UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL DOUTORADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO PATOLOGIA BUCAL

LUIZA MEURER BRAND

HIDROGÉIS À BASE DE COLÁGENO FUNCIONALIZADOS PARA APLICAÇÕES EM ENGENHARIA DE TECIDOS E BIOIMPRESSÃO

Porto Alegre
2026

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Brand, Luiza Meurer
HIDROGÉIS À BASE DE COLÁGENO FUNCIONALIZADOS PARA APLICAÇÕES EM ENGENHARIA DE TECIDOS E BIOIMPRESSÃO / Luiza Meurer Brand. -- 2026.
129 f.
Orientador: Marcelo Lazzaron Lamers.

Coorientadora: Bibiana Franzen Matte.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. Engenharia de tecidos. 2. Bioimpressão. 3. Colágeno. 4. Biomateriais . 5. Histologia. I. Lamers, Marcelo Lazzaron, orient. II. Matte, Bibiana Franzen, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

LUIZA MEURER BRAND

HIDROGÉIS BIOMIMÉTICOS À BASE DE COLÁGENO FUNCIONALIZADOS PARA APLICAÇÕES EM ENGENHARIA DE TECIDOS E BIOIMPRESSÃO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers
Co-orientadora: Dra. Bibiana Franzen Matte

Profe. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers (UFRGS) – orientador

Profe. Dr. Pantelis Varvaki Rados (UFRGS)

Profe. Dra. Laura Elena Sperling (UFRGS)

Profe. Dra. Myrian Christina Corrêa da Camara Hewson Brew (ULBRA)

Dedico este trabalho aos meus pais,
Cristina e Sérgio.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sérgio e Cristina (*in memoriam*), por todo o amor, suporte e exemplo desde sempre. Sem vocês, nada disso seria possível. Sou grata por ter vocês comigo nesta jornada e carrego o amor de vocês eternamente no meu coração. Amo vocês infinito e tenho muito orgulho e felicidade de ser filha de vocês.

À minha família, em especial à tia Rose, tia Inês, Ane, Rodi e Titi, por todo o apoio, carinho e acolhimento. Nos dias difíceis, vocês sempre estiveram ao meu lado, dividindo o peso da caminhada. Muito obrigada por tudo, amo vocês!

Ao meu orientador, Marcelo, por ter me acolhido desde a iniciação científica, por todos os ensinamentos, pela confiança e pelo apoio constante. Agradeço especialmente pelo suporte e compreensão durante os períodos mais difíceis do doutorado e por ser uma inspiração, tanto profissional quanto pessoal.

À minha coorientadora, Bibiana, por todos os ensinamentos e incentivos. Tu és uma grande inspiração para mim como mulher e pesquisadora, e há muito de ti na pessoa que sou hoje.

Aos meus colegas do NPBO, em especial Rita, Nati, Carol, Erick, Igor, Bruna, Deisi, Ana e Mari, pelas risadas, parceria e trocas diárias. Sem dúvida, ter vocês no dia a dia tornou essa trajetória mais leve, tranquila e feliz.

Aos meus colegas do LAMOC, em especial ao Leonardo e à Petra, por toda a ajuda fundamental para a realização deste trabalho. A parceria, a disponibilidade e o apoio de vocês foram essenciais, e tê-los no dia a dia tornou tudo melhor.

Aos professores da Patologia da UFRGS por todos os ensinamentos, pela convivência, pelas rotinas e pelas valiosas discussões que contribuíram para minha formação. Professor Pantelis, obrigada por todos os ensinamentos, palavras de carinho e apoio durante todos esses anos, tenho uma admiração enorme por ti!

Aos professores Lisiane Bernardi e José Antônio Poli de Figueiredo por todo o conhecimento compartilhado, oportunidades e apoio.

Aos meus amigos de vida, por torcerem por mim, me apoiarem e estarem presentes em todas as etapas da minha vida. Sou muito grata e feliz por ter pessoas tão boas comigo!

À Faculdade de Odontologia, ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da UFRGS e as agências de fomento, por possibilitar toda a minha formação acadêmica, desde a graduação até o doutorado.

RESUMO

A engenharia de tecidos tem avançado significativamente a partir do desenvolvimento de biomateriais capazes de mimetizar a matriz extracelular e modular de forma controlada o comportamento celular. Nesse contexto, hidrogéis à base de colágeno destacam-se pela elevada biocompatibilidade e bioatividade, embora apresentem limitações relacionadas à estabilidade mecânica, reologia e processabilidade. Assim, esta tese teve como objetivo desenvolver e caracterizar hidrogéis biomiméticos à base de colágeno funcionalizados, avaliando suas propriedades reológicas, estruturais e biológicas, bem como sua aplicabilidade em modelos tridimensionais (3D) e em estratégias de bioimpressão 3D. Inicialmente, foi realizada uma revisão integrativa da literatura, analisando sistemas baseados em colágeno, quitosana e hidroxiapatita aplicados à engenharia de tecidos e bioimpressão. Essa etapa evidenciou que a combinação desses materiais permite explorar efeitos sinérgicos, nos quais o colágeno favorece a adesão e sinalização celular, a quitosana contribui para estabilidade estrutural e atividade antimicrobiana, e a hidroxiapatita promove osteocondução e reforço mecânico, especialmente em aplicações voltadas a tecidos mineralizados. Na etapa experimental, foram desenvolvidas formulações de hidrogéis de colágeno funcionalizados com quitosana e hidroxiapatita, visando a modulação de suas propriedades físico-químicas e biológicas. As formulações demonstraram melhora na estabilidade e na resposta viscoelástica em comparação ao colágeno isolado. Em modelos celulares 3D, os hidrogéis funcionalizados apresentaram adequada biocompatibilidade, sustentando viabilidade celular, morfologia compatível com o microambiente 3D e maior organização celular, além de favorecerem a migração e a remodelação da matriz. Adicionalmente, foi avaliada a aplicabilidade dessas formulações como biotintas para bioimpressão 3D. Os hidrogéis funcionalizados apresentaram extrudabilidade adequada e preservação das propriedades viscoelásticas, mantendo elevada viabilidade celular após o processo de impressão. Por fim, nanotubos de titanato funcionalizados com prata foram avaliados em ambiente 2D quanto à resposta celular e à atividade antimicrobiana. Os resultados indicaram que esses nanomateriais apresentam ação antimicrobiana eficaz, associada à manutenção da compatibilidade celular em concentrações baixas, configurando uma estratégia promissora para incorporação em matrizes biomiméticas com propriedades antibacterianas integradas. Em conjunto, os achados desta tese

demonstram que a funcionalização de hidrogéis à base de colágeno constitui uma abordagem eficiente para o desenvolvimento de matrizes 3D biomiméticas, com propriedades ajustáveis e compatíveis com aplicações em engenharia de tecidos e bioimpressão, contribuindo para o avanço de estratégias translacionais na odontologia e na medicina regenerativa.

Palavras-chave: Engenharia de tecidos; Hidrogéis; Colágeno; Bioimpressão 3D; Biomateriais.

ABSTRACT

Tissue engineering has advanced significantly through the development of biomaterials capable of mimicking the extracellular matrix and modulating cellular behavior in a controlled manner. In this context, collagen-based hydrogels stand out due to their high biocompatibility and bioactivity, although they present limitations related to mechanical stability, rheological behavior, and processability. Therefore, the aim of this thesis was to develop and characterize functionalized collagen-based biomimetic hydrogels, evaluating their rheological, structural, and biological properties, as well as their applicability in three-dimensional (3D) models and in 3D bioprinting strategies. Initially, an integrative literature review was conducted, analyzing collagen-, chitosan-, and hydroxyapatite-based systems applied to tissue engineering and bioprinting. This analysis demonstrated that the combination of these materials enables the exploitation of synergistic effects, in which collagen promotes cell adhesion and signaling, chitosan contributes to structural stability and antimicrobial activity, and hydroxyapatite enhances osteoconductivity and mechanical reinforcement, particularly in applications targeting mineralized tissues. In the experimental phase, formulations of collagen hydrogels functionalized with chitosan and hydroxyapatite were developed to modulate their physicochemical and biological properties. These formulations demonstrated improved stability and viscoelastic response compared to collagen alone. In 3D cellular models, the functionalized hydrogels exhibited adequate biocompatibility, supporting cell viability, morphology compatible with the 3D microenvironment, and enhanced cellular organization, while also promoting cell migration and matrix remodeling. In addition, the applicability of these formulations as bioinks for 3D bioprinting was evaluated. The functionalized hydrogels showed adequate extrudability and preservation of viscoelastic properties, maintaining high cell viability after the printing process. Finally, silver-functionalized titanate nanotubes were evaluated for cellular response and antimicrobial activity. The results indicated that these nanomaterials exhibit effective antimicrobial activity while maintaining cellular compatibility at low concentrations, representing a promising strategy for incorporation into biomimetic matrices with integrated antibacterial properties. Overall, the findings of this thesis demonstrate that the functionalization of collagen-based hydrogels constitutes an efficient approach for the development of biomimetic 3D matrices with tunable properties compatible with tissue engineering and

bioprinting applications, contributing to the advancement of translational strategies in dentistry and regenerative medicine.

Keywords: Tissue engineering; Hydrogels; Collagen; 3D bioprinting; Biomaterials.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Diferenças estruturais e funcionais entre modelos de cultura celular 2D e 3D ……..……14
Figura 2 Biomateriais na engenharia de tecidos ……..……..18
Figura 3 Bioimpressão 3D como plataforma integrada para engenharia de tecidos e aplicações biomédicas ……...…26
Figura 4 Logotipo da Bink ……..…….117

Sumário

1 Introdução	12
1.1 Engenharia de tecidos	12
1.2 Hidrogeis	16
1.2.1 Colágeno	19
1.2.2 Quitosana	20
1.2.3 Hidroxiapatita	22
1.2.4 Nanotubos de titanato	24
1.3 Bioimpressão e Indústria 4.0	25
2 Hipótese	30
3 Objetivo	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4 Artigo Científico	32
4.1 Artigo Científico 1	32
4.2 Artigo Científico 2	66
4.3 Artigo Científico 3	96
5 Atividades Acadêmicas, Tecnológicas e de Inovação	116
6 Perspectivas	118
7 Conclusão	119
REFERÊNCIAS	121

1 INTRODUÇÃO

1.1 ENGENHARIA DE TECIDOS

A engenharia de tecidos é uma área interdisciplinar que integra princípios da biologia celular, ciência dos materiais e engenharia com o objetivo de desenvolver estratégias capazes de regenerar, substituir ou mimetizar tecidos humanos (Goulart, 2023). Por exemplo, modelos de pele equivalentes têm sido amplamente desenvolvidos para aplicações terapêuticas em cicatrização de feridas e estudos de resposta celular, com *scaffolds* bioativos que modulam a regeneração e sinalização celular em processos de epitelização e vascularização (Chen *et al.*, 2023; Correa-Araujo *et al.*, 2023). Além de seu papel na medicina regenerativa, essa área tem se consolidado como uma ferramenta fundamental para a criação de modelos experimentais avançados, permitindo o estudo de processos biológicos, patológicos e farmacológicos em ambientes controlados e mais fisiológicos (Meretsky *et al.*, 2024; Wheeler and Leach, 2025). Esses também são utilizados como plataformas *in vitro* para triagem de fármacos, análise de toxicidade e eficiência (Brand *et al.*, 2023; 2024).

Avanços na regeneração óssea também tem sido desenvolvido, em que hidrogéis e *scaffolds* bioativos são utilizados para suportar adesão, proliferação e diferenciação osteogênica, bem como a deposição de matriz mineralizada e integração com o tecido hospedeiro (Ding *et al.*, 2023). Essas abordagens têm sido exploradas tanto em modelos *in vitro* de formação óssea quanto em estratégias de reparo de defeitos críticos de osso, com potencial translacional para aplicações clínicas em reconstruções craniofaciais e reparo de fraturas complexas (Fu *et al.*, 2021; Slavin *et al.*, 2024). Nesse contexto, o desenvolvimento de sistemas *in vitro* cada vez mais representativos do microambiente tecidual tem ampliado significativamente o potencial de investigação científica, reduzindo a dependência de modelos animais e aumentando a relevância translacional dos estudos (Wheeler and Leach, 2025).

Abordagens inovadoras na odontologia têm sido desenvolvidas com foco na regeneração de estruturas dentárias e periodontais que tradicionalmente apresentam capacidade limitada de autorreparo (Almeida *et al.*, 2024). Biomateriais têm sido amplamente investigados como matrizes 3D capazes de mimetizar aspectos da matriz

extracelular, promover a liberação controlada de fatores bioativos e melhorar a resposta tecidual em defeitos de polpa dentária, periodonto e osso alveolar, superando limitações das terapias convencionais e reduzindo morbidade associada a técnicas invasivas. Estudos demonstram que hidrogéis injetáveis podem ser projetados para entregar células, fatores de crescimento ou agentes antimicrobianos diretamente ao sítio lesado, favorecendo integração biológica e reparo tecidual em modelos de regeneração periodontal e de polpa-dentina, incluindo melhorias estruturais e funcionais evidenciadas em investigações pré-clínicas (Atila and Kumaravel, 2023; Wang and Gao, 2024; Dongwen *et al.*, 2025).

Além disso, biomateriais avançados como membranas de barreira implantáveis e *scaffolds* têm expandido as possibilidades de aplicação em regeneração guiada de tecidos orais, com potencial para orientar cicatrização periodontal, suporte de neoformação óssea alveolar e restauração de microambientes biológicos complexos no contexto da terapia endodôntica regenerativa (Chen *et al.*, 2025). A incorporação de materiais naturais e sintéticos permite a criação de sistemas que estimulam a adesão, proliferação e diferenciação celular em diferentes tipos teciduais, sendo explorados tanto em pesquisas de tecidos moles como em tecidos mineralizados do complexo estomatognático (Sharma *et al.*, 2024).

Historicamente, os estudos *in vitro* foram conduzidos predominantemente por meio de culturas bidimensionais (2D), nas quais as células são cultivadas em superfícies rígidas e planas. Esse modelo contribuiu para a compreensão de mecanismos celulares básicos, oferecendo uma técnica simples, reprodutível e padronizada, entretanto apresenta limitações importantes, uma vez que não reproduzem adequadamente a complexidade e características dos tecidos encontrados *in vivo*. Em ambientes 2D, as células frequentemente exibem alterações na morfologia, polaridade e fenótipo, uma vez que as interações célula–matriz são limitadas, as interações célula–célula ocorrem de forma planar e a distribuição de nutrientes, fatores de crescimento, metabólitos ou drogas é homogênea (Figura 1), resultando em respostas celulares que podem divergir daquelas observadas *in vivo*, o que compromete a capacidade preditiva desses sistemas (Edmondson *et al.*, 2014; KapałCzyńSka *et al.*, 2018; Chen and Wang, 2020)

Em contraste, os modelos tridimensionais (3D) emergiram como alternativas mais fisiologicamente relevantes, uma vez que permitem a organização espacial das

células e a reprodução de interações célula–célula e célula–matriz mais próximas das condições naturais (Chen and Wang, 2020). Sistemas 3D possibilitam o estabelecimento de gradientes de oxigênio, nutrientes e metabólitos, além de favorecerem e modelarem comportamentos celulares complexos, como migração, remodelação da matriz extracelular e diferenciação (Figura 1). Por essas razões, os modelos 3D têm sido amplamente usados em engenharia de tecidos, medicina regenerativa e testes pré-clínicos como ferramenta essencial para o desenvolvimento de estratégias mais translacionais (Xie *et al.*, 2024).

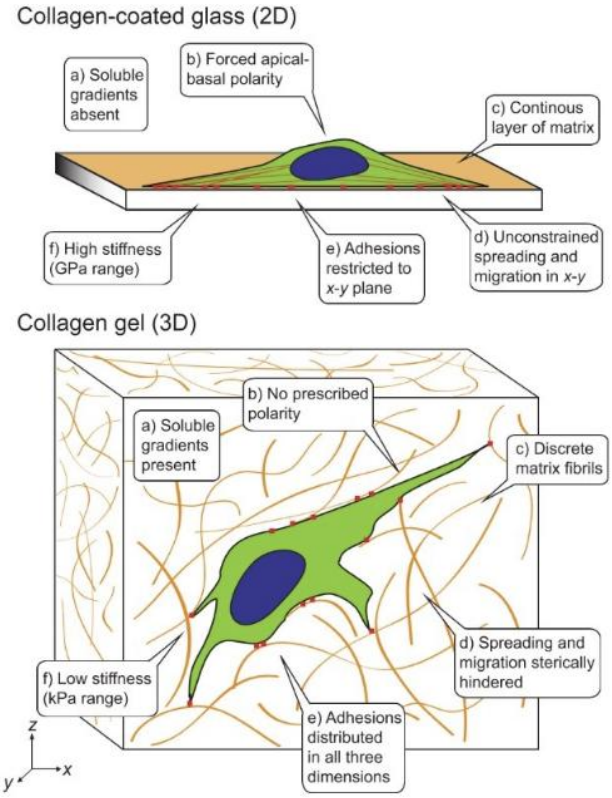


Figura 1. *Diferenças estruturais e funcionais entre modelos de cultura celular 2D e 3D.* Representação esquemática das diferenças entre culturas celulares em 2D e 3D, destacando variações na rigidez do substrato, organização da matriz, distribuição das adesões celulares, polaridade e padrões de migração. Imagem adaptada de Chen, 2020 (Chen and Wang, 2020).

Para o estabelecimento dos modelos 3D, a matriz extracelular (MEC) desempenha um papel central (Liu, C. *et al.*, 2022). Mais do que um suporte estrutural, a MEC atua como um componente dinâmico do microambiente tecidual, fornecendo sinais bioquímicos e mecânicos que influenciam diretamente processos como adesão, proliferação, migração e diferenciação celular (Liu, C. *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2025). Além de fornecer sítios de ligação específicos para receptores celulares, como

integrinas, a MEC modula a formação e maturação de adesões focais, a organização do citoesqueleto de actina e a geração de forças contráteis intracelulares (Shih *et al.*, 2011; Katoh, 2025). Evidências demonstram que o aumento da rigidez da MEC está associado à maior estabilização das adesões mediadas por integrinas, intensificação da sinalização via FAK e ativação de vias mecanossensíveis como YAP/TAZ, resultando, em muitos contextos, em aumento da proliferação celular e direcionamento da diferenciação para fenótipos compatíveis com tecidos mecanicamente mais rígidos (Tiskratok *et al.*, 2025).

Em contrapartida, matrizes mais viscoelásticas ou com maior capacidade de relaxamento de tensão reduzem a maturação das adesões focais e limitam a geração de tensão citoesquelética sustentada. Nessas matrizes, o relaxamento dependente do tempo dissipa as forças exercidas pelas células, resultando em menor estabilização dos complexos de adesão e em modulação da sinalização mecanossensível (Chaudhuri *et al.*, 2016; Chaudhuri *et al.*, 2020). Como consequência, processos como espalhamento celular, proliferação e diferenciação passam a ser regulados não apenas pela rigidez inicial da matriz, mas também pela sua resposta temporal às forças celulares, refletindo de forma mais fiel o comportamento mecânico da matriz extracelular nativa (Chaudhuri *et al.*, 2020; Elosegui-Artola, 2021; Tang and Liu, 2023; Zhao *et al.*, 2025). A arquitetura fibrilar, densidade e porosidade da MEC também exercem influência direta sobre a migração celular, uma vez que redes mais densas e organizadas podem restringir o deslocamento celular ou induzir migração dependente de remodelação proteolítica mediada por metaloproteinases de matriz, enquanto matrizes menos compactas favorecem migração mais eficiente (Xu *et al.*, 2025). Adicionalmente, a capacidade da MEC de ser dinamicamente remodelada permite a redistribuição espacial das forças mecânicas e a liberação controlada de fatores de crescimento ligados à matriz, modulando o balanço entre proliferação, migração e diferenciação celular (Hynes, 2009; Urbanczyk *et al.*, 2020). Nesse contexto, a capacidade de modelos 3D em reproduzir de forma controlada esses parâmetros da MEC nativa constitui um fator determinante para a fidelidade biológica e funcional dos sistemas desenvolvidos.

Entre as diferentes abordagens para a construção de matrizes 3D biomiméticas, os hidrogéis têm se destacado como plataformas versáteis e amplamente utilizadas. Esses materiais poliméricos apresentam propriedades semelhantes às dos tecidos moles, permitindo a encapsulação de células em um

ambiente 3D biologicamente favorável. Hidrogéis podem ser formulados a partir de polímeros naturais ou sintéticos, possibilitando o ajuste de sua composição, arquitetura e propriedades físico-químicas de acordo com a aplicação desejada. No entanto, apesar dos avanços, ainda existem desafios relacionados ao controle das propriedades mecânicas, à estabilidade estrutural e à adequação desses materiais a tecnologias emergentes, como a bioimpressão 3D, evidenciando a necessidade de estratégias que permitam a modulação integrada das características bioquímicas e reológicas das matrizes utilizadas (Carletti *et al.*, 2011; Norouzi *et al.*, 2024). Assim, a escolha do material base para modelos é uma etapa crucial, pois ela irá mimetizar a matriz extracelular e influenciar na resposta celular.

1.2 HIDROGÉIS

Os hidrogéis desempenham papel fundamental na engenharia de tecidos, uma vez que são responsáveis por reproduzir as principais características estruturais, bioquímicas e mecânicas dos tecidos nativos (Caliari and Burdick, 2016). O conceito de biomimetismo, nesse contexto, baseia-se na capacidade de um material em interagir com as células de maneira ativa, promovendo sinais que orientam sua adesão, proliferação, migração e diferenciação (Patel and Lim, 2019). Assim, mais do que atuar como suportes passivos, esses materiais são projetados para participar dinamicamente do microambiente celular, influenciando diretamente o comportamento e a função das células incorporadas ao sistema (Zhang *et al.*, 2021).

A escolha do material empregado na formulação dos hidrogéis é um fator determinante para o sucesso das estratégias de engenharia de tecidos, uma vez que materiais inadequados podem comprometer a viabilidade celular, a organização espacial das células e os processos de remodelação da matriz (Spicer, 2020). Hidrogéis destinados a essas aplicações devem ser biocompatíveis, permitindo a sobrevivência e função celular sem induzir respostas citotóxicas e gerar respostas inflamatórias mínimas, além de apresentar bioatividade adequada, favorecendo a adesão celular. As propriedades mecânicas, incluindo rigidez e viscoelasticidade, devem ser ajustadas de forma a mimetizar o microambiente do tecido alvo, uma vez que esses parâmetros regulam a geração de tensão citosquelética, a sinalização mecanossensível e o destino celular (Ho *et al.*, 2022; Carton *et al.*, 2024; Xu *et al.*, 2025).

Adicionalmente, a porosidade, a interconectividade e a arquitetura 3D do hidrogel são fundamentais para permitir a difusão eficiente de nutrientes, oxigênio e metabólitos, bem como a migração celular e a deposição de nova matriz extracelular (Liu, Z. *et al.*, 2025). A degradabilidade controlada constitui outro requisito essencial, pois possibilita a remodelação progressiva do material pelas células, acompanhando a formação do tecido neoformado e evitando a persistência de uma matriz artificial que possa interferir na integração funcional (Khan *et al.*, 2024).

Materiais com atividade antimicrobiana intrínseca ou funcionalizados com agentes antimicrobianos podem reduzir o risco de infecção, inibir a formação de biofilmes e contribuir para um microambiente mais favorável à regeneração tecidual, visto que a presença de microorganismos pode comprometer a viabilidade celular, retardar o processo de regeneração e induzir respostas inflamatórias indesejadas. Assim, a incorporação de características antimicrobianas aos hidrogéis deve ser cuidadosamente equilibrada, de modo a preservar a biocompatibilidade e a funcionalidade celular, sem interferir negativamente nas propriedades mecânicas e estruturais do material (Khan *et al.*, 2024)

Os hidrogéis devem apresentar também processabilidade adequada, incluindo capacidade de gelificação sob condições fisiológicas e estabilidade estrutural compatível com a aplicação pretendida, especialmente em estratégias que envolvem biofabricação ou bioimpressão. Dessa forma, o ajuste racional dessas propriedades permite o desenvolvimento de hidrogéis capazes de promover interações célula–matriz eficazes, prevenir complicações infecciosas e favorecer a formação de estruturas teciduais funcionais (Ho *et al.*, 2022; Goswami *et al.*, 2026).

De modo geral, os materiais empregados em engenharia de tecidos podem ser classificados em polímeros naturais, polímeros sintéticos ou sistemas híbridos. *Polímeros naturais*, como colágeno, gelatina, quitosana e ácido hialurônico, apresentam elevada biocompatibilidade e bioatividade, uma vez que mimetizam componentes da matriz extracelular nativa, favorecendo o reconhecimento celular. Entretanto, esses materiais frequentemente apresentam limitações relacionadas à estabilidade mecânica e à reprodutibilidade (Reddy *et al.*, 2021; Fang *et al.*, 2023). Por outro lado, *polímeros sintéticos* oferecem maior controle sobre propriedades físico-químicas e mecânicas, embora, em muitos casos, apresentam menor bioatividade (Figura 2). Dessa forma, *sistemas híbridos* têm sido amplamente

explorados como estratégia para combinar as vantagens de ambos os sistemas (Reddy *et al.*, 2021).

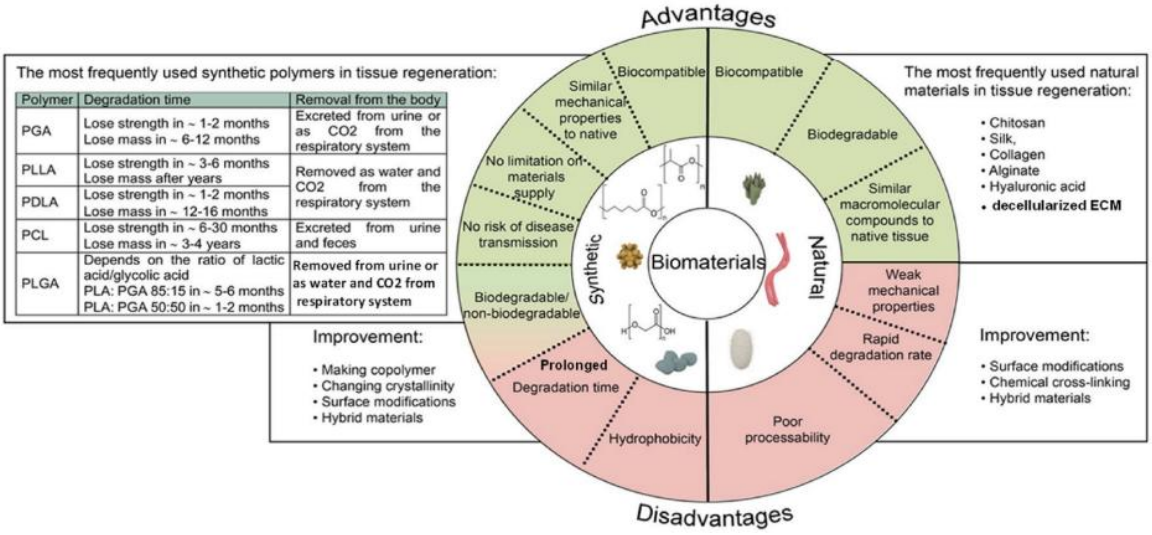


Figura 2. *Biomateriais na engenharia de tecidos*. Representação esquemática dos principais biomateriais utilizados em engenharia de tecidos, comparando polímeros sintéticos e naturais quanto às suas vantagens e limitações. A figura também evidencia estratégias de aprimoramento, como modificações de superfície, reticulação química e desenvolvimento de sistemas híbridos, visando combinar as propriedades favoráveis de ambos os materiais. Adaptada de Norouzi, 2024 (Norouzi *et al.*, 2024).

Diante desses desafios, estratégias de funcionalização e combinação de materiais têm sido amplamente investigadas com o objetivo de aprimorar o desempenho das matrizes biomiméticas. A incorporação de diferentes polímeros naturais, bem como de fases minerais ou bioativas, permite ajustar simultaneamente propriedades bioquímicas, mecânicas e estruturais, resultando em sistemas mais versáteis e biológicos. Nesse contexto, o colágeno destaca-se como um dos materiais mais promissores na engenharia de tecidos, servindo como base para o desenvolvimento de hidrogéis funcionalizados com outros componentes, como a quitosana e a hidroxiapatita (Becerra, J. *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2023). Adicionalmente, materiais sintéticos nanoestruturados podem ser adicionados aos hidrogéis de colágeno, como por exemplo os derivados de titanato, sendo estas modificações (quitosana, hidroxiapatita e titanatos) abordados nos tópicos subsequentes.

1.2.1 COLÁGENO

O colágeno, principalmente do tipo I, é amplamente reconhecido como um dos biomateriais mais relevantes para aplicações em engenharia de tecidos, em função de sua abundância na matriz extracelular e de sua participação direta na organização estrutural e funcional dos tecidos (Amirrah *et al.*, 2022). Como principal proteína da MEC, o colágeno confere suporte, define a arquitetura 3D do tecido e atua como um reservatório de sinais bioquímicos capazes de regular o comportamento celular (Zhou *et al.*, 2024). A presença de domínios específicos de ligação celular, como sequências reconhecidas por integrinas, permite interações célula–matriz altamente reguladas, influenciando processos essenciais, incluindo adesão, migração, proliferação e diferenciação celular (Hynes, 2002; Chastney *et al.*, 2025).

Hidrogéis à base de colágeno apresentam elevada biocompatibilidade e capacidade de mimetizar o microambiente 3D dos tecidos, tornando-se plataformas amplamente utilizadas para cultura celular 3D, modelos *in vitro* avançados e aplicações em medicina regenerativa (Sowbhagya *et al.*, 2024). Evidências *in vivo* reforçam o potencial regenerativo desse hidrogel já com boas perspectivas no campo de regeneração em odontologia. Em modelos caninos de lesões de furca, o uso de hidrogéis à base de colágeno resultou na indução de neoformação óssea, além de intensa infiltração celular e neovascularização, conforme demonstrado por análises histológicas em hematoxilina e eosina (HE), indicando um microambiente favorável à regeneração óssea (Momose *et al.*, 2016). De forma complementar, estudos recentes demonstraram que a associação de hidrogéis de colágeno com células-tronco, implantadas em dentes de cães com periodontite apical, promoveu regeneração pulpar e formação óssea na região da lesão periapical, evidenciando o papel do colágeno como matriz bioativa capaz de suportar processos regenerativos complexos (Iohara *et al.*, 2024).

A organização fibrilar do colágeno, associada ao seu alto teor de água, favorece a difusão de nutrientes e metabólitos, bem como a remodelação ativa da matriz pelas células incorporadas (Pires Figueiredo *et al.*, 2025). Além disso, a sensibilidade do colágeno a processos enzimáticos, como a degradação por metaloproteinases, permite que a matriz seja continuamente reorganizada, refletindo de forma mais fiel a dinâmica observada nos tecidos nativos (Kazemi *et al.*, 2025).

Apesar dessas vantagens, o uso do colágeno como material único apresenta limitações significativas, especialmente no que se refere ao controle de suas propriedades físico-químicas e mecânicas. Hidrogéis de colágeno isolado tendem a apresentar propriedades mecânicas deficientes, baixa viscosidade e longo tempo de gelificação, o que pode prejudicar a aplicabilidade em sistemas que exigem maior suporte mecânico (Wang *et al.*, 2022).

Nesse contexto, estratégias de modulação e funcionalização do colágeno têm sido amplamente investigadas com o objetivo de superar essas limitações e expandir seu espectro de aplicações. A combinação do colágeno com outros polímeros naturais ou com fases bioativas permite ajustar simultaneamente as propriedades mecânicas, reológicas e biológicas da matriz. Assim, o colágeno assume o papel de material base em sistemas híbridos biomiméticos, nos quais sua interação com componentes adicionais pode resultar em matrizes 3D mais estáveis, funcionais e compatíveis com abordagens avançadas de engenharia de tecidos e bioimpressão (Mazzocchi *et al.*, 2018).

1.2.2 QUITOSANA

A quitosana é um polissacarídeo natural obtido a partir da desacetilação parcial da quitina, presente principalmente no exoesqueleto de crustáceos e artrópodes, e tem se destacado como um biomaterial promissor para aplicações em engenharia de tecidos e medicina regenerativa (Szulc and Lewandowska, 2022). Sua estrutura química, rica em grupos amino livres e hidroxilas, confere propriedades físico-químicas e biológicas relevantes, como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa citotoxicidade e elevada hidrofilicidade, além da capacidade de formar *scaffolds* e hidrogéis porosos. Além de atuar como suporte estrutural, a quitosana pode desempenhar papel ativo na modulação do microambiente celular (Zhao *et al.*, 2018). Sua natureza catiônica favorece interações com proteínas da matriz extracelular e com a superfície celular, influenciando processos como adesão, organização do citoesqueleto, migração e deposição de matriz extracelular (Islam *et al.*, 2020). Estudos demonstram que matrizes à base de quitosana são capazes de modular o comportamento celular de forma dependente da composição e das propriedades mecânicas do sistema, evidenciando seu potencial para a construção de microambientes biomiméticos ajustáveis em engenharia de tecidos (Islam *et al.*,

2020). Adicionalmente, a quitosana apresenta atividade antimicrobiana intrínseca, associada principalmente a interações eletrostáticas entre seus grupos amino carregados positivamente e componentes negativamente carregados das membranas microbianas, levando à alteração da permeabilidade, à ruptura da integridade da membrana e à inibição de processos celulares essenciais, como replicação do DNA e síntese proteica (KołOdziejska *et al.*, 2021). Sua natureza catiônica também favorece a interação com fármacos aniônicos, possibilitando a formação de nanopartículas, micropartículas e compósitos com potencial para sistemas de liberação controlada (Pereira Parchen *et al.*, 2025).

A literatura demonstra que materiais à base de quitosana apresentam ampla aplicabilidade na regeneração de diferentes tecidos, incluindo cartilagem, osso e tecidos moles. *Scaffolds* de quitosana associados a polímeros naturais têm demonstrado capacidade de sustentar a manutenção do fenótipo condrocitário e favorecer a deposição de matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos, enquanto a incorporação de fases minerais, como a hidroxiapatita, potencializa a osteocondução e a formação de matriz mineralizada (Islam *et al.*, 2020). Em tecidos moles, como pele e estruturas vasculares, hidrogéis de quitosana têm contribuído para a cicatrização, angiogênese e remodelação tecidual, evidenciando sua versatilidade como matriz biomimética (Islam *et al.*, 2020).

No contexto odontológico, a quitosana tem sido explorada como biomaterial regenerativo em aplicações pulpares e na neoformação óssea. Em modelos experimentais de periodontite apical induzida em ratos, a aplicação de hidrogéis de quitosana no canal radicular promoveu neoformação óssea na região apical, recrutamento celular na polpa dentária e organização de tecido recém-formado. Foram observadas áreas com tecido semelhante ao cemento, contendo células compatíveis com cementoblastos e cementócitos, deposição de colágeno e ausência de bactérias, reforçando o potencial da quitosana para aplicações endodônticas regenerativas (Reis-Prado *et al.*, 2025). Em conjunto, essas evidências consolidam a quitosana como uma plataforma biomaterial versátil e funcional, capaz de atender às exigências biomecânicas e biológicas de distintos tecidos, reforçando sua relevância em estratégias avançadas de engenharia de tecidos e medicina regenerativa.

Apesar de suas vantagens, a aplicação da quitosana de forma isolada apresenta limitações importantes, incluindo baixa solubilidade em pH neutro e alcalino, estabilidade térmica limitada e resistência mecânica insuficiente para aplicações que exigem suporte estrutural prolongado ou submissão a cargas mecânicas (Yu *et al.*, 2025). Como consequência, hidrogéis de quitosana pura frequentemente exibem instabilidade estrutural, o que restringe seu uso em modelos 3D mais complexos e em tecnologias emergentes, como a bioimpressão 3D. Nesse contexto, a elevada versatilidade química da quitosana tem sido amplamente explorada por meio de modificações estruturais, reticulação física ou química e, principalmente, pela associação com outros biomateriais, como estratégia para superar essas limitações. A combinação com colágeno permite aprimorar a biomimetização da matriz extracelular e favorecer interações célula–matriz, enquanto a incorporação de fases minerais, como a hidroxiapatita, contribui para o aumento da rigidez, da estabilidade estrutural e da bioatividade osteocondutora, sendo particularmente relevante para aplicações em tecidos mineralizados (Becerra, José *et al.*, 2022; Ressler, 2022).

1.2.3 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) é o principal constituinte mineral dos tecidos mineralizados, especialmente do osso e do tecido dentário, sendo responsável por grande parte de suas propriedades mecânicas e funcionais (Ulian *et al.*, 2021). Devido à sua composição química semelhante à fase inorgânica da matriz óssea nativa, a hidroxiapatita tem sido amplamente utilizada em engenharia de tecidos como biomaterial bioativo, apresentando elevada biocompatibilidade, osteocondução e capacidade de integração com tecidos hospedeiros. Em matrizes 3D, sua incorporação visa não apenas reproduzir a composição do tecido mineralizado, mas também fornecer estímulos físico-químicos que favoreçam a regeneração tecidual (Shi *et al.*, 2021; Vijayan *et al.*, 2025).

A presença de hidroxiapatita exerce influência direta sobre a rigidez e o comportamento mecânico das matrizes (Barrera Bernal *et al.*, 2025). A incorporação de partículas minerais em hidrogéis resulta, em geral, no aumento do módulo elástico e da resistência à deformação, aproximando as propriedades mecânicas do material às do tecido ósseo nativo (Rial *et al.*, 2018; Wen *et al.*, 2023). Esse ajuste é

particularmente relevante, uma vez que a rigidez do microambiente é reconhecida como um fator determinante na modulação do comportamento celular, influenciando processos como adesão, migração e diferenciação, especialmente em tecidos sensíveis a estímulos mecânicos (Engler *et al.*, 2006).

Além do efeito mecânico, a hidroxiapatita contribui para a organização e arquitetura da matriz 3D, influenciando a porosidade, a interconectividade e a topografia superficial dos *scaffolds*, além de gerar microambientes heterogêneos que mimetizam a complexidade estrutural do tecido ósseo (Huang *et al.*, 2022). A presença da fase mineral atua ainda como reservatório de íons cálcio e fosfato, promovendo condições favoráveis à mineralização e à maturação da matriz extracelular depositada pelas células (Habraken *et al.*, 2016). Adicionalmente, a hidroxiapatita exerce papel ativo na sinalização celular, uma vez que suas interações físico-químicas com proteínas da matriz extracelular e a liberação controlada de íons favorecem a ativação de vias osteogênicas, estimulando a expressão de marcadores associados à diferenciação osteoblástica e à formação de tecido mineralizado, consolidando sua função não apenas estrutural, mas também bioativa na regulação do microambiente celular (Ojeda *et al.*, 2022; Mondal *et al.*, 2023).

Apesar de seus benefícios, a incorporação homogênea de hidroxiapatita em hidrogéis poliméricos ainda representa um desafio significativo. A tendência à aglomeração das partículas minerais, as diferenças de densidade entre as fases orgânica e inorgânica e as interferências no processo de gelificação podem resultar em distribuição heterogênea da hidroxiapatita, comprometendo tanto as propriedades mecânicas quanto a reprodutibilidade biológica do material. Concentrações elevadas de fase mineral também podem prejudicar a extrusabilidade e a estabilidade estrutural dos hidrogéis, especialmente em aplicações que envolvem bioimpressão 3D (Tejada Jacob *et al.*, 2022; Milazzo *et al.*, 2025).

Arcabouços de hidroxiapatita produzidos por impressão 3D e funcionalizados por automontagem camada-por-camada têm sido empregados para a liberação controlada de fatores osteogênicos e angiogênicos, como BMP-2 e VEGF, resultando em regeneração óssea vascularizada em modelos de defeito craniano, por meio da ativação sinérgica de vias de diferenciação osteoblástica e angiogênese (Chen *et al.*, 2020). De forma complementar, biocerâmicas avançadas, como a nano-hidroxiapatita

funcionalizada com magnésio, demonstram capacidade de coordenar osteogênese e formação vascular ao modular a liberação iônica e a sinalização celular, promovendo o acoplamento entre deposição mineral e neovascularização via regulação da via Runx2/VEGF (Montanari *et al.*, 2025). Além de evidências pré-clínicas, compósitos porosos de nano-hidroxiapatita associados a polímeros sintéticos já apresentam resultados clínicos promissores, com excelente osteointegração, biocompatibilidade e recuperação funcional a longo prazo em pacientes submetidos à reconstrução de defeitos ósseos (Xiong *et al.*, 2014; Liu, W. *et al.*, 2025).

Estratégias baseadas em sistemas compósitos, combinando hidroxiapatita com polímeros naturais como colágeno e quitosana, têm sido amplamente exploradas para superar essas limitações. O colágeno contribui para a mimetização da matriz extracelular orgânica e para a adesão celular, enquanto a quitosana auxilia na estabilidade estrutural, no controle da degradação e na interação com a fase mineral. *Scaffolds* combinando colágeno, quitosana e hidroxiapatita em um modelo de defeito ósseo em ratos apresentaram distribuição homogênea de hidroxiapatita na matriz, boa estrutura porosa e promoveram regeneração de tecido mineralizado, reforçando o potencial desses materiais em sistemas de reparo ósseo afetados por condições patológicas (Chacon *et al.*, 2023). A associação colágeno–quitosana–hidroxiapatita tem demonstrado potencial para gerar matrizes 3D com propriedades mecânicas ajustáveis, arquitetura adequada e bioatividade aprimorada, configurando uma abordagem promissora para aplicações em engenharia de tecidos mineralizados e em sistemas avançados de bioimpressão 3D.

1.2.4 NANOTUBOS DE TITANATO

Os nanotubos de titanato (TNTs) são nanomateriais tubulares obtidos, principalmente, por rotas hidrotermais alcalinas a partir do dióxido de titânio, resultando em estruturas tubulares com alta área superficial e elevada razão de aspecto (Saker *et al.*, 2024). Essas características estruturais conferem aos TNTs propriedades físico-químicas ajustáveis, como carga superficial, cristalinidade e capacidade de troca iônica, tornando-os atrativos para aplicações biomédicas (Boonrungsiman *et al*., 2017; Saker *et al.*, 2024). Em aplicações voltadas a tecidos mineralizados, a presença de nanotubos de titanato tem sido associada ao aumento da osteocondução, da mineralização da matriz extracelular e da integração tecido–

material, evidenciando seu potencial para engenharia óssea e interfaces tecido–implante (Gulati *et al*., 2022).

A incorporação de TNT em matrizes de colágeno configura uma estratégia promissora para aprimorar o microambiente celular 3D. Os TNTs apresentam propriedades físico-químicas favoráveis, elevada biocompatibilidade e capacidade de modular respostas celulares, sendo amplamente investigados para aplicações em engenharia de tecidos e medicina regenerativa, especialmente na regeneração óssea (Gusmão *et al*., 2022). A incorporação de TNT em matrizes 3D de colágeno aumentou significativamente a eficiência e a direcionalidade da migração celular, especialmente após períodos prolongados de incubação (Reinehr *et al*., 2025).

A possibilidade de funcionalização química e incorporação dos nanotubos hidrogéis biomiméticos tem ampliado seu uso em *scaffolds*, nos quais atuam como reforço mecânico e moduladores biológicos (Reinehr *et al.*, 2025). A funcionalização de nanotubos de titanato com íons metálicos, como cobre (Cu) e prata (Ag), tem sido explorada como estratégia para conferir atividade antimicrobiana às matrizes, uma vez que esses metais apresentam ação bactericida de amplo espectro associada à liberação controlada de íons e à geração de espécies reativas (Jose, *et al*., 2019; Trujillo-Casarreal, *et al.*, 2024). Nesse contexto, TNTs com Ag têm demonstrado eficácia na inibição da adesão bacteriana e na formação de biofilmes, ao mesmo tempo em que mantém compatibilidade celular, ampliando seu potencial para aplicações em engenharia de tecidos e superfícies biomédicas com propriedades antibacterianas integradas.

1.3. BIOIMPRESSÃO E INDÚSTRIA 4.0

A bioimpressão 3D representa uma das tecnologias mais promissoras dentro da engenharia de tecidos, possibilitando a fabricação de estruturas 3D complexas que combinam células, biomateriais e fatores bioativos em arquiteturas programadas com alta precisão (Kong and Zhao, 2023) (Figura 3). Ao permitir a deposição camada por camada de biotintas, tipicamente hidrogéis carregados com células e moléculas sinalizadoras, a bioimpressão cria microambientes que replicam características físico-químicas e biológicas da matriz extracelular nativa, favorecendo a funcionalidade dos tecidos produzidos e abrindo novas fronteiras para modelos experimentais, construção de tecidos equivalentes, testes de fármacos e terapias regenerativas (Hospodiuk *et al.*, 2017; Pavithra *et al.*, 2025).



Figure 3. *Bioimpressão 3D como plataforma integrada para engenharia de tecidos e aplicações biomédicas.* Representação esquemática da combinação de células, biomateriais e fatores bioativos em diferentes técnicas de bioimpressão (extrusão, jato de tinta e laser assistido), resultando em estruturas biomiméticas com aplicações em engenharia de tecidos, cicatrização de feridas e sistemas de liberação controlada de fármacos. Adaptado de Kong & Zhao, 2023 (Kong and Zhao, 2023).

Para que um biomaterial tenha características compatíveis com uma biotinta, alguns requisitos fundamentais devem ser atendidos. Primeiramente, a biotinta deve possuir extrudabilidade ou outra forma de processabilidade compatível com a técnica de impressão utilizada, o que geralmente exige comportamento reológico pseudoplástico, baixa viscosidade sob tensões de cisalhamento e recuperação estrutural rápida após a deposição para manter a fidelidade geométrica. Após a impressão, é igualmente essencial que a matriz apresente recuperação estrutural pós-extrusão, de modo a preservar a arquitetura projetada e resistir à fluência ou colapso. A manutenção da viabilidade celular é outro critério crítico, pois o processo de deposição pode expor as células a forças mecânicas que impactam negativamente sua sobrevivência, proliferação e função. Além disso, a biotinta deve conferir estabilidade mecânica adequada após a impressão, especialmente quando destinada

a aplicações teciduais que exigem resistência ao ambiente mecânico ou cultivo prolongado (Murphy and Atala, 2014).

Apesar dos progressos contínuos, muitas biotintas comerciais e experimentais ainda apresentam limitações significativas. Estratégias, como o uso de hidrogéis reforçados com nanomateriais ou o desenvolvimento de biotintas heterogêneas e compósitos, estão sendo exploradas para ultrapassar essas restrições e produzir tecidos mais complexos e funcionalmente relevantes (Kyle *et al.*, 2017; Ashammakhi *et al.*, 2019). No cenário da medicina geral, a bioimpressão tem sido aplicada em múltiplas frentes, incluindo a construção de tecidos vascularizados para ensaios farmacológicos, modelos de pele para testes de toxicidade e regeneração cutânea, e *scaffolds* ósseos para reparo de defeitos críticos, destacando sua capacidade de fornecer plataformas 3D que melhoram a predição biológica e reduzem a dependência de modelos animais ou 2D. Pesquisas também visam a impressão de órgãos funcionais e sistemas complexos, como tecidos hepáticos capazes de simular propriedades metabólicas humanas, o que poderá revolucionar a triagem de medicamentos e o estudo de doenças sistêmicas (Kim and Cho, 2024; Mirshafiei *et al.*, 2024; YüCer *et al.*, 2025).

A bioimpressão 3D tem sido usada de forma crescente como uma ferramenta capaz de produzir estruturas 3D biomiméticas que facilitam a reconstrução funcional de diferentes tecidos e órgãos pela deposição controlada de biotintas contendo células vivas e biomateriais (Liu, N. *et al.*, 2022). Plataformas de bioimpressão baseadas em hidrogéis têm sido amplamente utilizadas para a engenharia de cartilagem, promovendo a deposição de matriz extracelular rica em glicosaminoglicanos e colágeno tipo II, compatível com o fenótipo condrocitário e com padrões moleculares típicos do tecido nativo (Cui *et al.*, 2014; Daly *et al.*, 2017). Avanços também têm sido reportados na bioimpressão de tecidos pancreáticos, com a geração de construtos que reproduzem aspectos estruturais e funcionais dos compartimentos endócrino e exócrino, configurando uma abordagem promissora para estudos metabólicos e aplicações relacionadas ao diabetes (Marchioli *et al.*, 2015). No contexto cardiovascular, estratégias de bioimpressão têm possibilitado a fabricação de tecidos cardíacos espessos e redes vasculares perfundíveis, fundamentais para a manutenção da viabilidade celular e para a funcionalidade de tecidos metabolicamente ativos (Noor *et al.*, 2019).

Na Odontologia, embora a bioimpressão ainda se encontre em estágio mais inicial comparado à medicina regenerativa geral, os avanços já demonstram aplicações promissoras para regeneração de tecidos orais específicos. Estudos apontam que biotintas combinadas com células dentárias e fatores de crescimento podem ser usadas para criar tecidos mineralizados, semelhantes ao osso alveolar, e estruturas pulpares vascularizadas, com possibilidades de regeneração integrada de múltiplos componentes dentários (Ostrovidov *et al.*, 2023). Em aplicações pulpares, por exemplo, biotintas macias e altamente hidratadas favorecem a sobrevivência e a organização de células da polpa dentária, enquanto formulações enriquecidas com fases minerais, como a hidroxiapatita, têm sido exploradas para regiões ósseas e periodontais, promovendo maior rigidez, osteocondução e deposição de matriz mineralizada (Athirasala *et al.*, 2018; Deng *et al.*, 2022). Além disso, abordagens de bioimpressão multimaterial têm permitido a criação de gradientes de composição e propriedades mecânicas em uma única construção, possibilitando a fabricação de *scaffolds* com regiões funcionalmente distintas, mais próximas da arquitetura nativa do periodonto (Abedi *et al.*, 2022; Fischer *et al.*, 2025). A capacidade de projetar e fabricar estruturas personalizadas a partir de imagens 3D do paciente, como tomografia ou ressonância, exemplifica como a bioimpressão pode ser integrada à odontologia digital, ampliando a precisão diagnóstica e terapêutica e alinhando-se aos princípios da Indústria 4.0 (Zhao *et al.*, 2024; Liang *et al.*, 2025).

A bioimpressão é, portanto, um elemento central na transição da engenharia de tecidos para uma prática clínica personalizada e tecnologicamente integrada, permitindo a fabricação de tecidos e dispositivos biomédicos sob demanda. Essa convergência com a Indústria 4.0, que é caracterizada pela digitalização, automação e produção inteligente, habilita a personalização de tratamentos, a criação de modelos pré-cirúrgicos precisos e o desenvolvimento de soluções terapêuticas adaptadas às necessidades específicas de cada paciente, tanto na Medicina quanto na Odontologia (Mirshafiei *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2024).

O mercado global de bioimpressão 3D está em crescimento nas últimas décadas, impulsionado pela integração de manufatura avançada, biotecnologia e aplicações em medicina regenerativa e testes biomédicos. Estimativas recentes indicam que o mercado global de bioimpressão deverá alcançar valores na faixa de USD 2,4 - 2,9 bilhões em 2025, com projeções que ultrapassam USD 8 - 8,5 bilhões

até 2032-2033, mantendo taxas de crescimento anual composto (CAGR) na ordem de 12 - 16%, refletindo a crescente adoção de biotintas, sistemas de impressão e modelos 3D para aplicações clínicas e de pesquisa biomédica (https://www.gminsights.com/industry-analysis/3d-bioprinting-market). O mercado global de biotintas, segmento essencial dessa tecnologia, também tem apresentado expansão acelerada, com projeções que variam desde cerca de USD 96 milhões em 2024 até cerca de USD 736 milhões por volta de 2034, com taxas de crescimento anual acima de 22%, impulsionadas pela demanda em engenharia de tecidos, modelos de órgãos e medicina personalizada (https://www.gminsights.com/industry-analysis/3d-bioprinting-market). No âmbito nacional, o mercado brasileiro de bioimpressão 3D já apresenta sinais expressivos de desenvolvimento, estimando-se um valor de aproximadamente USD 65,5 milhões em 2023, com previsão de crescimento para cerca de USD 154,9 milhões até 2030, a uma CAGR estimada em 13,1%, destacando-se a área médica como principal segmento e a Odontologia como um dos setores com maior potencial de expansão (https://www.grandviewresearch.com/horizon/outlook/3d-bioprinting-market/brazil).

Esses dados de mercado reforçam diretamente a importância estratégica da pesquisa científica na área de bioimpressão e biotintas, uma vez que o crescimento acelerado do setor depende da geração contínua de conhecimento capaz de sustentar inovação, segurança e eficácia das tecnologias desenvolvidas. A expansão global e nacional do mercado evidencia uma demanda crescente por biotintas com propriedades reológicas, biológicas e mecânicas controláveis, adequadas tanto para modelos *in vitro* avançados quanto para aplicações translacionais em medicina regenerativa e Odontologia. Nesse contexto, a pesquisa acadêmica desempenha papel central ao investigar a relação entre composição, processamento e resposta celular, fornecendo bases científicas para o desenvolvimento de materiais mais biomiméticos, reprodutíveis e compatíveis com os requisitos regulatórios e industriais da Medicina 4.0. Assim, estudos voltados ao desenvolvimento e caracterização de hidrogéis funcionais e biotintas não apenas contribuem para o avanço do conhecimento fundamental em engenharia de tecidos, mas também atuam como elo essencial entre ciência, inovação tecnológica e aplicação clínica, sustentando o crescimento responsável e competitivo desse mercado emergente.

2 HIPÓTESE

A funcionalização de hidrogéis à base de colágeno gera uma matriz 3D biomimética com propriedades reológicas, estruturais e biológicas mais adequadas para aplicações em engenharia de tecidos, promovendo melhor suporte à organização, migração e remodelação celular em modelos 3D, além de viabilizar sua utilização como biotinta funcional em estratégias de bioimpressão 3D.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar hidrogéis biomiméticos à base de colágeno funcionalizados, avaliando suas propriedades reológicas, estruturais e biológicas, bem como sua aplicabilidade como biotintas para engenharia de tecidos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1. Realizar uma revisão da literatura sobre o uso de hidrogéis à base de colágeno, quitosana e hidroxiapatita em aplicações de engenharia de tecidos em modelos *in vitro* e *in vivo*.

3.2.2. Desenvolver e comparar formulações de hidrogéis de colágeno funcionalizados com quitosana e/ou hidroxiapatita, visando à modulação de suas propriedades biológicas e mecânicas.

3.2.3. Caracterizar o comportamento de polimerização e as propriedades reológicas das diferentes formulações de colágeno funcionalizados com quitosana e/ou hidroxiapatita.

3.2.4. Avaliar a resposta celular em modelo 3D, considerando viabilidade, morfologia, migração celular e remodelação da matriz das diferentes formulações de colágeno funcionalizados com quitosana e/ou hidroxiapatita.

3.2.5. Investigar a aplicabilidade da formulação colágeno funcionalizado com quitosana e hidroxiapatita como biotinta, analisando extrudabilidade, estabilidade estrutural pós-impressão, preservação das propriedades viscoelásticas e viabilidade celular após a bioimpressão 3D.

3.2.6 Avaliar a resposta celular, considerando viabilidade e migração celular 2D dos nanotubos de titanato funcionalizados com prata.

3.2.7 Avaliar a ação antimicrobiana dos nanotubos de titanato funcionalizados com prata.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

3.1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

Este artigo científico contempla a revisão obtidos a partir do desenvolvimento do objetivo específico 1 e será submetido no periódico Tissue Engineering and Regenerative Medicine (fator de impacto: 4,4).

A combinação de polímeros naturais tem sido amplamente investigada como estratégia para o desenvolvimento de biomateriais mais funcionais para engenharia de tecidos. Nesse contexto, colágeno, quitosana e hidroxiapatita destacam-se por sua elevada biocompatibilidade, bioatividade e relevância biomimética. Embora numerosos estudos abordem esses materiais de forma isolada ou em combinações específicas, a literatura ainda se encontra fragmentada quanto à correlação entre composição, propriedades físico-químicas, comportamento reológico, estratégias de biofabricação e desempenho biológico. Assim, esta revisão busca uma análise integrada e crítica dos avanços recentes envolvendo sistemas à base de colágeno, quitosana e hidroxiapatita, com ênfase em suas propriedades, estratégias de bioimpressão e impacto sobre respostas celulares, contribuindo para o direcionamento racional do desenvolvimento de biomateriais para engenharia de tecidos.

Collagen-, Chitosan-, and Hydroxyapatite-Based Composite Biomaterials for Tissue Engineering: Advances, Bioprinting Strategies, and Biological Performance

Luiza Meurer Brand[1]; Petra Reinehr[2]; Leonardo Francisco Diel[1]; Marcelo Lazzaron Lamers[3]

1 - Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 - Postgraduate Program in Physiology, Institute of Basic Health Sciences (ICBS), Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

3 - Department of Morphological Sciences, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail: marcelo.lamers@ufrgs.br; Address: Institute of Basic Health Science, Federal University of Rio Grande do Sul Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, RS, Brazil, Zip Code 90035-003

Keywords: Collagen, Hydroxyapatite, Chitosan, Bioengineering

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interests

ABSTRACT

BACKGROUND: Tissue engineering has emerged as a promising strategy to overcome the limitations of conventional graft-based therapies by integrating biomaterials, cells, and biofabrication technologies. Among naturally derived biomaterials, collagen, chitosan, and hydroxyapatite have attracted significant attention due to their intrinsic bioactivity, biocompatibility, and structural similarity to native tissues.

METHODS: Th This review provides a comprehensive analysis of the literature published between 2019 and 2025 on collagen-, chitosan-, and hydroxyapatite-based systems for tissue engineering applications, with particular emphasis on physicochemical and rheological properties, biological performance, and 3D bioprinting strategies, including a total of 72 selected articles.

RESULTS: The complementary roles of collagen in cell adhesion and signaling, chitosan in structural stability and antimicrobial activity, and hydroxyapatite in osteoconductivity and mechanical reinforcement are discussed, highlighting the synergistic effects achieved in composite formulations. Advances in extrusion-based 3D bioprinting demonstrate that these composites can be processed into structurally stable, cell-laden constructs suitable for bone, periodontal, cartilage, skin, and soft tissue regeneration. *In vitro* and *in vivo* studies consistently report enhanced cytocompatibility, osteogenic differentiation, and regenerative outcomes in tri-component systems compared to mono- or bicomponent materials. Additionally, increasing attention to sustainability and the use of waste-derived raw materials underscores the relevance of these biomaterials within a circular bioeconomy framework.

CONCLUSION: Despite significant progress, challenges remain regarding formulation standardization, optimization of bioprintable bioinks, and translation from *in vitro* to *in vivo* models. Addressing these gaps will be essential to advance collagen–chitosan–hydroxyapatite composites toward clinically relevant regenerative therapies.

3.2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

Este artigo científico contempla os resultados obtidos a partir do desenvolvimento dos objetivos específicos 2, 3, 4 e 5 e será submetido no periódico Tissue Engineering and Regenerative Medicine (fator de impacto: 4,4).

A crescente demanda por modelos 3D fisiológicos em engenharia de tecidos e bioimpressão tem evidenciado a necessidade de hidrogéis biomiméticos com propriedades bioquímicas e mecânicas ajustáveis. Embora o colágeno seja amplamente utilizado como matriz 3D devido à sua elevada biocompatibilidade, suas limitações mecânicas e de printabilidade restringem sua aplicação isolada. Nesse contexto, a funcionalização do colágeno com componentes bioativos, como quitosana e hidroxiapatita, surge como uma estratégia promissora para modular o comportamento reológico, a estabilidade estrutural e as respostas celulares. No entanto, ainda são escassos estudos que avaliem de forma integrada o impacto dessas modificações composicionais sobre a polimerização, a viscoelasticidade, o comportamento celular e a aplicabilidade em bioimpressão por extrusão.

Development and characterization of a collagen-based bioink with chitosan and hydroxyapatite for 3D bioprinting

Luiza Meurer Brand[1]; Petra Reinehr[2]; Ana Carolina Figueiredo[1]; Leonardo Francisco Diel[1]; Pamela Muller de Souza Silva[1]; Fernando Mendonça Diz[3]; Cesar Liberato Petzhold[4]; Luís Alberto dos Santos[5]; Bibiana Franzen Matte[6]; Marcelo Lazzaron Lamers[7]

1 - Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 - Postgraduate Program in Physiology, Institute of Basic Health Sciences (ICBS), Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

3 - Preclinical Research Center, Brain Institute of Rio Grande do Sul, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

4 - Institute of Chemistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

5 - Department of Materials, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

6- Nucleo Vitro, Porto Alegre, Brazil.

7- Department of Morphological Sciences, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail: marcelo.lamers@ufrgs.br; Address: Institute of Basic Health Science, Federal University of Rio Grande do Sul Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, RS, Brazil, Zip Code 90035-003

Keywords: functionalized bioink, tissue engineering, collagen, bone

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interests

ABSTRACT

BACKGROUND: Biomimetic hydrogels with tunable biochemical and mechanical properties are critical for advancing 3D cell culture and tissue engineering. This study evaluated four collagen-based (Co) formulations incorporating hydroxyapatite (Ha) and chitosan (Ch) (Co, CoHa, CoCh, and CoChHa) to investigate how compositional modifications influence polymerization behavior, viscoelasticity, cellular responses, and suitability for extrusion bioprinting.

METHODS: Collagen-based hydrogels were characterized for polymerization kinetics and rheological behavior. Primary human fibroblast viability, proliferation, morphology, migration, and matrix remodeling were evaluated in 3D cultures. Printability, post-extrusion cell viability, and microstructure were assessed using bioprinting, fluorescence microscopy, and scanning electron microscopy.

RESULTS: Rheological analyses revealed distinct polymerization profiles, with Co exhibiting the fastest gelation and CoChHa the slowest. After gelation, all formulations showed pseudoplastic behavior compatible with extrusion. Fibroblasts displayed progressive proliferation, elongation, and matrix integration over 14 days, with CoCh and CoChHa promoting enhanced cellular adaptation. Picrosirius red staining demonstrated time-dependent collagen deposition and remodeling, particularly in Co and CoHa. Migration assays indicated that CoChHa supported greater and sustained cell motility at early and late stages. Based on combined rheological and biological performance, CoChHa was selected for bioprinting. Post-printing analyses confirmed high cell viability across scaffold depths, increased cell density over time, and preservation of viscoelastic properties. SEM revealed a highly porous and interconnected microstructure in CoChHa compared to the compact architecture of the control.

CONCLUSION: The CoChHa formulation provides an optimal balance between mechanical stability, biological performance, and printability, supporting its potential as a functionalized bioink for 3D bioprinting and tissue engineering applications.

3.3 ARTIGO CIENTÍFICO 3

Este artigo científico contempla os resultados obtidos a partir do desenvolvimento dos objetivos específicos 6 e 7 e será submetido no periódico Tissue Engineering and Regenerative Medicine (fator de impacto: 4,4).

O desenvolvimento de biomateriais bioativos com propriedades antimicrobianas e elevada citocompatibilidade é fundamental para o avanço das estratégias em engenharia de tecidos e modelos celulares avançados. Nanomateriais à base de titanato, como os nanotubos de titanato de sódio, têm despertado interesse devido à sua bioatividade, estabilidade e potencial para funcionalização. A incorporação de prata a esses sistemas representa uma abordagem promissora para conferir atividade antimicrobiana de amplo espectro, entretanto, os efeitos citotóxicos associados à prata ainda representam um desafio para sua aplicação biológica. Nesse contexto, a análise integrada da atividade antimicrobiana, citocompatibilidade e influência no comportamento celular de nanotubos de titanato funcionalizado, tanto em sistemas 2D quanto em matrizes 3D à base de colágeno, torna-se essencial para compreender o real potencial desses materiais como plataformas multifuncionais para aplicações biomédicas.

Antimicrobial Activity and Cytocompatibility of Titanate Nanotubes and Silver-Functionalized Titanate Nanotubes in 2D and 3D Models

Luiza Meurer Brand[1]; Petra Reinehr[2]; Fernando Mendonça Diz[3]; Marcelo Lazzaron Lamers[4]

1 - Faculty of Dentistry, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

2 - Postgraduate Program in Physiology, Institute of Basic Health Sciences (ICBS), Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

3 - Preclinical Research Center, Brain Institute of Rio Grande do Sul, Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

4 - Department of Morphological Sciences, Institute of Basic Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

* Corresponding author:

E-mail: marcelo.lamers@ufrgs.br; Address: Institute of Basic Health Science, Federal University of Rio Grande do Sul Rua Ramiro Barcelos 2600, Porto Alegre, RS, Brazil, Zip Code 90035-003

Keywords: Titanate nanotubes; Silver nanoparticles; Antimicrobial biomaterials; Cell migration; Tissue Engineering.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interests

ABSTRACT

BACKGROUND: The development of bioactive biomaterials is essential for tissue engineering applications. Here, sodium titanate nanotubes (TNT) and silver-functionalized titanate nanotubes (TNT-Ag) were evaluated for antimicrobial activity, cytocompatibility, and effects on cell behavior in 2D and 3D culture systems.

METHODS: TNT and TNT-Ag were synthesized and evaluated for antimicrobial activity against bacterial and fungal strains. Cytocompatibility and cell migration were assessed in 2D cultures using primary human fibroblasts. Collagen-based 3D matrices incorporating TNT or TNT-Ag were used to analyze cell viability, morphology, and organization.

RESULTS: TNT-Ag showed strong, concentration-dependent antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans* whereas TNT exhibited moderate effects. TNT maintained cell viability up to 5 µg/mL, while TNT-Ag induced dose-dependent cytotoxicity in 2D cultures at concentrations ≥ 5 µg/mL. TNT enhanced cell migration speed without affecting directionality, whereas TNT-Ag increased migration speed but reduced directional persistence. When incorporated into collagen-based 3D matrices, TNT-Ag did not compromise cell viability or morphology, despite its cytotoxicity in 2D, and supported cell spreading and network formation over time.

CONCLUSION: These results highlight TNT and TNT-Ag as promising multifunctional nanomaterials and emphasize the relevance of 3D models for accurately balancing antimicrobial efficacy and cytocompatibility in silver-based systems.

5 ATIVIDADES ACADÊMICAS, TECNOLÓGICAS E DE INOVAÇÃO

Durante minha trajetória acadêmica desenvolvida ao longo do doutorado, tive a oportunidade de atuar em atividades que integraram pesquisa científica, inovação tecnológica e empreendedorismo. Fui contemplada com bolsa de Doutorado Acadêmico para Inovação (MAIDAI), em parceria com a startup Núcleo Vitro, cujo objetivo é fomentar o desenvolvimento de soluções inovadoras a partir de desafios tecnológicos, aproximando a pesquisa acadêmica do setor produtivo.

Foram estabelecidas diferentes parcerias científicas e tecnológicas, destacando-se a colaboração com o INCT 3D Models, voltado ao desenvolvimento de modelos tridimensionais de diferentes tecidos e doenças. A partir dessa interação, consolidou-se uma parceria com a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), na qual foram desenvolvidos scaffolds em colaboração interinstitucional, além da elaboração de uma revisão de literatura em andamento sobre hidrogéis à base de polímeros naturais aplicados à regeneração periodontal.

Adicionalmente, participei de outros projetos de pesquisa desenvolvidos pelo grupo e por grupos parceiros, incluindo estudos na área de biologia do câncer, com foco na investigação da influência do microambiente tumoral ácido sobre a resposta imune no carcinoma espinocelular. Nesse contexto, fui responsável pela padronização da técnica de edição gênica por CRISPR-Cas9 no laboratório, aplicada ao silenciamento de genes relacionados à mecanotransdução em células tumorais. Atuei também no desenvolvimento e na aplicação de modelos tridimensionais (3D) de pele, mucosa e tecidos tumorais, bem como na padronização de modelos de cistogênese *in vitro* (10.1016/j.joen.2025.07.015; 10.1016/j.archoralbio.2025.106186). Além disso, participei da avaliação biológica de cimentos endodônticos em estudos realizados em parceria com outros grupos de pesquisa.

Paralelamente às atividades de pesquisa, participei ativamente nas atividades acadêmicas institucionais, atuando como representante discente em comissões, incluindo a Comissão de Pesquisa (COMPESQ) e a Comissão de Pós-Graduação (COMPG). As atividades acadêmicas também envolveram a coorientação de trabalhos de conclusão de curso e de projetos de iniciação científica, contribuindo para

a formação de recursos humanos e para o fortalecimento das atividades de ensino e pesquisa do programa.

As atividades desenvolvidas ao longo do doutorado extrapolaram a execução da tese, culminando na criação da startup Bink (www.bink.tec.br), uma iniciativa de base científica originada diretamente das pesquisas conduzidas no laboratório. A empresa tem como objetivo transformar o conhecimento científico gerado em soluções e produtos com potencial impacto social, a partir do desenvolvimento de biomateriais e hidrogéis aplicados à engenharia de tecidos e a modelos tridimensionais *in vitro*, com foco em aplicações clínicas em regeneração tecidual. A Bink encontra-se incubada no IECBiot da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e teve seu potencial inovador reconhecido por meio da aprovação em editais de fomento à inovação e ao empreendedorismo, como o programa Catalisa (SEBRAE) e o Doutor Empreendedor (FAPERGS).



Figura 4. Logotipo da startup Bink.

6 PERPECTIVAS

A biotinta desenvolvida neste estudo apresenta elevado potencial para aplicação como matriz 3D em modelos *in vitro* de tecidos moles e mineralizados, permitindo sua utilização com diferentes tipos celulares, incluindo células diferenciadas, como osteoblastos em modelos de regeneração óssea e queratinócitos em modelos cutâneos, bem como, de forma complementar, células-tronco mesenquimais, visando avaliar a capacidade do microambiente em sustentar processos de organização, diferenciação e maturação tecidual.

Além das aplicações *in vitro*, a biotinta apresenta potencial para uso como *scaffold* em estudos *in vivo*, especialmente em modelos experimentais de regeneração de tecidos moles e mineralizados. Suas propriedades biomiméticas, associadas à estabilidade estrutural e à bioatividade, indicam capacidade de sustentar a adesão, a viabilidade e a organização celular em microambientes compatíveis com a matriz extracelular nativa.

A incorporação de materiais sintéticos nanoestruturados, como os nanotubos de titanato, representa uma perspectiva adicional promissora para o aprimoramento funcional da biotinta. Esses nanomateriais podem atuar tanto como reforço mecânico quanto como moduladores biológicos do microambiente celular, influenciando processos como adesão, migração e organização celular. A funcionalização dos nanotubos de titanato com íons metálicos, como a prata, amplia ainda mais o espectro de aplicações ao conferir propriedades antimicrobianas às matrizes, aspecto particularmente relevante para aplicações odontológicas e em tecidos expostos a ambientes contaminados.

Assim, a integração de biomateriais naturais, como colágeno, quitosana e hidroxiapatita, com componentes sintéticos funcionalizados, como os nanotubos de titanato, abre perspectivas para o desenvolvimento de biotintas multifuncionais, capazes de aliar biomimetismo, controle estrutural, atividade antimicrobiana e compatibilidade com bioimpressão 3D. Essa abordagem híbrida posiciona a biotinta desenvolvida como uma plataforma versátil para estudos *in vitro* e *in vivo*, com potencial translacional para aplicações futuras em engenharia de tecidos, odontologia regenerativa e medicina personalizada.

7 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesta tese evidenciam que a funcionalização de hidrogéis à base de colágeno representa uma estratégia interessante e versátil para o desenvolvimento de matrizes biomiméticas aplicáveis à engenharia de tecidos e à bioimpressão 3D. A partir de uma abordagem integrada, que combinou revisão crítica da literatura e estudos experimentais, foi possível demonstrar que a associação do colágeno com quitosana e hidroxiapatita permite superar limitações inerentes ao uso do colágeno isolado, ampliando significativamente seu potencial de aplicação.

A revisão da literatura demonstrou que sistemas compósitos baseados em colágeno, quitosana e hidroxiapatita apresentam efeitos sinérgicos relevantes, refletidos na modulação das propriedades mecânicas, reológicas e biológicas das matrizes. Esses sistemas têm demonstrado desempenho superior em comparação a materiais mono ou bicomponentes, especialmente no que se refere à biocompatibilidade, à osteocondução e à adequação para técnicas de biofabricação, destacando sua relevância para aplicações em tecidos moles e mineralizados.

Na parte experimental, o desenvolvimento de hidrogéis de colágeno funcionalizados resultou em matrizes com comportamento reológico mais adequado, maior estabilidade estrutural e propriedades viscoelásticas compatíveis com modelos 3D de cultura celular. A resposta celular observada confirmou que essas matrizes são capazes de sustentar a viabilidade e a organização celular em 3D, além de favorecer processos dinâmicos, como migração e remodelação da matriz extracelular, fundamentais para a formação de tecidos funcionalmente relevantes.

A avaliação da aplicabilidade dos hidrogéis como biotintas demonstrou que as formulações desenvolvidas apresentam extrudabilidade adequada e capacidade de manter a integridade estrutural após a bioimpressão, sem comprometer a viabilidade celular. Esses achados reforçam o potencial translacional das matrizes propostas, especialmente no contexto da bioimpressão 3D como ferramenta integrada à Odontologia digital e à medicina regenerativa personalizada.

Adicionalmente, o estudo dos nanotubos de titanato funcionalizados com prata ampliou o escopo desta tese ao abordar a incorporação de propriedades antimicrobianas em sistemas biomiméticos. A atividade antimicrobiana associada à manutenção da compatibilidade celular indica que esses nanomateriais podem ser

utilizados como componentes funcionais em hidrogéis e biotintas, contribuindo para a prevenção de infecções e formação de biofilmes, um aspecto crítico em aplicações odontológicas e biomédicas.

De forma geral, esta tese contribui para o avanço do conhecimento na área de biomateriais e engenharia de tecidos ao demonstrar que a funcionalização racional de hidrogéis à base de colágeno permite o desenvolvimento de matrizes 3D com propriedades ajustáveis, biologicamente funcionais e compatíveis com tecnologias avançadas de biofabricação. Os resultados obtidos fornecem bases científicas para futuras investigações *in vivo*, bem como para o desenvolvimento de produtos e estratégias translacionais voltadas à regeneração de tecidos, reforçando o papel desses sistemas no contexto da Medicina e da Odontologia 4.0.

REFERÊNCIAS

ABEDI, N. et al. Layered scaffolds in periodontal regeneration. **Journal of Oral Biology and Craniofacial Research,** v. 12, n. 6, p. 782-797, 2022. ISSN 2212-4268.

ALMEIDA, N. D. et al. 3D Bioprinting Techniques and Bioinks for Periodontal Tissues Regeneration—A Literature Review. **Biomimetics.** v. 9, p. 480, 2024.

AMIRRAH, I. N. et al. A Comprehensive Review on Collagen Type I Development of Biomaterials for Tissue Engineering: From Biosynthesis to Bioscaffold. **Biomedicines,** v. 10, n. 9, Sep 16 2022.

ASHAMMAKHI, N. et al. Bioinks and bioprinting technologies to make heterogeneous and biomimetic tissue constructs. **Materials Today Bio,** v. 1, p. 100008, 2019.

ATHIRASALA, A. et al. A dentin-derived hydrogel bioink for 3D bioprinting of cell laden scaffolds for regenerative dentistry. **Biofabrication,** v. 10, n. 2, p. 024101, Jan 10 2018.

ATILA, D.; KUMARAVEL, V. Advances in antimicrobial hydrogels for dental tissue engineering: regenerative strategies for endodontics and periodontics. **Biomaterials Science,** v. 11, n. 20, p. 6711-6747, 2023.

BARRERA BERNAL, J. L. et al. Synthesis of Hydroxyapatite-Gelatin Composite Hydrogel for Bone Tissue Application. **Gels,** v. 11, n. 8, Aug 10 2025.

BECERRA, J. et al. Chitosan-collagen-hydroxyapatite membranes for tissue engineering. **J Mater Sci Mater Med,** v. 33, n. 2, p. 18, Jan 24 2022.

BOONRUNGSIMAN, S.; SUCHAOIN, W.; CHETPRAYOON, P.; VIRIYA-EMPIKUL, N. et al. Shape and surface properties of titanate nanomaterials influence differential cellular uptake behavior and biological responses in THP-1 cells. **Biochem Biophys Rep**, 9, p. 203-210, Mar 2017.

BRAND, L. M.; LAMERS, M. L.; MATTE, B. F. Validation of Bioprinting Technique for Skin Equivalent Models. **Current Cosmetic Science,** v. 2, n. 1, 2023.

BRAND, L. M.; LAMERS, M. L.; MATTE, B. F. Development of Aged Skin Equivalent Model. **Current Cosmetic Science,** v. 3, n. 1, 2024.

CALIARI, S. R.; BURDICK, J. A. A practical guide to hydrogels for cell culture. **Nature Methods,** v. 13, n. 5, p. 405-414, 2016.

CARLETTI, E.; MOTTA, A.; MIGLIARESI, C. Scaffolds for tissue engineering and 3D cell culture. **Methods Mol Biol,** v. 695, p. 17-39, 2011.

CARTON, F. et al. Use of Hydrogels in Regenerative Medicine: Focus on Mechanical Properties. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 25**,** p. 11426, 2024.

CHACON, E. L. et al. Collagen-chitosan-hydroxyapatite composite scaffolds for bone repair in ovariectomized rats. **Scientific Reports,** v. 13, n. 1, p. 28, 2023.

CHASTNEY, M. R. et al. The role and regulation of integrins in cell migration and invasion. **Nature Reviews Molecular Cell Biology,** v. 26, n. 2, p. 147-167, 2025.

CHAUDHURI, O. et al. Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour. **Nature,** v. 584, n. 7822, p. 535-546, 2020.

CHAUDHURI, O. et al. Hydrogels with tunable stress relaxation regulate stem cell fate and activity. **Nature Materials,** v. 15, n. 3, p. 326-334, 2016.

CHEN, J. et al. Designing biomimetic scaffolds for skin tissue engineering. **Biomaterials Science,** v. 11, n. 9, p. 3051-3076, 2023.

CHEN, Q.; WANG, Y. The application of three-dimensional cell culture in clinical medicine. **Biotechnol Lett,** v. 42, n. 11, p. 2071-2082, Nov 2020.

CHEN, S. et al. Evaluation of BMP-2 and VEGF loaded 3D printed hydroxyapatite composite scaffolds with enhanced osteogenic capacity in vitro and in vivo. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl,** v. 112, p. 110893, Jul 2020.

CHEN, S. et al. Implantable Dental Barrier Membranes as Regenerative Medicine in Dentistry: A Comprehensive Review. **Tissue Eng Regen Med,** v. 22, n. 4, p. 527-549, Jun 2025.

CORREA-ARAUJO, L. et al. Bioengineered skin constructs based on mesenchymal stromal cells and acellular dermal matrix exposed to inflammatory microenvironment releasing growth factors involved in skin repair. **Stem Cell Res Ther,** v. 14, n. 1, p. 306, Oct 26 2023.

CUI, X. et al. Human cartilage tissue fabrication using three-dimensional inkjet printing technology. **J Vis Exp**, n. 88, Jun 10 2014.

DALY, A. C. et al. 3D Bioprinting for Cartilage and Osteochondral Tissue Engineering. **Advanced Healthcare Materials,** v. 6, n. 22, p. 1700298, 2017.

DENG, Y.; LIANG, Y.; LIU, X. Biomaterials for Periodontal Regeneration. **Dent Clin North Am,** v. 66, n. 4, p. 659-672, Oct 2022.

DING, Q. et al. Hydrogel Tissue Bioengineered Scaffolds in Bone Repair: A Review. **Molecules**. v. 28**,** p. 7039, 2023.

DONGWEN, L. et al. Hydrogels in Oral Disease Management: A Review of Innovations in Drug Delivery and Tissue Regeneration. **Med Sci Monit,** v. 31, p. e946122, Feb 18 2025.

EDMONDSON, R. et al. Three-dimensional cell culture systems and their applications in drug discovery and cell-based biosensors. **Assay Drug Dev Technol,** v. 12, n. 4, p. 207-18, May 2014.

ELOSEGUI-ARTOLA, A. The extracellular matrix viscoelasticity as a regulator of cell and tissue dynamics. **Curr Opin Cell Biol,** v. 72, p. 10-18, Oct 2021.

ENGLER, A. J. et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. **Cell,** v. 126, n. 4, p. 677-89, Aug 25 2006.

FANG, W. et al. Hydrogels for 3D bioprinting in tissue engineering and regenerative medicine: Current progress and challenges. **Int J Bioprint,** v. 9, n. 5, p. 759, 2023.

FISCHER, N. G. et al. Guidance on biomaterials for periodontal tissue regeneration: Fabrication methods, materials and biological considerations. **Dental Materials,** v. 41, n. 3, p. 283-305, 2025.

FU, R. et al. Bone defect reconstruction via endochondral ossification: A developmental engineering strategy. **J Tissue Eng,** v. 12, p. 20417314211004211, Jan-Dec 2021.

GOSWAMI, A. K. et al. Tissue engineering: Hydrogel scaffolds and mechanical properties as key design parameters. **Advances in Colloid and Interface Science,** v. 347, p. 103691, 2026.

GOULART, E. Stem Cell Technology in Organ Transplantation: A Novel Method for 3D Bioprinting Functional and Stable Liver Grafts Using Human iPS Cells Derived Cells. **Methods Mol Biol,** v. 2575, p. 269-274, 2023.

GULATI, K.; MAHER, S.; FINDLAY, D. M.; LOSIC, D. Titania nanotubes for orchestrating osteogenesis at the bone-implant interface. **Nanomedicine (Lond)**, 11, n. 14, p. 1847-1864, Jul 2016.

GUSMÃO, S. B. et al. Nanohydroxyapatite/titanate nanotube composites for bone tissue regeneration. Journal of Functional Biomaterials, v. 13, n. 4, p. 306, 2022.

HABRAKEN, W. et al. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future? **Materials Today,** v. 19, n. 2, p. 69-87, 2016.

HO, T.-C. et al. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. **Molecules**. v.27, p. 2902, 2022.

HOSPODIUK, M. et al. The bioink: A comprehensive review on bioprintable materials. **Biotechnol Adv,** v. 35, n. 2, p. 217-239, Mar-Apr 2017.

HUANG, H. et al. Preparation of multigradient hydroxyapatite scaffolds and evaluation of their osteoinduction properties. **Regen Biomater,** v. 9, p. rbac001, 2022.

HYNES, R. O. Integrins: Bidirectional, Allosteric Signaling Machines. **Cell,** v. 110, n. 6, p. 673-687, 2002.

HYNES, R. O. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. **Science,** v. 326, n. 5957, p. 1216-9, Nov 27 2009.

IOHARA, K. et al. Periapical bacterial disinfection is critical for dental pulp regenerative cell therapy in apical periodontitis in dogs. **Stem Cell Res Ther,** v. 15, n. 1, p. 17, Jan 17 2024.

ISLAM, M. M. et al. Chitosan based bioactive materials in tissue engineering applications-A review. **Bioactive Materials,** v. 5, n. 1, p. 164-183, 2020.

JOSE, M.; SIENKIEWICZ, P.; SZYMAŃSKA, K.; DAROWNA, D. et al. Influence of Preparation Procedure on Physicochemical and Antibacterial Properties of Titanate Nanotubes Modified with Silver. **Nanomaterials (Basel)**, 9, n. 5, May 23 2019.

KAPAŁCZYŃSKA, M. et al. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. **Arch Med Sci,** v. 14, n. 4, p. 910-919, Jun 2018.

KATOH, K. **Integrin and Its Associated Proteins as a Mediator for Mechano-Signal Transduction**. Biomolecules. v. 15, p. 166, 2025.

KAZEMI, A. et al. The role of MMPs and TIMPs in regenerative medicine: From pathological ECM remodeling to therapeutic applications. **Biomed Pharmacother,** v. 191, p. 118457, Oct 2025.

KHAN, M. U. A. et al. Fundamental properties of smart hydrogels for tissue engineering applications: A review. **Int J Biol Macromol,** v. 254, n. Pt 3, p. 127882, Jan 2024.

KIM, J. J.; CHO, D.-W. Advanced strategies in 3D bioprinting for vascular tissue engineering and disease modelling using smart bioinks. **Virtual and Physical Prototyping,** v. 19, n. 1, p. e2395470, 2024

KONG, B.; ZHAO, Y. 3D Bioprinting for Biomedical Applications. **BME Front,** v. 4, p. 0010, 2023.

KOŁODZIEJSKA, M. et al. Chitosan as an Underrated Polymer in Modern Tissue Engineering. **Nanomaterials**. v. 11, p. 3019, 2021.

KYLE, S. et al. 'Printability' of Candidate Biomaterials for Extrusion Based 3D Printing: State-of-the-Art. **Adv Healthc Mater,** v. 6, n. 16, Aug 2017.

LIANG, Z. et al. Pioneering the future of dentistry: AI-driven 3D bioprinting for next-generation clinical applications. **Translational Dental Research,** v. 1, n. 1, p. 100005, 2025.

LIU, C. et al. Decellularized extracellular matrix mediates tissue construction and regeneration. **Front Med,** v. 16, n. 1, p. 56-82, Feb 2022.

LIU, N. et al. 3D Bioprinted Scaffolds for Tissue Repair and Regeneration. **Frontiers in Materials.** v. 9, 2022.

LIU, W. et al. Application of Hydroxyapatite Composites in Bone Tissue Engineering: A Review. **J Funct Biomater,** v. 16, n. 4, Apr 2 2025.

LIU, Z. et al. 3D Biofabrication of Microporous Hydrogels for Tissue Engineering. **Advanced Healthcare Materials,** v. 14, n. 3, p. 2403583, 2025.

MARCHIOLI, G. et al. Fabrication of three-dimensional bioplotted hydrogel scaffolds for islets of Langerhans transplantation. **Biofabrication,** v. 7, n. 2, p. 025009, May 28 2015.

MAZZOCCHI, A. et al. Optimization of collagen type I-hyaluronan hybrid bioink for 3D bioprinted liver microenvironments. **Biofabrication,** v. 11, n. 1, p. 015003, Oct 30 2018.

MERETSKY, C. R. et al. Advances in Tissue Engineering and Its Future in Regenerative Medicine Compared to Traditional Reconstructive Techniques: A Comparative Analysis. **Cureus,** v. 16, n. 9, p. e68872, Sep 2024..

MILAZZO, M. et al. Rheology and Printability of Hydroxyapatite/Sodium Alginate Bioinks Added with Bovine or Fish Collagen Peptides. **Gels**. v. 11, p. 209, 2025.

MIRSHAFIEI, M. et al. Advancements in tissue and organ 3D bioprinting: Current techniques, applications, and future perspectives. **Materials & Design,** v. 240, p. 112853, 2024.

MOMOSE, T. et al. Collagen Hydrogel Scaffold and Fibroblast Growth Factor-2 Accelerate Periodontal Healing of Class II Furcation Defects in Dog. **Open Dent J,** v. 10, p. 347-59, 2016.

MONDAL, S. et al. Hydroxyapatite: A journey from biomaterials to advanced functional materials. **Advances in Colloid and Interface Science,** v. 321, p. 103013, 2023.

MONTANARI, M. et al. Effects of Magnesium-Doped Hydroxyapatite Nanoparticles on Bioink Formulation for Bone Tissue Engineering. **ACS Applied Bio Materials,** v. 8, n. 1, p. 535-547, 2025.

MURPHY, S. V.; ATALA, A. 3D bioprinting of tissues and organs. **Nat Biotechnol,** v. 32, n. 8, p. 773-85, Aug 2014.

NOOR, N. et al. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts. **Adv Sci (Weinh),** v. 6, n. 11, p. 1900344, Jun 5 2019.

NOROUZI, S. et al. Recent advances in biomaterials for tissue-engineered constructs: Essential factors and engineering techniques. **Materials Today Chemistry,** v. 37, p. 102016, 2024.

OJEDA, E. et al. Nanometric Hydroxyapatite Particles as Active Ingredient for Bioinks: A Review. **Macromol**. v. 2, p. 20-29, 2022.

OSTROVIDOV, S. et al. Bioprinting and biomaterials for dental alveolar tissue regeneration. **Front Bioeng Biotechnol,** v. 11, p. 991821, 2023.

PATEL, D. K.; LIM, K.-T. Biomimetic Polymer-Based Engineered Scaffolds for Improved Stem Cell Function. **Materials**. v. 12, p. 2950, 2019.

PAVITHRA, B. et al. Advances in polymeric nanoparticles and hydrogels in 3D bioprinting: Enhancing bioinks for tissue engineering and regenerative medicine. **Bioprinting,** v. 51, p. e00438, 2025.

PEREIRA PARCHEN, G. et al. Chitosan-based nano-objects for drug delivery: a review of their chemical modifications, supramolecular organization and biological fate. **RSC Pharmaceutics,** v. 2, n. 6, p. 1292-1322, 2025.

PIRES FIGUEIREDO, M. et al. Review of collagen type I-based hydrogels: focus on composition-structure-properties relationships. **npj Biomedical Innovations,** v. 2, n. 1, p. 16, 2025.

REDDY, M. S. B. et al. A Comparative Review of Natural and Synthetic Biopolymer Composite Scaffolds. **Polymers (Basel),** v. 13, n. 7, Mar 30 2021

REINEHR, P., et al. Three-dimensional bioactive collagen scaffolds incorporated with titanate nanotubes for tissue regeneration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 252, 2025.

REIS-PRADO, A. H. D. et al. Injectable thermosensitive antibiotic-laden chitosan hydrogel for regenerative endodontics. **Bioact Mater,** v. 46, p. 406-422, Apr 2025.

RESSLER, A. Chitosan-Based Biomaterials for Bone Tissue Engineering Applications: A Short Review. **Polymers.** v. 14, p. 3430, 2022.

RIAL, R. et al. Mechanical Properties of Composite Hydrogels for Tissue Engineering. **Curr Top Med Chem,** v. 18, n. 14, p. 1214-1223, 2018.

SAKER, R. et al. An Overview of Hydrothermally Synthesized Titanate Nanotubes: The Factors Affecting Preparation and Their Promising Pharmaceutical Applications. **Pharmaceutics**. v.16, n. 5, p. 635, 2024.

SHARMA, P. et al. Applications and interventions of polymers and nanomaterials in alveolar bone regeneration and tooth dentistry. **RSC Advances,** v. 14, n. 49, p. 36226-36245, 2024.

SHI, H. et al. Hydroxyapatite Based Materials for Bone Tissue Engineering: A Brief and Comprehensive Introduction. **Crystals**. v. 11, p. 149, 2021.

SHIH, Y. R. et al. Matrix stiffness regulation of integrin-mediated mechanotransduction during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. **J Bone Miner Res,** v. 26, n. 4, p. 730-8, Apr 2011.

SLAVIN, B. V. et al. Bone Tissue Engineering (BTE) of the Craniofacial Skeleton, Part II: Translational Potential of 3D-Printed Scaffolds for Defect Repair. **J Craniofac Surg,** v. 35, n. 1, p. 261-267, Jan-Feb 01 2024.

SOWBHAGYA, R. et al. Collagen as the extracellular matrix biomaterials in the arena of medical sciences. **Tissue and Cell,** v. 90, p. 102497, 2024.

SPICER, C. D. Hydrogel scaffolds for tissue engineering: the importance of polymer choice. **Polymer Chemistry,** v. 11, n. 2, p. 184-219, 2020.

SZULC, M.; LEWANDOWSKA, K. Biomaterials Based on Chitosan and Its Derivatives and Their Potential in Tissue Engineering and Other Biomedical Applications-A Review. **Molecules,** v. 28, n. 1, Dec 28 2022.

TANG, R. Z.; LIU, X. Q. Biophysical cues of in vitro biomaterials-based artificial extracellular matrix guide cancer cell plasticity. **Mater Today Bio,** v. 19, p. 100607, Apr 2023.

TEJADA JACOB, G. et al. Hydrogels for extrusion-based bioprinting: General considerations. **Bioprinting,** v. 27, p. e00212, 2022.

TISKRATOK, W. et al. Extracellular Matrix Stiffness: Mechanotransduction and Mechanobiological Response-Driven Strategies for Biomedical Applications Targeting Fibroblast Inflammation. **Polymers**. v. 17, p. 822, 2025.

TRUJILLO-CASARREAL, J. D. et al. Unraveling the antimicrobial activity of CuS functionalized titanates under visible LED light irradiation. **Chemospher**e, 359, p. 142317, 2024.

ULIAN, G.; MORO, D.; VALDRÈ, G. Hydroxylapatite and Related Minerals in Bone and Dental Tissues: Structural, Spectroscopic and Mechanical Properties from a Computational Perspective. **Biomolecules,** v. 11, n. 5, May 13 2021.

URBANCZYK, M.; LAYLAND, S. L.; SCHENKE-LAYLAND, K. The role of extracellular matrix in biomechanics and its impact on bioengineering of cells and 3D tissues. **Matrix Biol,** v. 85-86, p. 1-14, Jan 2020.

VIJAYAN, A. et al. A review on hydroxyapatite fabrication: from powders to additive manufactured scaffolds. **Biomaterials Science,** v. 13, n. 4, p. 913-945, 2025.

WANG, H.; GAO, B. Research Progress on the Application of Injectable Hydrogel in Oral Tissue Regeneration. **J Oral Pathol Med,** v. 53, n. 10, p. 605-612, Nov 2024.

WANG, H. et al. An Overview of Extracellular Matrix-Based Bioinks for 3D Bioprinting. **Front Bioeng Biotechnol,** v. 10, p. 905438, 2022.

WANG, Y.; WANG, Z.; DONG, Y. Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering. **ACS Biomater Sci Eng,** v. 9, n. 3, p. 1132-1150, Mar 13 2023.

WEN, B. et al. Biomineralization-inspired mineralized hydrogel promotes the repair and regeneration of dentin/bone hard tissue. **npj Regenerative Medicine,** v. 8, n. 1, p. 11, 2023.

WHEELER, E. E.; LEACH, J. K. Tissue-Engineered Three-Dimensional Platforms for Disease Modeling and Therapeutic Development. **Tissue Eng Part B Rev,** v. 31, n. 4, p. 390-405, Aug 2025.

XIE, R. et al. A comprehensive review on 3D tissue models: Biofabrication technologies and preclinical applications. **Biomaterials,** v. 304, p. 122408, 2024.

XIONG, Y. et al. Analyzing the behavior of a porous nano-hydroxyapatite/polyamide 66 (n-HA/PA66) composite for healing of bone defects. **Int J Nanomedicine,** v. 9, p. 485-94, 2014.

XU, K. L.; MAUCK, R. L.; BURDICK, J. A. Hydrogel Design to Understand and Guide 3D Cell Migration. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, 2025.

YU, Y. et al. Recent advances in modifications, biotechnology, and biomedical applications of chitosan-based materials: A review. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 289, p. 138772, 2025.

YÜCER, S.; SARAC, B.; CIFTCI, F. Bioprinting revolution: Innovative design of 3D bioactive scaffolds for living organs and transdermal tissues. **Bioeng Transl Med,** v. 10, n. 6, p. e70080, Nov 2025.

ZHANG, K. et al. Structurally Dynamic Hydrogels for Biomedical Applications: Pursuing a Fine Balance between Macroscopic Stability and Microscopic Dynamics. **Chemical Reviews,** v. 121, n. 18, p. 11149-11193, 2021.

ZHAO, D. et al. Biomedical Applications of Chitosan and Its Derivative Nanoparticles. **Polymers (Basel),** v. 10, n. 4, Apr 23 2018.

ZHAO, F.; ZHANG, Z.; GUO, W. The 3-dimensional printing for dental tissue regeneration: the state of the art and future challenges. **Front Bioeng Biotechnol,** v. 12, p. 1356580, 2024.

ZHAO, T. et al. Extracellular Matrix Signaling Cues: Biological Functions, Diseases, and Therapeutic Targets. **MedComm,** v. 6, n. 8, p. e70281, 2025.

ZHOU, H. et al. Human extracellular matrix (ECM)-like collagen and its bioactivity. **Regen Biomater,** v. 11, p. rbae008, 2024.