiro SLI

Após se obter o modelo STL, este é decomposto em camadas, que atingem espessuras na ordem das décimas de milímetro e que correspondem às diferentes camadas de material que vão ser impressas posteriormente, originando o ficheiro SLI (53). Este ficheiro é gerado automaticamente por um *software* de programação. No âmbito desta dissertação, será usado o programa *ANYCUBIC Photon Slicer64*®.

2.4.4 - Processamento de Materiais Cerâmicos por Fabrico Aditivo

As tecnologias de fabrico aditivo têm vindo a ganhar expressão na produção de materiais cerâmicos. Os processos convencionais atuais exigem o uso de várias ferramentas e moldes (54). Além do mais, nalguns casos, após as peças serem sujeitas ao processo de sinterização é necessário maquiná-las, o que implica o uso de ferramentas dispendiosas, geralmente formadas por ferramentas em diamante - material extremamente duro e ideal para este tipo de processo. A indústria utiliza diamantes sintéticos, normalmente com tamanhos padronizados até 10 mm, chegando a ter 30 mm de diâmetro máximo (55) nos processos convencionais, não sendo necessário maquinar as peças impressas por técnicas 3D.

Os processos de fabrico aditivo são usualmente classificados de acordo com a norma ASTM F42. Focando o fabrico aditivo associado ao processamento de cerâmicos podemos categorizar sete técnicas que podem ser usadas:

- **Fotopolimerização Vat:** implica a presença de uma resina fotocurável, que quando exposta à luz de um determinado comprimento de onda polimeriza, solidificando e originando uma camada do objeto pretendido (56). Após a formação de cada camada, a plataforma de construção desloca-se de modo a permitir nova polimerização da resina. Como desvantagens desta técnica regista-se o elevado custo comercial destas resinas, ser um processo lento e ainda acresce o facto de serem formadas por alguns constituintes prejudiciais para o ambiente, tais como a agentes meta e oligo acrilados. O facto desta técnica utilizar materiais no estado líquido vai impedir um suporte estrutural à peça, sendo necessário adicionar suportes durante o processo de fabrico. A adição de suportes deve ser feita, por isso, de modo controlado, uma vez que quanto maior for o número de suportes adicionados, maior a probabilidade de fratura da peça durante a retirada dos mesmos (6, 57, 58). A estereolitografia e a técnica de

processamento de luz digital (*digital light processing* - DLP) são exemplos deste tipo de tecnologia;

- **Extrusão com Liberdade de Forma (*Extrusion FreeForming* - EFF):** neste processo ocorre a deposição contínua de uma suspensão cerâmica, camada-a-camada, que é depositada numa seringa e extrudida através de um orifício. A quantidade e velocidade de deposição de material é controlado com recurso a um pistão (59);
- **Deposição Direta de Energia (DDE):** esta técnica apresenta semelhanças com o processo de extrusão. A principal diferença relaciona-se com o facto de o bico extrusor se poder deslocar em várias direções. O material é usado na forma de pó, sendo fundido por um feixe de eletrões ou um laser após a sua deposição. É uma técnica que apresenta a capacidade de permitir controlar a estrutura granulométrica do pó usado, traduzindo-se na produção de peças com uma boa qualidade superficial e baixa distorção (60);
- **Fabricação de Objetos por Camadas (LOM):** a peça é produzida a partir da adição sequencial de camadas sólidas. As camadas produzidas são, posteriormente, prensadas e coladas utilizando diversas técnicas, sendo a mais utilizada a colagem térmica, por ação da temperatura. É necessária uma preparação do material a utilizar, geralmente são usados pós cerâmicos de granulometrias diferentes, que são misturados por ação de um agente ligante/reticulador. A utilização desta técnica permite formar estruturas com tensões internas muito baixas, o que se traduz em alta durabilidade e baixa fragilidade das peças (61);
- **Fusão de Pó (*Powder Fusion*):** ocorre a fusão de partículas de pó criada pela energia térmica gerada por um laser ou feixe de eletrões. A adição sucessiva de camadas de pó, seguida da sua fusão permite a produção do modelo 3D (6). A principal vantagem desta técnica é permitir utilizar diversos materiais e não implicar o uso de suportes, os quais como já referido, contribuem para aumentar a fragilidade da peça final;
- **Jateamento de Material (*Material Jetting*):** ocorre deposição de gotículas de um líquido fotossensível que polimeriza quando exposto à luz ultravioleta. A saída do material líquido é desencadeada por um método térmico ou piezoelétrico responsável por aumentar a pressão dentro do bico móvel levando à saída das gotículas (62);
- **Jateamento do Ligante (*Binder Jetting*):** este processo difere do acima indicado por utilizar dois tipos de materiais diferente, um ligante e um material à base de pó. As partículas de pó só são unidas quando o agente aglutinante é extrudido pela cabeça de impressão (63). Nesta técnica o material produzido apresenta boas propriedades mecânicas, no entanto, apenas deve ser utilizada quando o material a extrudir apresenta valores de viscosidade no intervalo de 10 a 12 mPa (64).

Como já referido acima, as técnicas de fotopolimerização Vat englobam a estereolitografia SLA bem como a técnica de DLP. No âmbito desta dissertação, será usada a técnica de DLP e explicado o seu funcionamento.

2.4.4.1 - Estereolitografia (SL ou SLA)

A estereolitografia (SLA - também conhecida como fabricação ótica, foto-solidificação ou impressão de resina (65)) é uma técnica que permite a fabricação aditiva de peças cerâmicas complexas por foto-polimerização seletiva de uma suspensão fotocurável contendo um monômero fotocurável, foto-iniciador e um pó cerâmico (66). A técnica de SLA depende da polimerização, camada a camada, e da solidificação da resina líquida de um foto-polímero, por ação de um laser na região ultravioleta - UV. Esta técnica é um processo usado normalmente para a fabricação de peças poliméricas tridimensionais com as mais variadas formas (66, 67).

No caso do fabrico de materiais cerâmicos, utiliza-se uma suspensão cerâmica que é introduzida num bocal que vai permitir depositar, de forma controlada, uma determinada quantidade de suspensão. Com base na informação fornecida pelo sistema DAC, um feixe de

laser (da região ultravioleta) vai incidir sobre a suspensão, polimerizando a resina. De forma sucessiva, vão se formando camadas até se obter como produto final a peça cerâmica em verde (68).

As principais desvantagens deste processo são o facto de requerer suportes para a peça que está a ser impressa e os materiais usados serem extremamente caros. O processo de construção das peças é lento (69). Na imagem 2.5 é possível perceber o esquema do processo de estereolitografia.

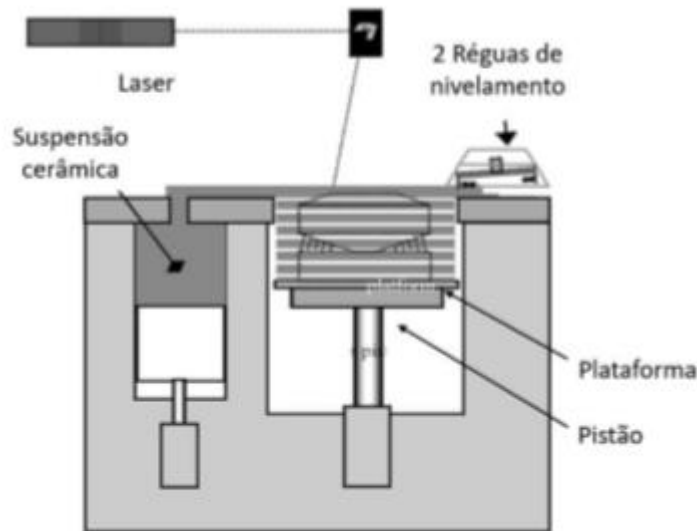


Figura 2.5 - Esquema do processo de Estereolitografia. Retirado e adaptado de (69).

2.4.4.2 - Impressão por Digital Light Processing (DLP)

Este processo também conhecido como *Film Transfer Imaging - FTI* utiliza materiais foto polimerizáveis por radiação ultravioleta - UV e encontra-se representado na imagem 2.6 Num recipiente (tanque) é colocada uma suspensão formada por uma mistura de monómeros e oligómeros metacrilados, diluentes não reativos e, ainda, foto iniciadores (65). Esta suspensão é depois carregada com os pós cerâmicos pretendidos, formando a suspensão cerâmica. De seguida é exposta à ação UV polimerizando camada-a-camada e de forma sucessiva a suspensão cerâmica dando origem ao corpo em verde (70).

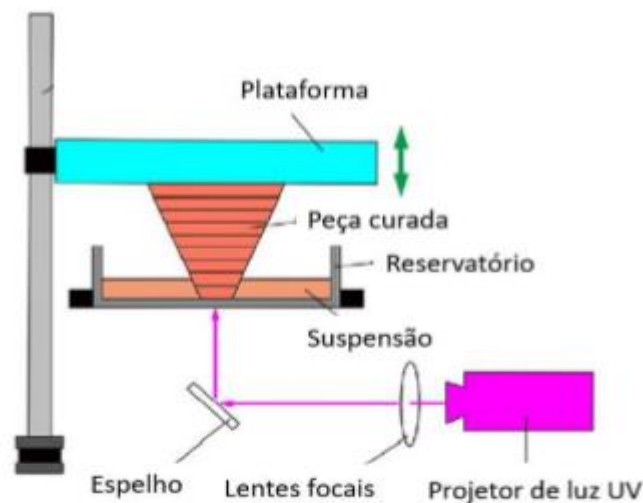


Figura 2.6 - Funcionamento da técnica DLP. Adaptado (69).

2.4.4.3 - Comparação das Técnicas de SLA e DLP

No caso da técnica de impressão por DLP a radiação UV projeta toda a camada de resina que se pretende polimerizar, por SLA o laser projeta o feixe ponto por ponto (71). A técnica de DLP apresenta alta resolução quando comparada com SLA (72). Ainda assim, o custo associado a DLP é extremamente elevado, os preços dos equipamentos assim como das resinas comerciais são muito altos e os compostos resultantes da sua cura podem ser tóxicos (73).

2.5 - Suspensões Cerâmicas no Processo de Estereolitografia

Neste processo é essencial a existência de uma resina fotocurável, que é composta de forma genérica por monómeros e oligómeros, um fotoiniciador, diluentes e diferentes aditivos utilizados para a estabilização de partículas cerâmicas, nomeadamente dispersantes (74). No processo de fabrico aditivo, em especial quando se utiliza suspensões cerâmicas, a viscosidade da mesma é crucial - idealmente de 2,47 Pa a 3,03 Pa (72). O carregamento da resina com uma alta carga de cerâmicos embora seja uma variável fundamental para a obtenção de um compacto em verde homogéneo, vai influenciar de forma negativa os parâmetros referidos acima, sendo por isso, necessário o uso de dispersantes. O uso de diluentes não reativos também pode ser benéfico, uma vez que, reduz a viscosidade da suspensão (72). De seguida, será abordada de forma mais específica a ação e papel de cada um dos constituintes das resinas fotocuráveis necessárias para o processo de estereolitografia.

➤ Resinas fotocuráveis

Independentemente da tecnologia que esteja a ser utilizada, para que o processo de fotopolimerização ocorra é necessário a presença de alguns constituintes: *monómero* curável por UV, capaz de reticular para obter um objeto final duro e um *fotoiniciador* que é ativado quimicamente sob ação da fonte de radiação, iniciando o processo de polimerização. Existem dois grandes grupos de resinas que diferem no processo de polimerização: resinas à base de constituintes metacrilados e resinas epóxi. A adição de mais compostos como diluentes e/ou dispersantes é utilizada para otimizar parâmetros importantes na técnica de estereolitografia, como a viscosidade da suspensão, por exemplo (73).

As resinas epóxi apresentam a principal vantagem de sofrerem uma contração menor (2% a 3% contração em volume) quando comparadas com as resinas metacriladas. A composição química mais complexa e instável dos componentes epóxi destas resinas leva, muitas vezes, à formação de reações indesejadas que pode comprometer o processo de impressão (75).

- **Monómeros:**

Os monómeros são moléculas de pequenas dimensões que se ligam quimicamente a outros monómeros, originando polímeros. No que diz respeito a fotopolímeros, a sua maioria é constituída por monómeros acrilados ou metacrilados que podem variar de 10 a 40 % em peso, sendo o seu uso preferencial, uma vez que permitem uma cura mais lenta, traduzindo-se em menores distorções no objeto final (75).

- **Fotoiniciadores:**

Estas moléculas têm a capacidade de converter a energia luminosa em energia química, levando à produção de radicais livres ou catiões quando sujeitos à ação dos raios UV, desencadeando uma reação fotoquímica. A utilização de fotoiniciadores apresenta ainda alguns problemas: peças com espessuras das camadas superiores a 100 µm apresentam uma taxa de impressão mais lenta, uma vez que há maior dificuldade de penetração dos fótons UV; a exposição prolongada à luz UV pode desencadear reações paralelas indesejadas (76).

- **Agentes Dispersantes:**

Os agentes dispersantes têm a função de estabilizar as soluções cerâmicas, impedindo a aglomeração e sedimentação das partículas sólidas durante a impressão da peça. A introdução destes agentes permite aumentar a carga de sólidos que pode ser incorporada na resina, aumentando a resistência mecânica das peças depois de sujeitas ao ciclo térmico (77).

- **Diluentes:**

A utilização de diluentes não reativos promove uma reticulação mais rápida das resinas fotocuráveis, tendo um papel importante na viscosidade final da suspensão cerâmica. É mais comum a adição destes diluentes em resinas epóxi, promovendo um endurecimento da resina e uma diminuição da viscosidade (78).

Capítulo 3: Materiais e Métodos

3.1 - Matérias - primas

3.1.1 - Resina

Com base em pesquisas bibliográficas e trabalhos anteriores realizados por este grupo de investigação em que foi feita uma busca exaustiva e completa de resinas comerciais, tendo em conta o preço e características importantes como a viscosidade e densidade, foi escolhida a resina comercial *Theton 3D* ®. Esta resina é fotocurável e pode ser utilizada nas técnicas de impressão DLP e SLA, laboratorialmente é carregada com pós cerâmicos, com o objetivo de criar uma suspensão cerâmica que possa ser impressa em 3D. Sabendo que um elevado teor de sólidos (% m/m) se traduz numa maior resistência mecânica da peça, (38,57) um dos principais objetivos é o carregamento da resina com a maior percentagem de pós possível.

3.1.2 - Pó de Alumina e *Bioglass 4555*

O pó de alumina foi, gentilmente, cedido em amostras pela empresa *ALMATIS* ® e o pó de *bioglass 4555* foi obtido por trituração mecânica com recurso a um almofariz de ágata após obtenção do mesmo pelo método de fusão e vazamento.

Bioglass 4555 é composto por 45% de dióxido de silício (SiO_2), 24,5% de óxido de cálcio (CaO), 24,5% de óxido de sódio (Na_2O) e 6,0% de (P_2O_5), em percentagem mássica (79), e foi obtido pelo método de fusão e vazamento a partir dos seguintes reagentes: Na_2HPO_4 , CaCO_3 , SiO_2 e Na_2CO_3 . O *bioglass 4555* apresenta na sua constituição silício, que fisiologicamente é libertado sob a forma de ião (Si^{4+}), as concentrações deste ião são altas durante o processo inicial de calcificação óssea, promovendo a precipitação de hidroxiapatite.

3.1.3 - Dispersante

No sentido de evitar a aglomeração de pós de alumina e *bioglass 4555* que afetam as propriedades mecânicas da peça e a impressão, foi utilizado um dispersante comercial designado *BYK 190* disponibilizado em pequenas amostras de 100 mL pela empresa *BYK Chemie*

®. O objetivo deste dispersante é melhorar a separação das partículas, tornar a suspensão desfloculada, logo impedindo a sua agregação durante a impressão.

3.1.4 - Líquido de Limpeza das Peças após Polimerização

Após a impressão das peças, existe alguma quantidade de resina que não polimeriza, sendo necessário proceder à sua remoção. O processo de limpeza das peças é de extrema importância, pois pode contribuir para o aparecimento de fissuras e delaminações após sinterização (73). O trabalho desenvolvido anteriormente por membros deste grupo de investigação concluiu, após estudar o efeito de vários solventes, que o isopropanol era o que melhor desempenho apresentava sendo as peças imersas no solvente durante 5 minutos.

3.2 - Preparação da Suspensão Cerâmica

Foi preparada uma mistura formada por três componentes : resina fotopolimerizável comercial, pós pretendidos e um agente dispersante. Os pós e o dispersante foram colocados num agitador 3D (*TURBULA* ® da empresa *WAB*) em diferentes concentrações, como descrito na tabela abaixo, durante 30 minutos. O carregamento da resina é feito de forma gradual, sendo a mistura de pó e dispersante adicionada à resina e, posteriormente, colocada novamente no agitador 3D, de modo, a garantir a boa homogeneidade da suspensão.

Como demonstrado na tabela 3.1, a concentração total de pós incorporados foi constante (55%) mantendo-se também a concentração de agente dispersante. A adição de *bioglass 45S5* foi feita substituindo a alumina de modo a manter sempre a mesma concentração total de pós. O objetivo foi o de analisar o efeito do *bioglass 45S5* na bioatividade da peça final quando comparado com o controlo de alumina e as diferentes concentrações de *bioglass 45S5*.

Tabela 3.1 - Formulações utilizadas para impressão por DLP.

Nome	Concentração pós [% m _{total pó} /V _{resina}]		Agente Dispersante	Concentração agente dispersante [% m/m _{total pó}]
	Alumina	Biovidro		
Alumina	55	0	BYK 190	2,0
Alumina + Biovidro 0,5%	54,5	0,5	BYK 190	2,0
Alumina + Biovidro 1%	54	1	BYK 190	2,0
Alumina + Biovidro 5%	50	5	BYK 190	2,0

De modo a facilitar a escrita e compreensão da presente dissertação serão atribuídas as designações de Al100:0BV a alumina, Al99,5:0,5BV a Alumina + 0,5 % de *bioglass 45S5*, Al99:1BV a Alumina + 1% de *bioglass 45S5* e Al95:5BV a Alumina + 5% de *bioglass 45S5*.

3.3 - Caracterização dos Materiais

3.3.1 - Pós de Alumina e *Bioglass 45S5*

3.3.1.1 - Análise Granulométrica

As análises granulométricas foram realizadas no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto através de um analisador de difração por laser *COULTER LS 230*. O objetivo desta análise é a determinação do tamanho e distribuição granulométrica das partículas.

3.3.1.2 - Microscopia Eletrónica de Varrimento

Os pós de alumina e biovidro foram analisados com recurso ao microscópio eletrónico de varrimento (MEV) para determinar a forma das partículas. Esta análise foi realizada no Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP), utilizando o microscópio eletrónico de varrimento ambiental, de alta resolução, *Quanta 400FEG ESEM/EDAX Genesis X4M*. Como as amostras não são condutoras é necessário um tratamento prévio das amostras antes de serem submetidas a esta análise. Deste modo, os pós foram colocados num suporte de alumínio utilizando fita de carbono adesiva, sendo, de seguida, revestidos por pulverização catódica com um filme fino de ouro/paládio (Au/Pd) realizada através de um dispositivo *SPI Module Sputter Coater* a 15mA ao longo de 120 segundos.

3.3.1.3 - Difração de Raios - X

O pó de alumina foi sujeito a uma análise de difração de raios - X antes e após sinterização. A análise foi realizada na Universidade do Minho e teve como objetivo determinar as fases cristalográficas presentes no pó e a sua cristalinidade antes e após ação do ciclo térmico. Foi utilizado o equipamento *Bruker d8 Discover* da *Bruker*. Os ensaios foram realizados nas seguintes condições: geometria *Bragg*, tempo de integração de 1 segundo e um *stepsize* de 0,02°.

3.3.1.4 - Potencial Zeta

A análise do potencial zeta dos pós de alumina e *bioglass 45S5* foi realizada no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade de Porto. As medições foram realizadas a uma temperatura de 25 °C, preparando suspensões de alumina e *bioglass 45S5* usando como solvente água destilada. Para este ensaio foi utilizado o equipamento *Zetasizer Nano ZS*, medição feita a um ângulo único de 173° (*backscatter*) e um comprimento de onda de 633 nm, as células utilizadas foram as *folded capillary zeta cell dts1070* e os elétrodos formados por berílio/cobre banhados a ouro. Os valores reportados são a média de três leituras com dez corridas em cada leitura.

3.3.2 - Suspensões Cerâmicas

- **Ensaio de Reologia**

Com o objetivo de avaliar qual a influência da concentração de *bioglass 45S5* na viscosidade de cada formulação, foram realizados ensaios de reologia no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto. O equipamento utilizado foi um reômetro rotacional *MCR92 Anton Paar*.

As condições de ensaio foram as seguintes: temperatura de 25 °C, velocidade de corte de 1 a 200 s⁻¹. Para obtenção da curva foram adquiridos 50 pontos em cada ensaio.

3.3.3 - Peças Impressas

3.3.3.1 - Ciclos Térmicos Analisados

Após a etapa de pós-impressão, as peças são submetidas a um ciclo térmico que permite a remoção completa da resina, por combustão, bem como, a sinterização das peças. Assim, foi avaliado o papel de três ciclos térmicos (variando a temperatura máxima atingida, taxa de aquecimento e tempo total do ciclo térmico) na resistência mecânica final da peça - modelo 2, descrito no Capítulo 4. Os diferentes ciclos térmicos (A, B e C) são representados na figura 3.1.

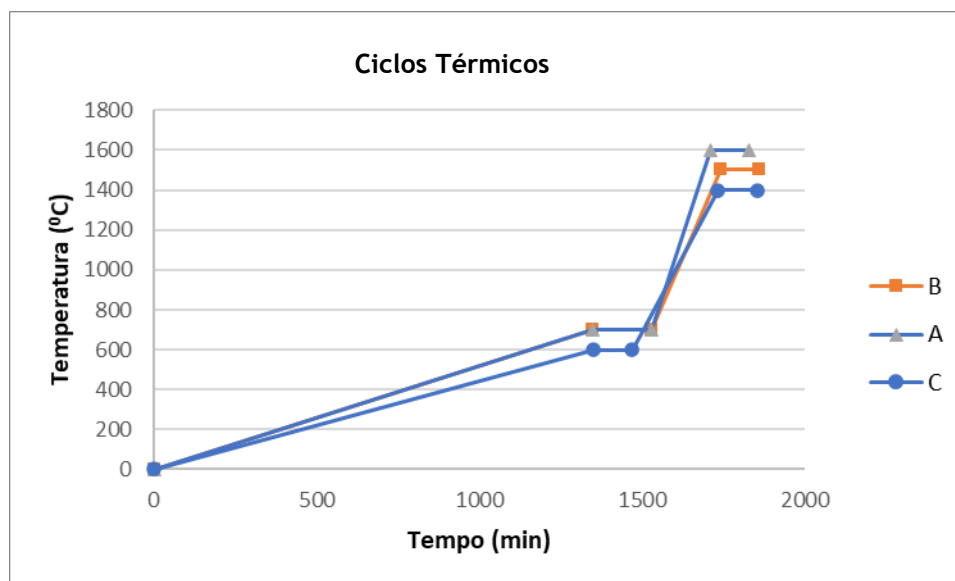


Figura 3.1 - Ciclos térmicos aplicados às peças.

Na figura 3.1 estão representados os diferentes ciclos térmicos a que as peças foram sujeitas. No ciclo térmico A, as peças sofrem um aquecimento a uma taxa de 0,5 °C por minuto, até atingirem o patamar dos 700 °C, onde permanecem por 3 horas para garantir a remoção completa da resina. Posteriormente, há um novo aquecimento a uma taxa de 5 °C por minuto, atingindo os 1600 °C, onde permanece por 2 horas, com o objetivo de sinterizar a peça. No ciclo B, as peças foram sujeitas a um aquecimento com uma taxa de 0,5 °C por minuto, até atingirem os 700 °C onde permanecem por 3 horas. Seguidamente, sofrem novo aquecimento, a uma taxa de 4 °C por minuto atingindo os 1500 °C e onde permanecem 2 horas até completar o ciclo. No

ciclo C e último a ser testado, as peças sofrem um aquecimento a uma taxa de 0,5 °C por minuto, até se chegar aos 600 °C onde são sujeitas a um estágio de 2 horas. No final deste tempo sofrem novo aquecimento a uma taxa de 3 °C por minuto, desde os 600 °C até aos 1400 °C, temperatura na qual permanecem 2 horas. Em nenhum dos ciclos térmicos foi aplicada uma taxa de arrefecimento, tendo este ocorrido naturalmente no forno antes da remoção das peças.

Como já referido, o objetivo dos diferentes ciclos térmicos foi determinar qual deles originava peças com a melhor resistência à compressão, utilizando o modelo 2 para este efeito.

3.3.3.2 - Microscopia Eletrónica de Varrimento

As peças impressas e sinterizadas foram observadas por MEV para determinar a presença de fissuras, delaminações e determinar com mais exatidão a geometria final da peça. A montagem das peças foi feita previamente, em suportes de alumínio com *Araldite*® sendo, de seguida, revestidas com um filme fino de ouro/paládio. A etapa de montagem é de extrema importância e deve ser feita com a máxima cautela, de modo a não danificar as amostras. A pulverização do filme foi realizada através de um dispositivo *SPI Module Sputter Coater* a 15 mA ao longo de 120 segundos e a análise foi realizada no CEMUP com recurso ao microscópio *Quanta 400 FEG ESEM/EDAX Genesis XAM*.

3.3.3.3 - Porosidade das peças

A porosidade das peças foi estimada através dos valores de massa (m) e do volume da peça (V_{total}) correspondentes a medições realizadas às peças após serem sujeitas ao ciclo térmico escolhido. O valor utilizado correspondente à densidade teórica da alumina é de 3,984 g/cm³ e do *bioglass 4555* é de 2,819 g/cm³.

Com recurso às equações 1, 2 e 3 é possível estimar a porosidade das peças.

$$\rho = \frac{m}{V_{sólido}} \Leftrightarrow V_{sólido} = \frac{m}{\rho} \quad (1)$$

$$V_{total} = V_{sólido} + V_{poros} \Leftrightarrow V_{poros} = V_{total} - V_{sólido} \quad (2)$$

$$\% \text{ porosidade} = \frac{V_{total} - \frac{m}{\rho}}{V_{total}} = \frac{V_{total} - V_{sólido}}{V_{total}} = \frac{V_{poros}}{V_{total}} \times 100 \quad (3)$$

3.3.3.4 - Contração Volumétrica e Variação Mássica

No decorrer do processo de sinterização a contração volumétrica das peças é inevitável, assim como a sua variação mássica devido à combustão da resina. Para proceder a esta análise foi necessário efetuar medições nas peças relativamente à massa, em gramas (g), e aos três eixos da peça (x,y e z), em milímetros (mm) com recurso a um paquímetro, antes e após tratamento térmico. As equações 4 e 5 foram utilizadas para permitir calcular a contração volumétrica e variação mássica. Foram utilizadas 3 amostras por ciclo (n=3/ciclo).

$$\% \text{contração volumétrica} = \frac{V_{\text{inicial}} - V_{\text{final}}}{V_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (4)$$

$$\% \text{variação mássica} = \frac{m_{\text{inicial}} - m_{\text{final}}}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (5)$$

A figura 3.2 seguinte obtida a partir de uma peça antes e após sofrer a sinterização, torna evidente a contração volumétrica da peça.

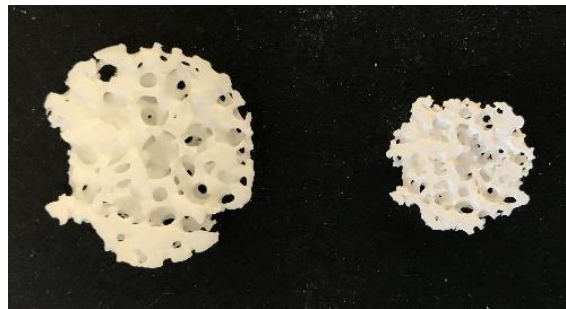


Figura 3.2 - Modelo 1, descrito no Capítulo 4, antes de sofrer o processo de sinterização (esquerda) e após sinterização (direita).

3.3.3.5 - Difração de Raios - X

As análises de difração de raios-X permitem determinar a estabilidade térmica dos pós de alumina e *bioglass 4555* tendo sido realizadas no Serviço de Caracterização de Materiais (SEMAT) da Universidade do Minho. A análise foi realizada a amostras reduzidas a pó proveniente de peças paralelepípedas impressas em 3D e sinterizadas a 1600 °C. O objetivo desta análise é determinar as diferentes fases cristalográficas presentes na estrutura do pó e verificar a ocorrência de transformações de fase, de modo a ser possível proceder à sua identificação e quantificação.

3.3.3.6 - Ensaio de Compressão

Foram realizados ensaios de compressão nos laboratórios da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, no sentido de determinar a resistência à compressão das peças. As

propriedades mecânicas de compressão foram medidas usando uma máquina de teste *Shimadzu EZ-LX Long-Stroke Model* (Shimadzu, Japão) com uma célula de carga de 500 N e velocidade de deslocamento de 10 mm/min. Foram testadas as peças que foram sujeitas a três tratamentos térmicos diferentes, no sentido de avaliar a sua influência na resistência mecânica final das peças. As peças formadas pelo material alumina/*bioglass 45S5* a diferentes concentrações também foram sujeitas a estes ensaios de resistência à compressão. Foram utilizadas 3 amostras por ciclo (n=3/ciclo).

3.3.3.7 - Ensaios de Fluídos Biológicos Simulados

Para avaliar a bioatividade das peças produzidas, formadas apenas por alumina e as constituídas por alumina e diferentes concentrações de *bioglass 45S5*, foram submetidas a ensaios de fluídos biológicos simulados (*simulated body fluid - SBF*) segundo a norma *ISO 23317: "Implans for surgery - In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials"*.

As amostras foram observadas por MEV ao fim de 4 semanas, para avaliar a formação da camada apatítica.

3.4 - Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente de modo a verificar a existência de diferença estatisticamente significativa entre eles. A análise foi realizada através do teste de ANOVA onde os valores foram considerados estatisticamente diferentes para um $p < 0,05$.

Os resultados são apresentados na forma: média \pm desvio padrão.

3.5 - Resina “Home-Made”

Em primeiro lugar, foi necessário realizar um levantamento bibliográfico atual relacionado com a formulação de resinas fotocuráveis como já descrito no documento. Após esta leitura e análise das características químicas, preços e detalhe dos reagentes que podem ser utilizados para esse fim, foram escolhidos os seguintes:

- *Canforquinona (CQ)* - uma α -diacetona com um pico de absorção a 470 nm, papel fotoiniciador;
- *Diacrilato de poli (etileno glicol) (PEG)* - utilizado como constituinte maioritário devido à sua baixa viscosidade;
- *Amina terciária metacrilato de 2-(dimetilamino)etil (DMAEMA)*- apelidada de co-iniciador, tem como objetivo aumentar a eficiência da CQ;
- *Di(trimetilolpropano)tetraacrilato (DiTMPTA)* - utilizado para aumentar a reticulação de resinas;
- *Acetato de Butoxietyl (BEA)* - diluente não reativo que permite diminuir a viscosidade da resina.

Na tabela 3.2 encontra-se uma seleção de reagentes, e as suas propriedades, a incluir nas formulações a propor.

Tabela 3.2 - Propriedades dos reagentes escolhidos para incluir nas formulações da resina fotocurável.
Retirado e adaptado de (65).

Reagentes	Massa Molar [g/mol]	Densidade [g/cm ³]	Viscosidade [mPa.s]
PEG	575	1.121	57
DiTMPTA	466	1.101	400 - 700
BEA	160.21	0.942	2
CQ	160.22	-	-
DMAEMA	157.21	0.933	1.47

Capítulo 4: Modelação e Impressão 3D

4.1 - Equipamento Utilizado

Para o processo de impressão foi utilizada uma impressora LCD (*3D ANYCUBIC Photon*®), de baixo custo, que utiliza a técnica DLP já detalhada e descrita nesta dissertação. Esta impressora apresenta algumas vantagens, como por exemplo, capacidade de filtração de maus odores, purificação do ar, fácil utilização e produção de peças de alta resolução. Este equipamento utiliza uma técnica de *LCD Shadow Masking* e um projetor de luz UV com um comprimento de onda determinado de 405 nm. Aliada à impressora é necessário utilizar o sistema de modelação designado por *ANYCUBIC Photon Slicer64*®. Há parâmetros importantes e que podem ser controlados e definidos por este software, como o tempo de exposição, tempo de exposição da camada inferior e, ainda, a espessura da camada da peça.

4.2 - Modelação: Suportes, Parâmetros e Divisão em Camadas

As peças obtidas através da técnica de impressão 3D foram retiradas de um repositório fornecido pela empresa que trabalha em parceria com o nosso grupo de investigação. O fornecimento de ficheiros em formato *STL* ficou a cargo da respetiva empresa. Esta fase de modelação permite criar um ficheiro que possa ser modelado e manipulado através de softwares de DAC. O modelo inicial que serviu de base para a produção dos restantes está representado na Figura 4.1 e pretende mimetizar a estrutura do osso trabecular.

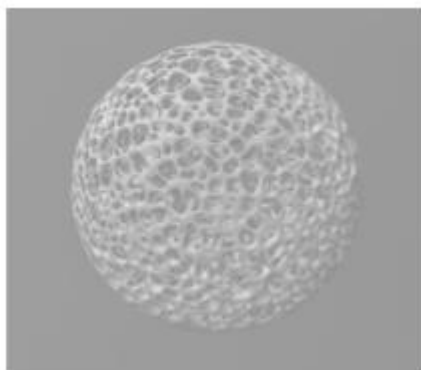


Figura 4.1 - Modelo trabecular esférico.

A partir do modelo acima e com recurso ao software *AnyCubic Photon Slicer64*® foi possível produzir diferentes modelos representados nas figuras 4.2. Cada modelo foi concebido com um objetivo de análise específico que será explicado de seguida. Este software permitiu-nos manipular diferentes parâmetros, fulcrais numa impressão 3D bem sucedida e que necessitaram de ser otimizados até conseguirmos obter peças com características satisfatórias. É possível configurar parâmetros dos suportes (responsáveis pela conexão da peça com as camadas base), nomeadamente: o seu tipo de ponta e grossura (leve, média ou elevada), o seu comprimento, e ainda, a profundidade do contacto na peça. O número de suportes que se pretende adicionar bem como a sua localização é permitido customizar graças a este software.

Há ainda cinco outros parâmetros que requerem uma otimização e análise cuidada, visto serem importantíssimos para garantirem uma boa impressão das peças. São eles:

1. **Espessura de camada (mm)** - permite controlar a espessura de camada da suspensão cerâmica que está a ser polimerizada. Para uma maior resolução e melhores propriedades mecânicas das peças, devem ser escolhidas baixas espessuras, no entanto, valores de espessura mais baixos traduzem-se em tempos de impressão mais longos;
2. **Tempo de exposição (s)** - é o tempo a que cada camada está exposta à luz UV. Tempos de exposição altos traduzem-se numa maior definição e detalhe das peças, por outro lado, tempos curtos impossibilitam a adesão das camadas umas às outras;
3. **Off Time (s)** - é o intervalo de tempo entre a polimerização de camadas consecutivas. É o tempo que a plataforma necessita para se colocar na posição correta e iniciar a polimerização da camada seguinte;
4. **Tempo de exposição da camada inferior (s)** - tempo de polimerização da camada inferior;
5. **Camadas Inferiores:** número de camadas a serem polimerizadas.

Após manipulação do software acima indicado e utilizando as diversas ferramentas foram produzidos os modelos virtuais representados na figura 4.2.

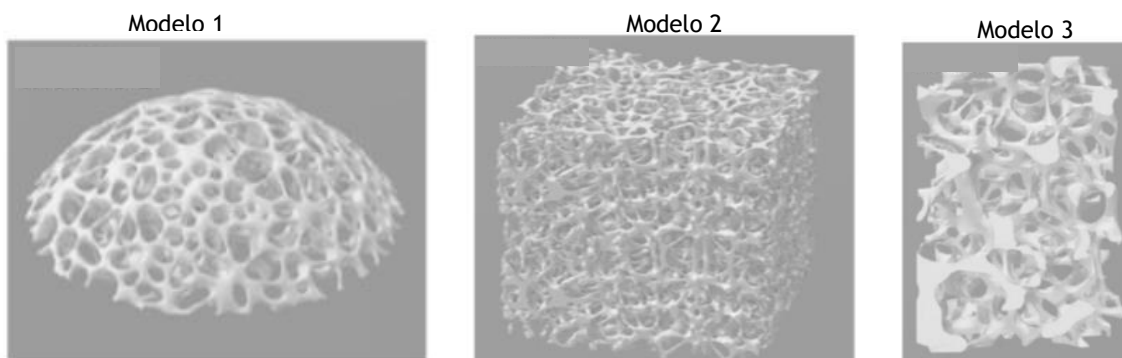


Figura 4.2 - Diferentes modelos produzidos no software *AnyCubic Photon Slicer64*®.

O modelo 1 - “osso cortado” não foi alvo de uma análise específica. Foi produzido, numa fase experimental, para verificar se o processo de impressão iniciava ou não, permitindo também otimizar os parâmetros de impressão. Foi possível também com recurso a este modelo verificar qual a carga máxima, em percentagem, de sólidos possível de incorporar na resina.

O modelo 2 - “bloco grande” representa uma estrutura cúbica com uma dimensão de 30 mm. Foi sujeito a ensaios de compressão, de modo, a avaliar a sua resistência mecânica em função dos três ciclos térmicos estudados e representados na figura 3.1. A análise da contração volumétrica e variação mássica foi, também, feita com recurso a este modelo.

O modelo 3 - “bloco paralelepípedo” foi desenvolvido com o objetivo de serem realizadas análises por MEV.

Após a definição de todos os parâmetros resta a etapa final. A última etapa no processo de modelação 3D consiste no fatiamento do modelo em ficheiro STL, processo designado *slicing*. Convertendo assim o ficheiro STL num ficheiro SLI, capaz de ser impresso de forma tridimensional. O número de camadas depende do tamanho da peça impressa, pelo que para cada um dos modelos acima foi necessário utilizar parâmetros diferentes. Geralmente, peças com maior detalhe e de maiores dimensões, traduzem-se num maior número de camadas e também tempo de impressão.

No final desta etapa e de serem determinados os parâmetros para cada um dos modelos apresentados foi iniciada a sua impressão.

Muitas vezes a impressão não ocorre na primeira tentativa sendo necessário redefinir os parâmetros de modo a que a impressão ocorra. A otimização de parâmetros foi necessária para a produção de todos os modelos acima representados.

4.3 - Tratamento Pós - Impressão

No final do processo de impressão das peças estas foram retiradas da plataforma com auxílio de uma pequena espátula. Este processo deve ser feito do modo mais cuidadoso possível para não existir risco de partir a peça ou originar fissuras. Foram então transferidas para o solvente isopropanol, para serem removidos eventuais resíduos que ainda podiam permanecer no interior dos poros. Após este processo de limpeza que rondou aproximadamente 5 minutos foram removidos os suportes da peça com auxílio de um alicate, processo moroso visto ser crucial durante a retirada dos mesmos não danificar a peça. Por fim, as peças foram colocadas num forno de radiação UV (pós-cura), durante 15 minutos, de modo a garantir que toda a resina é polimerizada. Finalmente, as peças foram submetidas ao ciclo térmico A já descrito no capítulo de Materiais e Métodos desta dissertação.

Capítulo 5: Resultados e Discussão

Inicialmente foram produzidas peças exclusivamente formadas por alumina, cujo objetivo foi analisar a influência do tratamento térmico na resistência mecânica da peça, através de uma série de ensaios apresentados neste Capítulo. Posteriormente, e escolhido o tratamento térmico mais adequado, foram produzidas peças compostas por alumina com a adição de diferentes concentrações de *bioglass 4555*. Estas peças, bem como os pós que as constituem, foram sujeitas a diversos testes cujos resultados são apresentados e discutidos neste Capítulo.

5.1 - Caracterização de pós de Alumina e *Bioglass 4555*

Para analisar as características dos pós, nomeadamente a sua forma, estes foram observados por MEV. Esta característica influencia a reologia das suspensões cerâmicas que são produzidas e esta, por sua vez a impressão das peças.

5.1.1 - Análise por Microscopia Eletrónica de Varrimento

As imagens do pó de alumina e *bioglass 4555*, obtidas por MEV, são representadas nas figuras 5.1. e 5.2.

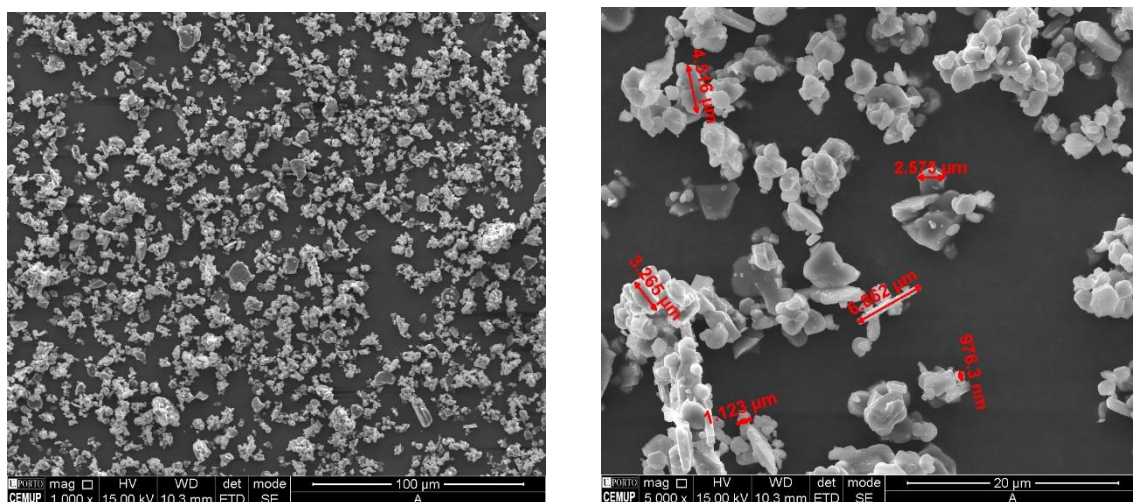


Figura 5.1 - Imagens do pó de alumina obtidas por MEV, com uma ampliação de 1000x (esquerda) e uma ampliação de 5000x (direita). O tamanho de alguns pós (vermelho) está também representado com recurso a um medidor automático acoplado ao equipamento.

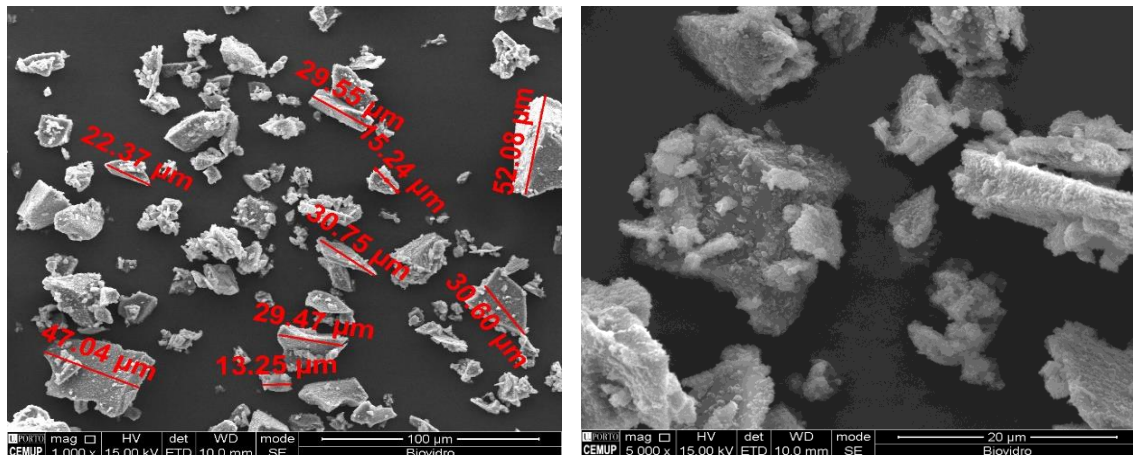


Figura 5.2 - Imagens de pó de *bioglass 4555* obtidas por MEV, com uma ampliação de 1000x (esquerda) e de 5000x (direita). O tamanho de alguns pós (vermelho) está também representado com recurso a um medidor automático acoplado ao equipamento.

As partículas de pó de alumina e *bioglass 4555* apresentam, como demonstrado pelas figuras 5.1 e 5.2 respetivamente, uma forma heterogénea e irregular sendo possível verificar que tendem a formar aglomerados. No caso da alumina e por se tratar de um pó pré-sinterizado é normal esta aparência. Com recurso a uma ampliação superior (5000x) é possível confirmar a grande heterogeneidade de forma e tamanho das partículas. É também possível observar que o tamanho das partículas quer para a alumina e *bioglass 4555* são da ordem dos micrómetros, adequado para impressão por DLP. Esta ampliação permitiu fazer uma medição aleatória de algumas partículas, mostrando e confirmando a grande variedade de tamanho e forma dos mesmos como já era indicativo pela ampliação de 1000x. O *bioglass 4555* é bastante higroscópico, o que favorece a agregação das partículas. Nas imagens de maior ampliação (5000x) é possível ver a heterogeneidade da distribuição granulométrica das partículas de *bioglass 4555*, há partículas com dimensões muito distintas entre si. O pó de *bioglass 4555* foi obtido com recurso a um almofariz, o que pode originar uma maior dispersão do tamanho das partículas como é exemplificativo pela imagem de maior ampliação.

5.1.2 - Análise Granulométrica

O tamanho das partículas que constituem o pó utilizado tem influência na densidade da peça final e também nas propriedades reológicas de uma suspensão, como a viscosidade, fluidez e estabilidade da suspensão (80). Assim, foi realizada uma análise granulométrica aos pós de alumina e *bioglass 4555* para avaliar a distribuição do tamanho das partículas e determinar o seu d_{50} que se encontra representada na figura 5.3.

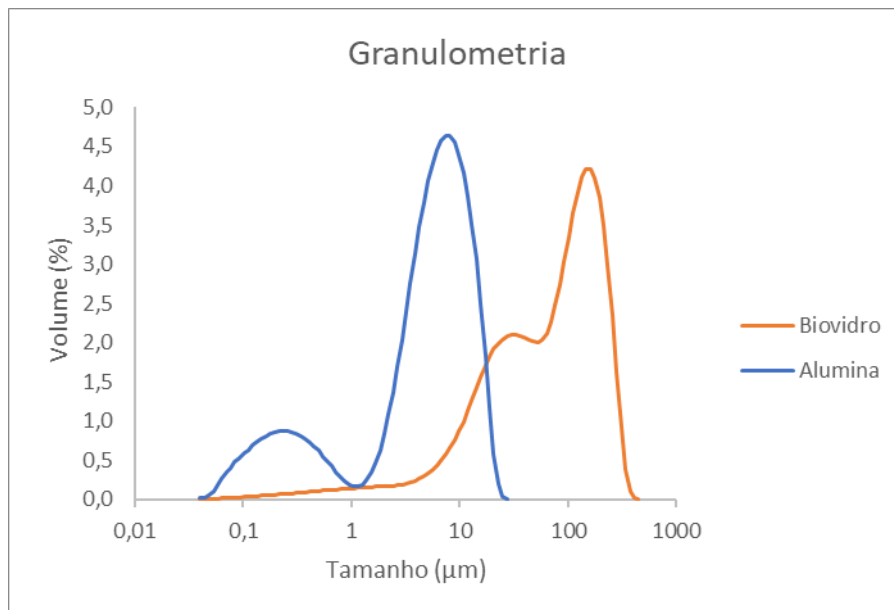


Figura 5.3 - Análise de distribuição granulométrica dos pós de *bioglass 45S5* e alumina.

A partir da figura 5.3 é possível analisar que ambos os pós apresentam uma distribuição bimodal. O d_{50} para o pó de alumina é de $3,4 \mu\text{m}$ e para o pó de *bioglass 45S5* é de $34,8 \mu\text{m}$. O pó de *bioglass 45S5* apresenta uma distribuição granulométrica bastante alargada, quando comparada com o pó de alumina, situando-se entre os 1 e $700 \mu\text{m}$.

Esta distribuição pode ser explicada pelo facto de a trituração do pó de *bioglass 45S5* ter sido feita com recurso a um almofariz e de forma manual, não garantindo, por isso, uma distribuição mais apertada e controlada. No entanto, o objetivo de obter pós na gama micrométrica - tamanho necessário para conseguir uma impressão - foi conseguido.

5.1.3 - Análise de Difração de Raios - X

A análise de difração de raios - X foi realizada ao pó de alumina antes e após sinterização, no sentido de verificar a cristalinidade e determinar as fases cristalográficas presentes. Os difratogramas obtidos a partir da análise de difração de raios - X encontram-se na figura 5.4 abaixo.

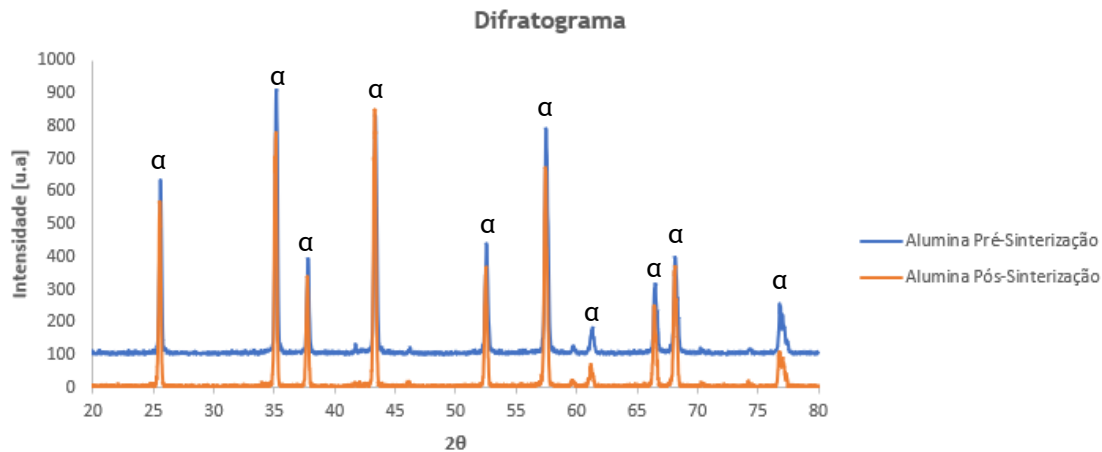


Figura 5.4 - Difratogramas resultantes da análise de difração de raios-X do pó de alumina, pré e pós sinterização, utilizando o tratamento térmico A. Assinalado na figura a fase presente, usando como referência a ficha 01-089-7717 para determinar as fases cristalográficas.

Olhando para o difratograma da alumina pré-sinterizada, verifica-se que o pó apresenta elevada cristalinidade, o que é coerente com o fato deste pó fornecido pela empresa *Almatris*® já ter sofrido um processo de sinterização. No entanto este ciclo térmico não foi fornecido pela empresa não sabendo a temperatura máxima a que foi sujeito, mas que terá ultrapassado o valor de 1430 °C, temperatura acima da qual se forma a fase α , é corroborado pelo espectro da alumina pré-sinterizada. Os picos estreitos e bem definidos indicam a alta cristalinidade deste pó. Analisando ambos os espectros, é possível verificar que são praticamente coincidentes, o que indica que após a sinterização do pó de alumina não ocorreu transformação de fase ou de cristalinidade. Como a fase de α -alumina se forma a altas temperaturas (acima de 1430 °C) (81), os resultados vão de encontro ao esperado, uma vez que este pó foi sujeito a um tratamento térmico que atinge a temperatura máxima de 1600 °C.

5.1.4 - Análise do Potencial Zeta

Sendo a carga de superfície das partículas um parâmetro crucial na estabilidade das suspensões produzidas, procedeu-se à sua quantificação representada na tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Potenciais Zeta médios e desvio padrão das partículas de alumina e *bioglass 4555*.

Pó	Potencial Zeta
Alumina	- 15,10 ± 3,51 mV
<i>Bioglass 4555</i>	- 16,18 ± 2,89 mV

O potencial zeta da alumina descrito na literatura encontra-se numa gama de valores entre os -12 a -47 mV, assim o valor obtido encontra-se dentro do esperado. Para o caso do pó de *bioglass 4555*, os valores reportados na bibliografia situam-se entre -10 a -25 mV. O valor obtido encontra-se, por isso, no intervalo esperado (82, 83).

Uma suspensão é considerada estável quando não ocorrem fenómenos de aglomeração ou floculação das partículas. O estudo do potencial zeta está relacionado com a estabilidade das

suspensões cerâmicas (deverão ter um valor absoluto de potencial zeta de 20 mV) pois muitas vezes a ocorrência de forças atrativas entre as partículas que constituem a suspensão pode comprometer a estabilidade eletrostática da mesma. Geralmente, suspensões com um valor de potencial zeta mais baixo favorecem fenómenos de floculação enquanto potenciais mais elevados levam a repulsões das partículas evitando a sua aglomeração (84, 85).

É importante que os pós de alumina e *bioglass 4555* apresentem valores de potencial zeta com cargas semelhantes, fator que promove a repulsão entre estas partículas.

O facto de uma suspensão cerâmica apresentar, para além do pó cerâmico, também na sua constituição resina e um agente dispersante em pó permite que haja atenuação das interações de cargas que se podem vir a sentir entre estes dois pós, promovendo o dispersante uma estabilização eletrostática da suspensão. Em meio líquido, ocorre dissociação das moléculas que constituem o dispersante, maioritariamente ácidos poliacrílicos e polimetacrílicos. Esta dissociação origina cargas elétricas negativas que em associação com as cargas de superfície também negativas quer das partículas de alumina como de *bioglass 4555* origina interações repulsivas que dificultam a aglomeração das mesmas.

5.2 - Otimização do Tratamento Térmico

Neste trabalho foram impressos vários modelos como já referido no Capítulo 4. Por exemplo, na figura 5.5 é possível visualizar o modelo 2 imediatamente após impressão, ainda com a presença de suportes, e antes de ser submetido ao tratamento térmico.

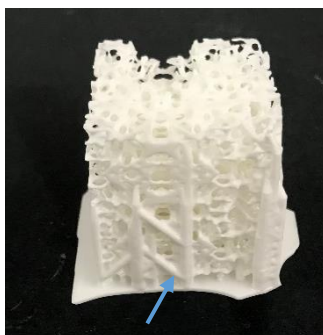


Figura 5.5 - Peça utilizada para realizar ensaios de compressão e analisar a contração volumétrica e variação mássica. Seta a azul indica os suportes da peça.

5.2.1 - Análise de Contração Volumétrica e da Variação Mássica

Durante o processo de sinterização, verifica-se um aumento no tamanho dos grãos que levam à eliminação dos poros, que por sua vez tornam a peça mais densa (densificação). Este processo implica uma redução de volume e, conseqüentemente, a sua contração.

O processo acima descrito deve ser rigorosamente estudado, sobretudo quando as peças produzidas se destinam para aplicação médica. A produção de *scaffolds* tem de ser feita com a medida exata do paciente em causa, sendo, por isso, necessário calcular todo o tipo de alterações morfológicas que a peça pode sofrer durante o processo de produção, mais concretamente na fase de sinterização. É importante esta análise de modo a permitir um dimensionamento correto da peça pré-sinterizada.

Assim e tendo em conta o ciclo térmico a que as peças foram submetidas e os resultados encontram-se na tabela 5.2.

Tabela 5.2 - Valores médios e desvio padrão relativos à contração e à perda de massa das peças correspondentes ao modelo 2, produzido com alumina. * $p < 0,05$ quando comparado com o padrão (A).

Ciclo Térmico	% Contração Volumétrica	% Variação Mássica
A	55,74 ± 2,05	62,58 ± 1,98
B	49,21 ± 3,65	61,89 ± 3,05
C	41,33 ± 3,78*	60,44 ± 3,82

A partir da análise da tabela 5.2 é possível comparar a contração volumétrica e variação mássica média das peças sujeitas aos diferentes ciclos térmicos. Não foram observadas diferenças estatísticas na variação mássica sofrida pelas peças submetidas aos três ciclos térmicos. No entanto, em termos de contração volumétrica o valor obtido para o ciclo térmico A é estatisticamente superior ao ciclo C.

Embora a contração de peças cerâmicas seja influenciada pela quantidade de sólidos da suspensão cerâmica, este parâmetro não foi objeto de estudo deste trabalho já que a percentagem total de sólidos das suspensões foi constante (55 %), correspondendo ao máximo que permitiu a impressão por DLP para as suspensões em estudo. O papel do tratamento térmico foi sim o parâmetro avaliado. Os resultados obtidos indicam que não ocorreu diferença estatística nos valores de contração volumétrica das peças sinterizadas com os ciclos térmicos A e B, correspondentes às temperaturas de sinterização mais elevadas, apresentando, no entanto, estas amostras uma contração superior à obtida com o ciclo térmico C, onde o processo de sinterização ocorreu a uma temperatura mais baixa.

5.2.2 - Resistência à Compressão

Os resultados obtidos após os ensaios de compressão realizados ao modelo 2 são apresentados na tabela 5.3.

Tabela 5.3 - Valores médios de resistência à compressão e desvio padrão de peças produzidas com alumina. * $p < 0,05$ quando comparado com o padrão (A).

Tratamento Térmico	Média (MPa)
A	0,12 ± 0,02
B	0,06 ± 0,03*
C	0,02 ± 0,01*

A partir da tabela 5.3 é possível concluir que as peças sujeitas ao ciclo térmico A apresentam uma resistência à compressão estatisticamente superior (0,12 MPa) à obtida nas peças submetidas nos ciclos B e C. Com estes resultados é possível admitir que peças sujeitas a ciclos térmicos com temperaturas mais elevadas (1600 °C) apresentam uma maior resistência à compressão, o que reflete a maior eficácia do processo de sinterização. É importante realçar

que a execução desta análise requer alguns pré-requisitos que por vezes não são fáceis de conseguir. As peças sujeitas ao ensaio devem apresentar faces totalmente planas. Muitas vezes, e após os tratamentos térmicos, as peças sofrem pequenas distorções impedindo que tal seja cumprido. Aumentar o número de amostras a serem sujeitas ao ensaio também poderia ter ajudado na diminuição dos erros associados a esta análise e, portanto, a uma melhor interpretação dos resultados.

5.2.3 - Análise por Microscopia Eletrónica de Varrimento

O tamanho trabecular das peças do modelo 3 foi analisado a partir da seguinte figura 5.6.

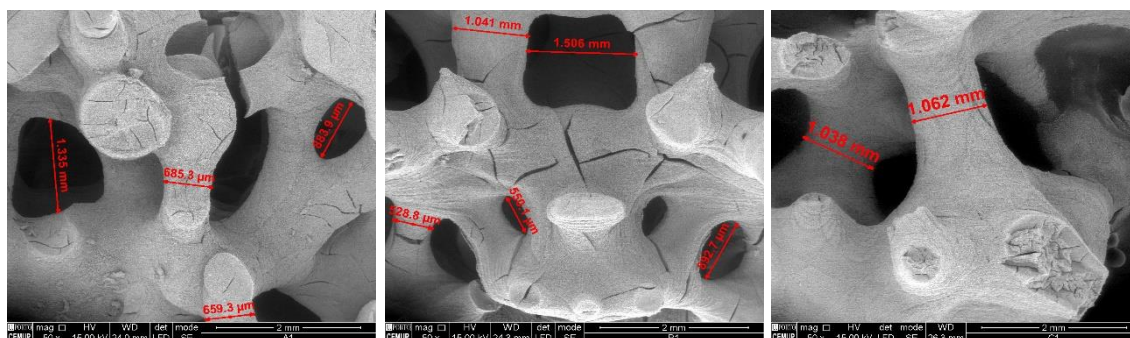


Figura 5.6 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 50x. Peças sujeitas a diferentes tratamentos térmicos (esquerda - ciclo A; centro - ciclo B e direita - ciclo C).

As imagens da figura 5.6 mostram peças fissuradas o que condiciona a resistência mecânica. Podem ser resultado de vários fatores, entre eles a retirada de suportes da peça ou o tratamento térmico utilizado não ser ainda o ideal.

Com base nos resultados obtidos nas seções 5.2.1, 5.2.2 e 5.2.3 foi escolhido o tratamento térmico A para as restantes peças a produzir com o material alumina/*bioglass 45S5*.

5.3 - Impressão de peças por DLP

5.3.1 - Suspensões Cerâmicas

- **Análise de Viscosidades**

Um dos parâmetros fulcrais nas suspensões cerâmicas que afeta o resultado final da impressão pela técnica de DLP é a viscosidade da suspensão. Segundo a literatura, os valores devem ser sempre os mais baixos possíveis e inferiores a 3000 mPa.s (68).

De entre os vários fatores que afetam a reologia de uma suspensão cerâmica pode-se destacar: a concentração de partículas na suspensão, a sua forma, o seu tamanho e a sua carga elétrica de superfície (potencial zeta) (74, 80).

É importante lembrar que todas as suspensões analisadas apresentaram o mesmo teor total de sólidos (55%) tendo variado a proporção alumina:*bioglass 45S5*.

Analisando as suspensões formadas pelo material alumina/*bioglass 45S5* a 0,5%, 1% e 5% podemos classificá-las como fluidos não-newtonianos, mais concretamente pseudoplásticos,

apesar de estarem próximos de serem newtonianos, uma vez que a viscosidade diminui com o aumento da taxa de corte sobretudo a baixas taxas como demonstra a figura 5.10. Analisando as figuras 5.7, 5.8 e 5.9 e com o objetivo de categorizar as suspensões cerâmicas em newtoniano ou não-newtoniano, foram elaborados gráficos onde se analisa a variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s].

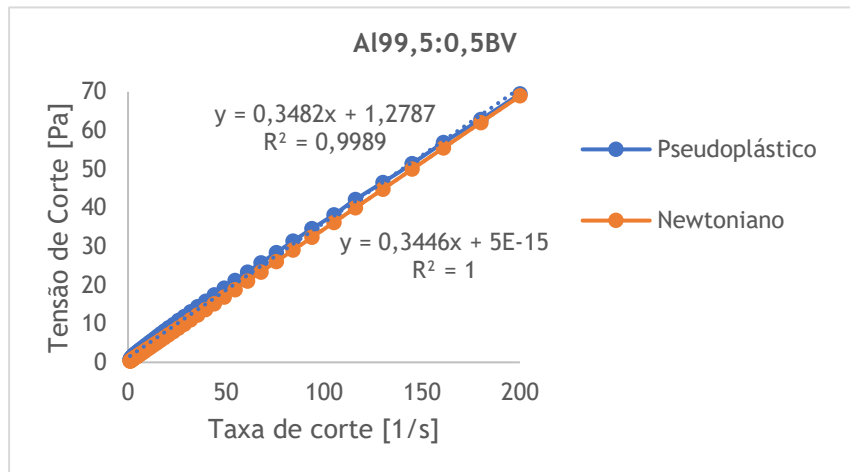


Figura 5.7 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação AI99,5:0,5BV.

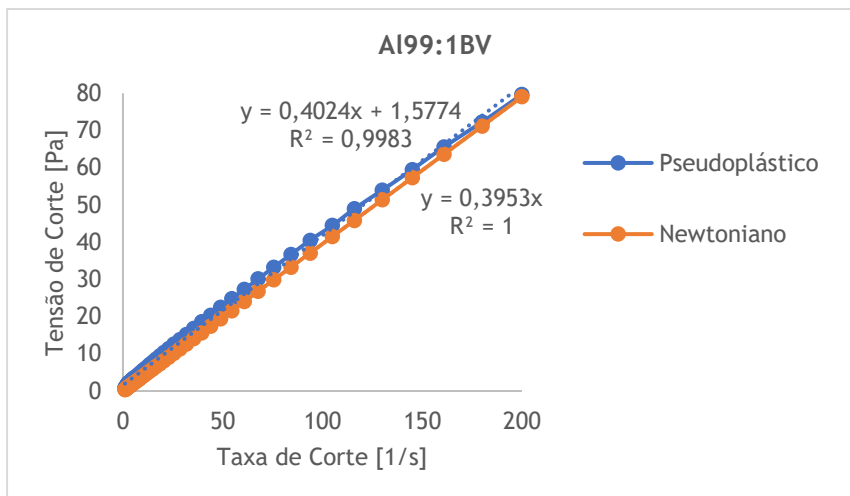


Figura 5.8 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação AI99:1BV.

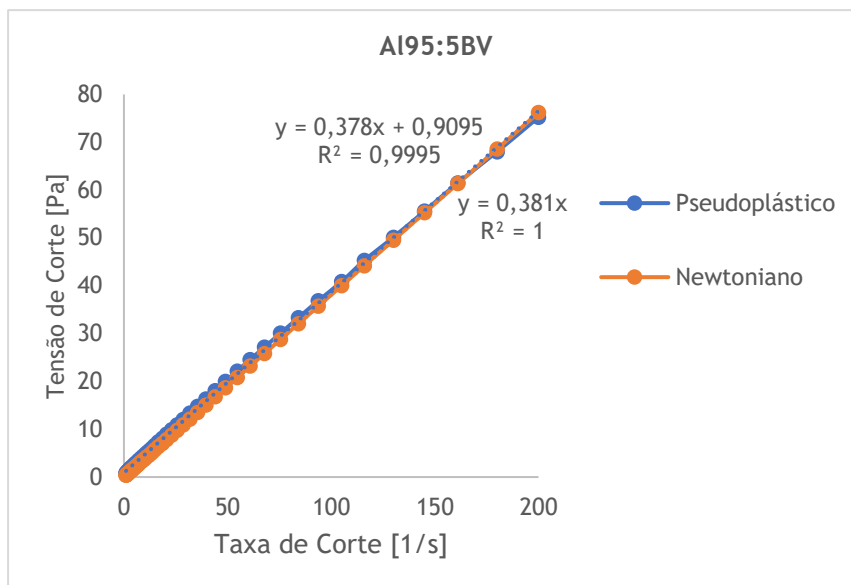


Figura 5.9 - Variação da tensão de corte [Pa] em função da taxa de corte [1/s] para a formulação AI95:5BV.

A inclusão nos gráficos apresentados nas figuras 5.7, 5.8 e 5.9 de uma curva correspondente a um fluido newtoniano apenas serve para tornar mais fácil verificar a proximidade de comportamento das suspensões produzidas ao de um fluido newtoniano. É importante lembrar que um fluido newtoniano não apresenta alteração da viscosidade em função da taxa de corte, algo que não se verifica nas formulações estudadas. No entanto, quando se utilizam taxas de corte mais elevadas as formulações tendem a tornar-se newtonianas, o que é esperado porque há uma adaptação das partículas que constituem a suspensão cerâmica ao movimento rotacional do equipamento. Isto é, inicialmente as partículas da suspensão vão adaptar-se às taxas de corte mais baixas, (figura 5.10 - taxas de corte 0 a 10 [1/s]) a taxas de corte mais altas as partículas tendem a organizar-se de forma mais homogênea tendendo a comportar-se como fluidos newtonianos.

A figura 5.10 representa a variação da viscosidade das suspensões produzidas em função da taxa de corte

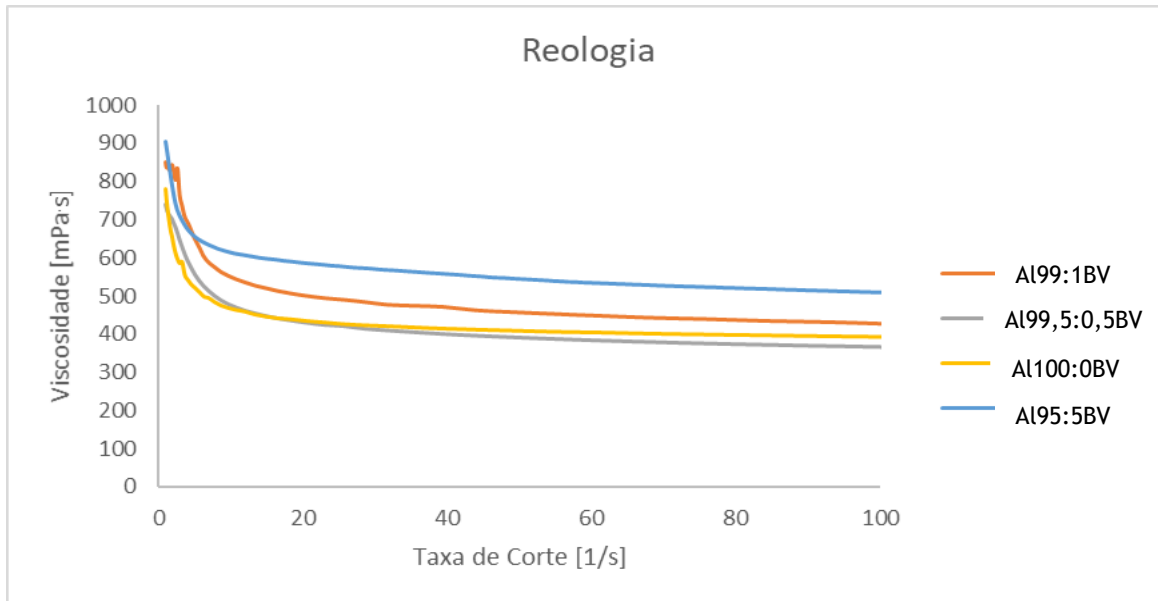


Figura 5.10 - Valores de viscosidade em função da taxa de corte das diferentes formulações.

A partir da figura 5.10 é possível verificar que a suspensão composta por 5% de *bioglass 45S5* apresenta valores de viscosidade mais elevados, na ordem dos 600 mPa.s. Como demonstrado na figura 5.2 o pó de *bioglass 45S5* apresenta partículas extremamente irregulares, com tendência para aglomerarem entre si e uma distribuição bimodal e polidispersa que, geralmente, apresentam valores de viscosidade mais baixos como já foi referido. O formato irregular e a maior quantidade de *bioglass 45S5* em suspensão pode explicar valores de viscosidade mais elevados quando comparados com o das outras suspensões. Seguindo a mesma ordem de raciocínio, a suspensão formada por 1% de *bioglass 45S5* apresenta valores de viscosidade na ordem dos 500 mPa.s, valor inferior à da suspensão de 5% concordante com o esperado. Uma menor concentração deste pó em suspensão leva a um valor de viscosidade também menor. Analisando a suspensão composta apenas por alumina, é possível verificar que apresenta valores de viscosidade na ordem dos 450 mPa.s, valor muito perto do registado para a suspensão composta por 0,5% de *bioglass 45S5* - 400 mPa.s. A proximidade destes valores de viscosidade é também esperada, uma vez que, a concentração de *bioglass 45S5* adicionada à suspensão é muito pequena - 0,5% - não sendo suficiente para influenciar de forma significativa os valores de viscosidade de uma suspensão composta apenas por alumina quando comparada com a suspensão composta por alumina e 0,5% de *bioglass 45S5*.

Focando na influência do potencial zeta dos pós de alumina e *bioglass 45S5* na reologia, é importante recordar que ambos os pós apresentam potenciais zeta semelhantes e intermédios - próximos do valor absoluto ideal de 20 mV para suspensões cerâmicas - o que permite admitir que a interação conjunta dos pós de alumina e *bioglass 45S5* com o meio utilizado (predominantemente através da ação do dispersante) é favorável à formação de suspensões que podem ser utilizadas na técnica de DLP, não se verificando nem interações fortemente repulsivas ou atrativas o que permite que as suspensões produzidas apresentem valores de viscosidade concordantes com o esperado - abaixo dos 3000 mPa.s. Como já foi referido, o agente dispersante utilizado estabiliza a suspensão com recurso à criação de uma carga de

superfície nas partículas (estabilização eletrostática), originando potenciais de repulsão que impedem a floculação e sedimentação das partículas tornando as suspensões cerâmicas menos viscosas.

No que diz respeito à concentração de partículas numa suspensão é importante compreender que os pós cerâmicos numa suspensão atuam como um obstáculo, dificultando o fluxo do material líquido que forma a suspensão e, portanto, aumenta a resistência a esse mesmo fluxo (viscosidade). Esta mesma resistência é ainda afetada pela forma das partículas; irregularidades na sua superfície levam a uma viscosidade mais elevada, contrariamente a partículas com superfícies regulares e mais esféricas que apresentam valores de viscosidade mais reduzidos (86). A distribuição das partículas, como já foi dito, também afeta a reologia das suspensões cerâmicas; misturas polidispersas (distribuição granulométrica alargada) e com distribuição de tamanho bimodal apresentam valores de viscosidade mais baixos pelo facto das partículas de menor tamanho poderem atuar como lubrificante diminuindo a resistência ao fluxo (87).

Por último, o potencial zeta, que permite compreender as forças atrativas ou repulsivas que se estabelecem dentro de uma suspensão cerâmica, também afeta a viscosidade de uma suspensão cerâmica. Potenciais zeta mais elevados favorecem interações repulsivas entre as partículas aumentando a distância entre elas e, por isso, impedem a sua aglomeração e sedimentação originando valores de viscosidade mais reduzidos. No entanto, valores de potenciais zeta menores favorecem a floculação das partículas, uma vez que as forças repulsivas são inferiores (87).

5.3.2 - Análise da Porosidade, Contração Volumétrica e Variação Mássica

Nas peças formadas por alumina e pelo material alumina/*bioglass* 4555 foi determinada a percentagem de porosidade das mesmas, a contração volumétrica e variação mássica, estando os resultados na tabela 5.4 e na tabela 5.5, respetivamente.

Tabela 5.4 - Valores médios de porosidade e desvio padrão aplicados ao modelo 2, com o tratamento térmico A. *p<0,05 quando comparado com a alumina. •p <0,05 quando comparado com Al99:0,5BV. ◇p<0,05 quando comparado com Al99:1BV.

Peça	% Porosidade
Alumina	86,42 ± 2,05
Al99,5:0,5BV	84,78 ± 1,75
Al99:1BV	83,21 ± 1,02
Al95:5BV	80,36 ± 1,01*•◇

Tabela 5.5 - Valores médios e desvio padrão relativos à contração e à perda de massa das peças correspondentes ao modelo 2, com o tratamento térmico A. * $p < 0,05$ quando comparado com Al95:5BV.

Peça	% Contração Volumétrica	% Variação Mássica
Alumina	55,74 ± 2,05*	62,58 ± 1,98*
Al99,5:0,5BV	56,28 ± 1,88	59,59 ± 1,08*
Al99:1BV	58,12 ± 2,21	64,48 ± 2,35
Al95:5BV	60,82 ± 2,27	68,87 ± 1,84

Antes de se analisar os resultados obtidos é importante referir que os mesmos são influenciados, essencialmente, pelas dimensões do modelo virtual que foi produzido no software utilizado nesta dissertação. Para uma análise mais correta destes valores e para uma maior aproximação dos mesmos com os valores relatados para a porosidade do osso trabecular humano, deverão ser re-definidos os tamanhos dos poros antes das peças serem impressas.

No que diz respeito à porosidade das peças, os valores obtidos são estatisticamente diferentes para as peças com 5% de *bioglass 45S5* quando comparados com as restantes peças. A fusão do *bioglass 45S5* leva ao preenchimento parcial dos poros da peça aumentando a difusão atômica, traduzindo-se em valores de porosidade inferiores para peças formadas por uma maior quantidade de *bioglass 45S5*.

É importante realçar que nas peças formadas apenas por alumina ocorre sinterização em estado sólido, uma vez que a alumina tem um elevado ponto de fusão, que se situa nos 2054 °C (89), inferior à temperatura máxima atingida de 1600 °C atingida no ciclo térmico aplicado. Nos materiais alumina/*bioglass 45S5*, como a fusão do *bioglass 45S5* ocorre normalmente entre os 1100 °C e 1300 °C (88), a ligação das partículas ocorre na presença da fusão de *bioglass 45S5* (sinterização em presença de estado líquido) o que poderia acelerar o processo de densificação. No entanto, os níveis de adição de *bioglass 45S5* usados, inferiores a 5% não foram suficientes para observar este efeito. A variação mássica ocorrida durante o ciclo térmico deve-se essencialmente à combustão da resina e a alguma perda associada à presença do *bioglass 45S5*, não tendo sido observado diferenças significativas entre as amostras.

5.3.3 - Tratamento Térmico para Redução da Fissuração

Uma vez que as peças submetidas ao ciclo térmico A ainda apresentavam algumas fissuras, foi estudado um novo ciclo térmico que está representado na figura 5.11.

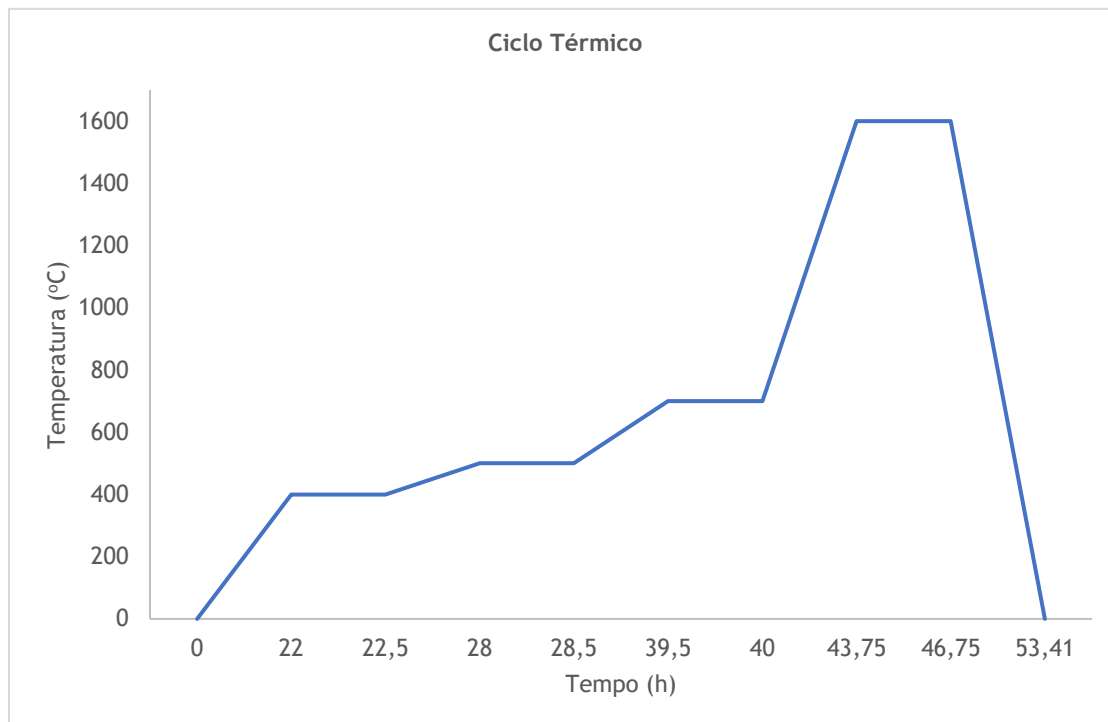


Figura 5.11 - Novo ciclo térmico testado para reduzir a fissuração das amostras.

No ciclo térmico representado as peças foram submetidas a 9 etapas. Inicialmente sofrem um aquecimento a uma taxa de $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto atingindo os $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ onde permanecem por 30 minutos. De seguida, sofrem novamente um aquecimento a uma taxa de $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto até atingirem os $500\text{ }^{\circ}\text{C}$, o mesmo acontece até se atingirem os $700\text{ }^{\circ}\text{C}$. A partir desta temperatura e até se atingir os $1600\text{ }^{\circ}\text{C}$, onde permanecem 3 horas, as peças sofrem um aquecimento a uma taxa de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto. Na etapa de arrefecimento são sujeitas a uma taxa de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por minuto até atingirem a temperatura ambiente, demorando 6 horas e 40 minutos. O objetivo deste ciclo novo foi submeter as peças a etapas de aquecimento mais suaves e também a uma etapa de arrefecimento controlada, de modo a tentar ultrapassar o problema de fissuração observado com o tratamento térmico A.

Uma peça correspondente ao modelo 3, submetida ao ciclo térmico da figura 5.11, foi analisada por MEV. A partir destas imagens foi possível observar se o problema de ocorrência das fissuras estava ultrapassado e determinar a dimensão das trabéculas.

Na figura 5.12 é possível ver a imagem ótica correspondente à peça do modelo 3 após sinterização.

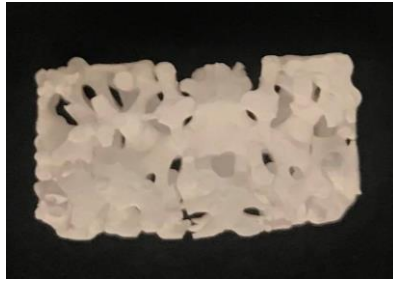


Figura 5.12 - Modelo 3 utilizado para análise por MEV.

A partir das imagens obtidas por MEV foram determinadas algumas características que tem uma grande influência na resistência mecânica da peça. O tamanho trabecular foi um dos parâmetros analisado, porque o seu tamanho interfere na resistência da peça. Por outro lado, pretendeu-se também verificar se o tamanho das trabéculas das peças era idêntico às trabéculas do osso humano.

As peças formadas por alumina com diferentes concentrações de *bioglass 4555* foram submetidas a análise por MEV - a partir do mesmo modelo - para análise da fissuração e tamanho trabecular, sendo os resultados reportados nas figuras 5.13, 5.14 e 5.15.

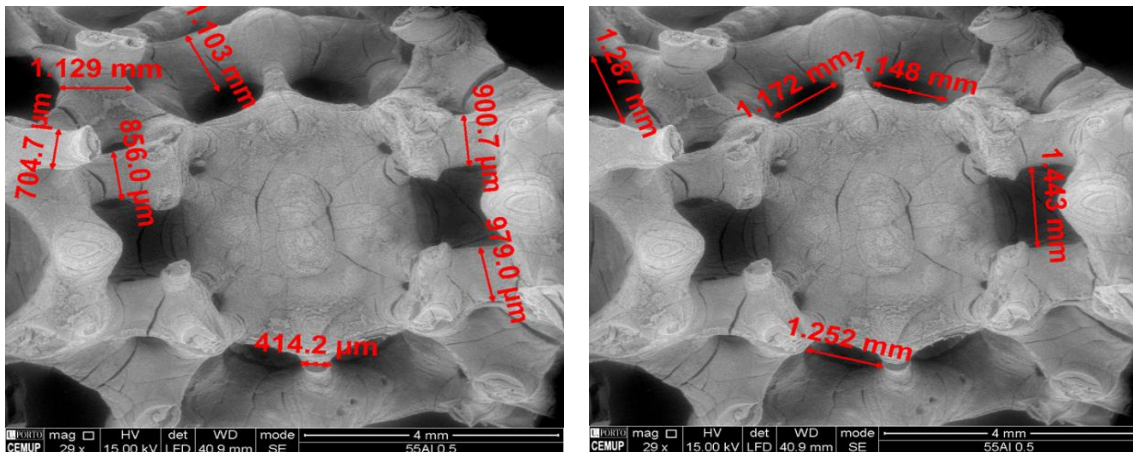


Figura 5.13 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x. Peças que correspondem ao modelo 3 e constituídas por Al99,5:0,5BV.

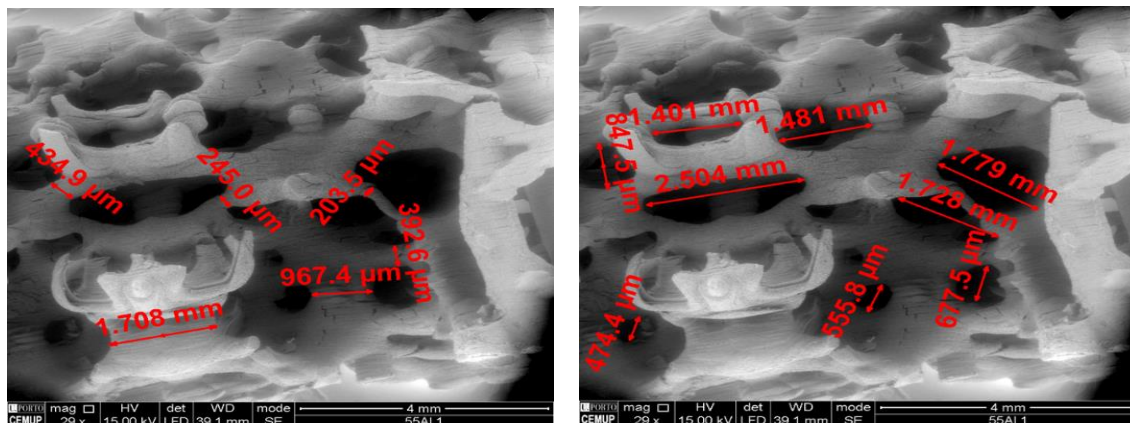


Figura 5.14 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x. Peças que correspondem ao modelo 3 e são constituídas por Al99:1BV.

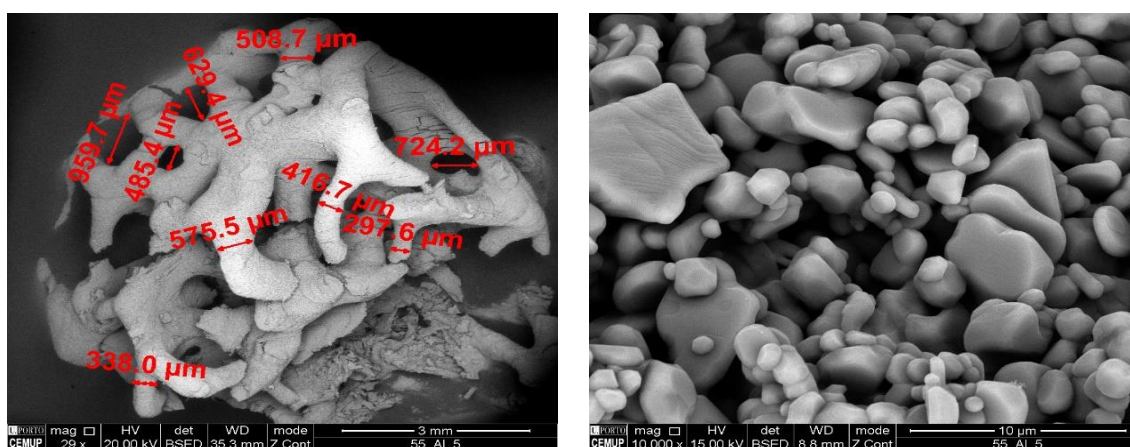


Figura 5.15 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 29x (esquerda) e 10 000x (direita). Peças que correspondem ao modelo 3 e são constituídas por Al95:5BV.

As peças Al99,5:0,5BV, Al99:1BV e Al95:5BV apresentaram um tamanho trabecular médio de 551,0 μm , 448,7 μm e 427,3 μm respectivamente, estando o valor bibliográfico para osso trabecular humano estipulado entre os 50 e 200 μm (89). É possível verificar que as peças apresentam valores trabeculares superiores ao estabelecido na literatura. O que pode, no entanto, ser favorável do ponto de vista de resistência mecânica desde que seja assegurada a porosidade e interconectividade das peças.

O novo ciclo a que as peças foram submetidas reduziu as fissuras, ainda assim não permitiu a produção de peças totalmente isentas de fissuras. Um parâmetro que pode ser melhorado para evitar o aparecimento de fissuras é aperfeiçoar a retirada de suportes ou através de mecanismos de modelação com recurso ao software *AnyCubic*, de modo a evitar a colocação de suportes em zonas internas das peças, que podem danificar as mesmas aquando da sua remoção. Um parâmetro importante e que condiciona de forma significativa o tamanho trabecular das peças relaciona-se com a escolha do modelo usado para efetuar esta análise. A produção de novas peças através de softwares de DAC em que o parâmetro do tamanho trabecular pode ser determinado pode ajudar a colmatar este problema.

A imagem com uma ampliação de 10 000x da figura 5.15 mostra a grande heterogeneidade do tamanho de grão que as peças formadas por Al95:5BV apresentam. É possível observar grãos com grande dispersão de tamanho.

5.3.4 - Análise de Difração de Raios - X

A análise de difração de raios - X foi realizada às peças constituídas apenas por alumina e às peças formadas pelos materiais alumina/*bioglass 4555*, como representado na figura 5.16. Esta análise teve o intuito de avaliar as transformações de fase que poderiam ocorrer durante o ciclo térmico e também analisar qual a influência do *bioglass 4555* nessas transformações.

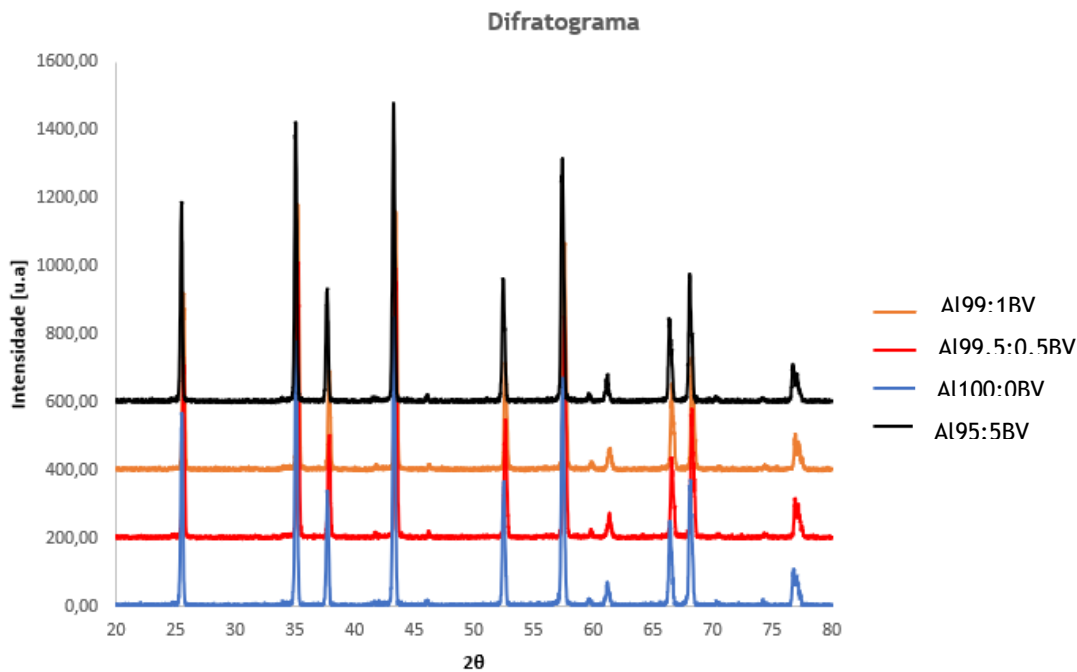


Figura 5.16 - Difratogramas resultantes da análise de difração de raios - X às diferentes peças produzidas que foram sujeitas ao novo tratamento térmico.

A quantidade de *bioglass 4555* adicionada não foi suficiente para ser detetada na microestrutura final, quer como vidro amorfo residual ou através de fases cristalinas de silicato de cálcio. Os espectros idênticos entre si da figura 5.16 comprovam isso mesmo.

5.3.5 - Ensaios de Fluídos Biológicos Simulados

O objetivo desta análise é analisar a capacidade do material originar uma camada apatítica induzida pelo *bioglass 4555*.

As imagens recolhidas por MEV após imersão do material em SBF dos materiais alumina/*bioglass 4555* a diferentes concentrações são apresentadas na figura 5.17.

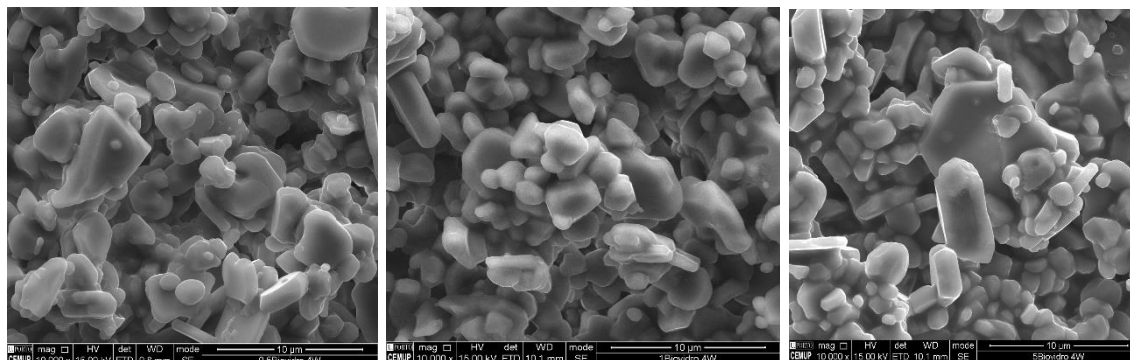


Figura 5.17 - Imagens obtidas por MEV, com uma ampliação de 10000x. Peças que correspondem ao modelo 3, após 4 semanas imerso em solução SBF (esquerda - Al99,5:0,5BV; centro - Al99:1BV e direita - Al95:5BV).

A partir da figura 5.17 é possível verificar que não ocorreu aparecimento de camada apatítica para nenhuma das condições testadas.

5.3.6 - Resistência à Compressão

Os resultados obtidos após os ensaios de compressão são apresentados na tabela 5.6.

Tabela 5.6 - Valores médios e desvio padrão relativos à variação mássica das peças correspondentes ao modelo 3 com o novo tratamento térmico. * $p < 0,05$ quando comparado com Al100:0BV, • $p < 0,05$ quando comparado com Al95:5BV, ◊ $p < 0,05$ quando comparado com Al99:1BV.

Formulação	Média (MPa)
Al100:0BV	0,40 ± 0,12
Al99,5:0,5BV	0,84 ± 0,72 ◊
Al99:1BV	1,27 ± 0,04 *•
Al95:5BV	1,69 ± 0,09 *

A partir da análise estatística dos resultados é possível verificar que todas as peças produzidas com alumina/*bioglass 4555* apresentaram maior resistência à compressão quando comparado com as peças formadas exclusivamente por alumina. O que indica que a adição de *bioglass 4555* provoca um aumento significativo na resistência da peça, fato comprovado quando se analisa a formulação de alumina com 5% de *bioglass 4555* que apresenta um valor de resistência à compressão estatisticamente mais elevado (1,69 MPa) as restantes formulações que apresentam teores mais baixos de *bioglass 4555*, nomeadamente a 1% e 0,5%.

5.4 - Especificações da Resina “Home-Made”

Conforme se referiu no capítulo introdutório, durante a dissertação foram analisados os componentes que fazem parte das resinas comercial existentes no mercado, com o objetivo de, no futuro, se poder vir a substituir a resina comercial por uma outra, de fabrico próprio, mas

que possua idênticas propriedades de impressão, garantindo o domínio de todo o processo de fabrico de impressão por DLP.

Com base na pesquisa efetuada propõe-se que sejam testadas, em trabalhos futuros, impressões com as seguintes formulações de resina (as quantidades não são reveladas por motivos de confidencialidade):

- Formulação A - composta por CQ, PEG e DMAEMA;
- Formulação B - composta por CQ, PEG, DiTMPTA e DMAEMA;
- Formulação C - composta por CQ, PEG, BEA e DMAEMA;
- Formulação D - composta por CQ, PEG, DiTMPTA, BEA e DMAEMA.

A formulação A foi proposta como a base de uma resina fotocurável que possa ser usada na impressão por DLP. A adição de DiTMPTA na formulação B tem como objetivo aumentar a reticulação da resina, promovendo o *crosslinking* do PEG. A utilização de BEA, um diluente não reativo, permitirá a redução da viscosidade da resina. A última formulação a ser proposta já apresenta quer BEA e DiTMPTA, sendo que a ação conjunta destes reagentes irá ter um efeito benéfico na resina produzida combinando o aumento do *crosslinking* do PEG com a diminuição da resina que, como já foi estudado nesta dissertação, tem um papel fulcral na impressão por DLP.

Capítulo 6: Conclusões e Trabalhos Futuros

A técnica de DLP utilizada nesta dissertação permitiu a produção de peças formadas exclusivamente por alumina e por materiais alumina/*bioglass 4555* com diferentes concentrações de *bioglass 4555* que se assemelham à morfologia do osso trabecular humano, que era o objetivo principal que se pretendia atingir.

Existem, no entanto, alguns parâmetros a modificar no processo de modelação DAC de forma que o tamanho de poros seja diminuído, o que certamente aumentará a resistência mecânica das peças impressas, que se revelou bastante inferior à resistência do osso humano. Foi ainda possível obter peças com uma porosidade global elevada e interconectiva, capaz de servir de *scaffolds* para o crescimento ósseo pelo interior das peças. Da mesma forma, a estrutura global das peças assemelha-se ao osso trabecular humano, embora o tamanho das trabéculas apresentasse valores ligeiramente superiores (200 μm para 400 μm).

Todos estes fatores acima descritos podem ser melhorados em trabalhos futuros, através do ajuste dos parâmetros do processo de modelação DAC 3D, uma vez que esta tecnologia possibilita uma capacidade ilimitada de se alterar a geometria global dos objetos.

As suspensões cerâmicas preparadas, os agentes dispersantes utilizados e o processamento global utilizado no fabrico das suspensões, mostraram que estas possuem uma viscosidade apropriada para o processo de impressão por DLP que deve ser inferior a 3000 mPa.s.

A adição de *biovidro 4555* à alumina, que tinha como objetivo conferir bioatividade às peças não se revelou eficaz, uma vez que não foi possível observar uma camada apatítica na superfície ao fim de 4 semanas de imersão em SBF. Propõe-se, em trabalhos futuros, aumentar a percentagem de *bioglass 4555* que é adicionada à alumina de forma a aumentar a bioatividade das peças.

Referências

1. Tian L, Yang R, Wei L, Liu J, Yang Y, Shao F, et al. Prevalence of osteoporosis and related lifestyle and metabolic factors of postmenopausal women and elderly men: A cross-sectional study in Gansu province, Northwestern of China. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(43):e8294-e.
2. Loi F, Córdova LA, Pajarinen J, Lin T-h, Yao Z, Goodman SB. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*. 2016;86:119-30.
3. Kolk A, Handschel J, Drescher W, Rothamel D, Kloss F, Blessmann M, et al. Current trends and future perspectives of bone substitute materials - From space holders to innovative biomaterials. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2012;40(8):706-18.
4. Gutierrez M, Lopes MA, Hussain NS, Cabral AT, Almeida L, Santos JD. Substitutos Ósseos : conceitos gerais e estado actual. *Arquivos de Medicina*. 2005;19:153-62.
5. Munch E, Franco J, Deville S, Hunger P, Saiz E, Tomsia A. Porous ceramic scaffolds with complex architectures. *JOM: the journal of the Minerals, Metals & Materials Society*. 2008;60:54-8.
6. Zocca A, Colombo P, Wirth C, Günster J. Additive Manufacturing of Ceramics: Issues, Potentialities, and Opportunities. *Journal of the American Ceramic Society*. 2015;98.
7. Wilson CE, van Blitterswijk CA, Verbout AJ, Dhert WJA, de Bruijn JD. Scaffolds with a standardized macro-architecture fabricated from several calcium phosphate ceramics using an indirect rapid prototyping technique. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22(1):97-105.
8. Avery A, Samad A, Athanassious C, Cohen J. Complications of bone graft harvest from the anterior and posterior ilium and the proximal tibia. *Current Orthopaedic Practice*. 2011;22(5):443-6.
9. Nazirkar G, Singh S, Dole V, Nikam A. Effortless Effort in Bone Regeneration: A Review. *Journal of international oral health : JIOH*. 2014;6:120-4.
10. Stevens B, Yang Y, Mohandas A, Stucker B, Nguyen K. A review of materials, fabrication methods, and strategies used to enhance bone regeneration in engineered bone tissues. *Journal of biomedical materials research Part B, Applied biomaterials*. 2008;85:573-82.
11. Bairo F, Novajra G, Vitale-Brovarone C. Bioceramics and Scaffolds: A Winning Combination for Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol*. 2015;3:202-.
12. Rider P, Kačarević ŽP, Alkildani S, Retnasingh S, Schnettler R, Barbeck M. Additive Manufacturing for Guided Bone Regeneration: A Perspective for Alveolar Ridge Augmentation. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(11):3308.
13. Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*. 2000;21(24):2529-43.
14. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3 Suppl 3(Suppl 3):S131-S9.

15. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J.* 2001;10 Suppl 2(Suppl 2):S96-S101.
16. Florencio-Silva R, Sasso GRdS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed research international.* 2015;2015:421746-.
17. Seeman E, Delmas PD. Bone Quality – The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *New England Journal of Medicine.* 2006;354(21):2250-61.
18. Wind H, Gouttebarga V, Kuijjer PP, Frings-Dresen M. Assessment of Functional Capacity of the Musculoskeletal System in the Context of Work, Daily Living, and Sport: A Systematic Review. *Journal of occupational rehabilitation.* 2005;15:253-72.
19. HENDRICKS SB, HILL WL. THE INORGANIC CONSTITUTION OF BONE. *Science.* 1942;96(2489):255-7.
20. HADJIDAKIS DJ, ANDROULAKIS II. Bone Remodeling. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2006;1092(1):385-96.
21. Saladin KS, Sullivan SJ, Gan CA. *Anatomy & physiology : the unity of form and function* 2015.
22. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell ... and more. *Endocr Rev.* 2013;34(5):658-90.
23. Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology E-Book: Elsevier Health Sciences;* 2016.
24. Lafage-Proust MH, Thomas T, Guignandon A, Malaval L, Rattner A, Vico L. Plasticity of osteoprogenitor cells. *Joint Bone Spine.* 2007;74(6):536-9.
25. Huang W, Yang S, Shao J, Li Y-P. Signaling and transcriptional regulation in osteoblast commitment and differentiation. *Front Biosci.* 2007;12:3068-92.
26. Gasser J, Kneissel M. *Bone Physiology and Biology.* 2017. p. 27-94.
27. Alford AI, Kozloff KM, Hankenson KD. Extracellular matrix networks in bone remodeling. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2015;65:20-31.
28. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *The Journal of biological chemistry.* 2010;285(33):25103-8.
29. Ho JY, Hendi AS. Recent trends in life expectancy across high income countries: retrospective observational study. *BMJ.* 2018;362:k2562-k.
30. Yach D, Leeder SR, Bell J, Kistnasamy B. Global Chronic Diseases. *Science.* 2005;307(5708):317-.
31. Mao AS, Mooney DJ. Regenerative medicine: Current therapies and future directions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112(47):14452-9.
32. Leeson S, Desai SP. Medical and Ethical Challenges During the First Successful Human Kidney Transplantation in 1954 at Peter Bent Brigham Hospital, Boston. *Anesthesia & Analgesia.* 2015;120(1):239-45.
33. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res.* 2014;9(1):18-.
34. Helmus MN, Gibbons DF, Cebon D. Biocompatibility: Meeting a Key Functional Requirement of Next-Generation Medical Devices. *Toxicologic Pathology.* 2008;36(1):70-80.
35. Kumar A, Mandal S, Barui S, Vasireddi R, Gbureck U, Gelinsky M, et al. Low temperature additive manufacturing of three dimensional scaffolds for bone-tissue engineering applications: Processing related challenges and property assessment. *Materials Science and Engineering: R: Reports.* 2016;103:1-39.

36. Goffard R, Sforza T, Clarinval A, Dormal T, Boilet L, Hocquet S, et al. Additive manufacturing of biocompatible ceramics. *Advances in Production Engineering & Management*. 2013;8:96-106.
37. Orciani M, Fini M, Di Primio R, Mattioli-Belmonte M. Biofabrication and Bone Tissue Regeneration: Cell Source, Approaches, and Challenges. *Front Bioeng Biotechnol*. 2017;5(17).
38. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends Biotechnol*. 2012;30(10):546-54.
39. Wang H, Li Y, Zuo Y, Li J, Ma S, Cheng L. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2007;28(22):3338-48.
40. Patel H, Bonde M, Srinivasan G. Biodegradable Polymer Scaffold for Tissue Engineering. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*. 2011;25.
41. Entire B. Bioceramics: From Clinic to Concept. *Bioceramics Development and Applications*. 2017;07.
42. Przekora A. Current Trends in Fabrication of Biomaterials for Bone and Cartilage Regeneration: Materials Modifications and Biophysical Stimulations. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(2):435.
43. Podaropoulos L, Veis AA, Papadimitriou S, Alexandridis C, Kalyvas D. Bone Regeneration Using B-Tricalcium Phosphate in a Calcium Sulfate Matrix. *Journal of Oral Implantology*. 2009;35(1):28-36.
44. Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes ÂM. BIOMATERIAIS: TIPOS, APLICAÇÕES E MERCADO. *Química Nova*. 2015;38:957-71.
45. Sekar M. ZIRCONIA AS A BIOCERAMIC MATERIAL. *International journal of restorative dentistry*. 2014;3:1-7.
46. Gibbs D, Vaezi M, Yang S, Oreffo R. Hope versus hype: What can additive manufacturing realistically offer trauma and orthopedic surgery? *Regenerative medicine*. 2014;9:535-49.
47. Guo N, Leu MC. Additive manufacturing: technology, applications and research needs. *Frontiers of Mechanical Engineering*. 2013;8(3):215-43.
48. Gazetta de Araujo G. Fabricação Aditiva: Tecnologias e Parâmetros. *REGRAD - Revista Eletrônica de Graduação do UNIVEM - ISSN 1984-7866*. 2018(01):417-32%V 10.
49. Liu Q, Leu MC, Schmitt SM. Rapid prototyping in dentistry: technology and application. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*. 2006;29(3):317-35.
50. Lohfeld S, Barron V, McHugh PE. Biomodels of Bone: A Review. *Annals of Biomedical Engineering*. 2005;33(10):1295-311.
51. Bercovich E, Javitt MC. Medical Imaging: From Roentgen to the Digital Revolution, and Beyond. *Rambam Maimonides Med J*. 2018;9(4):e0034.
52. Szilvsi-Nagy M, Mátyási G. Analysis of STL files. *Mathematical and Computer Modelling*. 2003;38.
53. Wong KV, Hernandez A. A Review of Additive Manufacturing. *ISRN Mechanical Engineering*. 2012;2012:10.
54. Chartier T, Chaput C, Doreau F, Loiseau M. Stereolithography of structural complex ceramic parts. *Journal of Materials Science*. 2002;37(15):3141-7.
55. Rangel JJA, Monteiro SN, Bobrovnichii GS, Skury ALD. Características microestruturais do diamante carbonado produzido com grafite brasileiro. *Matéria (Rio de Janeiro)*. 2008;13:162-70.

56. Wang X, Jiang M, Zhou Z, Gou J, Hui D. 3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective. *Composites Part B: Engineering*. 2017;110:442-58.
57. Bandyopadhyay A, Bose S, Das S. 3D printing of biomaterials. *MRS Bulletin*. 2015;40(2):108-15.
58. Aimar A, Palermo A, Innocenti B. The Role of 3D Printing in Medical Applications: A State of the Art. *Journal of Healthcare Engineering*. 2019;2019:10.
59. Placone JK, Engler AJ. Recent Advances in Extrusion-Based 3D Printing for Biomedical Applications. *Adv Healthc Mater*. 2018;7(8):e1701161-e.
60. Saboori A, Aversa A, Marchese G, Biamino S, Lombardi M, Fino P. Application of Directed Energy Deposition-Based Additive Manufacturing in Repair. *Applied Sciences*. 2019;9:3316.
61. Mueller B, Kochan D. Laminated object manufacturing for rapid tooling and patternmaking in foundry industry. *Computers in Industry*. 1999;39(1):47-53.
62. Yap YL, Wang C, Sing SL, Dikshit V, Yeong WY, Wei J. Material jetting additive manufacturing: An experimental study using designed metrological benchmarks. *Precision Engineering*. 2017;50:275-85.
63. Meteyer S, Xu X, Perry N, Zhao YF. Energy and Material Flow Analysis of Binder-jetting Additive Manufacturing Processes. *Procedia CIRP*. 2014;15:19-25.
64. Dimic-Misic K, Karakoc A, Ozkan M, Hashmi SG, Maloney T, Paltakari J. Flow characteristics of ink-jet inks used for functional printing. *Istrazivanja i projektovanja za privredu*. 2015;13:207-12.
65. Voet VSD, Strating T, Schnelting GHM, Dijkstra P, Tietema M, Xu J, et al. Biobased Acrylate Photocurable Resin Formulation for Stereolithography 3D Printing. *ACS Omega*. 2018;3(2):1403-8.
66. Johansson E, Lidström O, Johansson J, Lyckfeldt O, Adolfsson E. Influence of Resin Composition on the Defect Formation in Alumina Manufactured by Stereolithography. *Materials*. 2017;10:138.
67. Rajaguru K, Karthikeyan T, Vijayan V. Additive manufacturing - State of art. *Materials Today: Proceedings*. 2019.
68. Griffith M, Halloran J. Freeform Fabrication of Ceramics Via Stereolithography. *Journal of the American Ceramic Society*. 2005;79:2601-8.
69. Travitzky N, Bonet A, Dermeik B, Fey T, Filbert-Demut I, Schlier L, et al. Additive Manufacturing of Ceramic-Based Materials. *Advanced Engineering Materials* 16. 2014(6):729-54.
70. Gardan J. Additive manufacturing technologies: state of the art and trends. *International Journal of Production Research*. 2016;54(10):3118-32.
71. Borrello J, Nasser P, Iatridis J, Costa KD. 3D Printing a Mechanically-Tunable Acrylate Resin on a Commercial DLP-SLA Printer. *Additive manufacturing*. 2018;23:374-80.
72. Hinczewski C, Corbel S, Chartier T. Ceramic suspensions suitable for stereolithography. *Journal of the European Ceramic Society*. 1998;18(6):583-90.
73. Taormina G, Sciancalepore C, Messori M, Bondioli F. 3D printing processes for photocurable polymeric materials: technologies, materials, and future trends. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2018;16(3):151-60.
74. Komissarenko D, Sokolov P, Evstigneeva A, Shmeleva I, Dosovitsky A. Rheological and Curing Behavior of Acrylate-Based Suspensions for the DLP 3D Printing of Complex Zirconia Parts. *Materials*. 2018;11:2350.

75. Ligon SC, Liska R, Stampfl J, Gurr M, Mülhaupt R. Polymers for 3D Printing and Customized Additive Manufacturing. *Chem Rev.* 2017;117(15):10212-90.
76. Bagheri A, Jin J. Photopolymerization in 3D Printing. *ACS Applied Polymer Materials.* 2019;1(4):593-611.
77. Tsetsekou A, Agrafiotis C, Miliadis A. Optimization of the Rheological Properties of Alumina Slurries for Ceramic Processing Applications Part I: Slip-Casting. *Journal of the European Ceramic Society.* 2001;21:363-73.
78. Sinha A, Khan N, Das S, Zhang J, Halder S. Effect of reactive and non-reactive diluents on thermal and mechanical properties of epoxy resin. *High Performance Polymers.* 2017;30:095400831774330.
79. Chen QZ, Thompson ID, Boccaccini AR. 45S5 Bioglass®-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2006;27(11):2414-25.
80. Olhero SM, Ferreira JMF. Influence of particle size distribution on rheology and particle packing of silica-based suspensions. *Powder Technology.* 2004;139(1):69-75.
81. Feret F, Roy D, Boulanger C. Determination of alpha and beta alumina in ceramic alumina by X-ray diffraction. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy.* 2000;55:1051-61.
82. Doostmohammadi A, Monshi A, Salehi R, Fathi MH, Golniya Z, Daniels AU. Bioactive glass nanoparticles with negative zeta potential. *Ceramics International.* 2011;37(7):2311-6.
83. Das MR, Borah JM, Kunz W, Ninham BW, Mahiuddin S. Ion specificity of the zeta potential of α -alumina, and of the adsorption of p-hydroxybenzoate at the α -alumina-water interface. *Journal of Colloid and Interface Science.* 2010;344(2):482-91.
84. Dukhin AS, Goetz PJ, Klank D, Priester T. Concentrated Ceramic Slurries: Particle Size and Zeta Potential. *Ceramic Forum International.* 2003;80:E74-E83.
85. Gouvea D, S M. Influência das características ácido-básicas da superfície dos óxidos na estabilidade de suspensões cerâmicas de Al₂O₃ ou SnO₂ com dispersantes comerciais. *Cerâmica.* 2001;47.
86. Pabst W, Gregorová E, Berthold C. Particle Shape and Suspension Rheology of Short-Fiber Systems. *Journal of The European Ceramic Society - J EUR CERAM SOC.* 2006;26:149-60.
87. Maranzano B, Wagner N. The effects of interparticle interactions and particle size on reversible shear thickening: Hard-sphere colloidal dispersions. *Journal of Rheology - J RHEOL.* 2001;45.
88. Fiume E, Barberi J, Verné E, Bairo F. Bioactive Glasses: From Parent 45S5 Composition to Scaffold-Assisted Tissue-Healing Therapies. *J Funct Biomater.* 2018;9(1):24.
89. Brydone A, Meek D, Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need of bone engineering. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H, Journal of engineering in medicine.* 2010;224:1329-43.