



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA



RITA CATARINA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOCONDUTOR E OSTEOINDUTOR DE
SCAFFOLDS 3D-NANOFIBRILARES DE SÍLICA: ESTUDO *IN VIVO***

UBERLÂNDIA
2021

RITA CATARINA DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL OSTEOCONDUTOR E OSTEOINDUTOR DE
SCAFFOLDS 3D-NANOFIBRILARES DE SÍLICA: ESTUDO *IN VIVO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Odontologia da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito parcial
para obtenção do título de Graduado em
Odontologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Flaviana Soares Rocha

**UBERLÂNDIA
2021**

AGRADECIMENTOS

À Deus que me permitiu trilhar este caminho, e tanto me abençoou durante todo o tempo. À minha família, que foi o alicerce para essa caminhada: minha mãe que me criou com o amor e com as ferramentas que ela tinha, obrigada por me proporcionar grandes lições. À minha irmã que foi uma companheira quando precisei. À minha cadelinha Pituxa, que assim como agora, passou esses anos sendo um conforto, aconchegada junto aos meus pés.

Agradeço à Cristine e sua família, por me receberem em seus corações e por serem meu porto seguro, à Ivânia que me adotou como sua filha e que em meu coração é minha mamãezinha. À Cristine por ser minha irmã e estar ao meu lado incondicionalmente. Sem vocês eu não teria chegado até aqui.

À minha grande mestra, Dr^a. Lorena Tannús, que não parou de lutar por mim. Se hoje eu escrevo esse trabalho através deste computador, foi porque você me possibilitou, e não mediu esforços para me ajudar. Foi uma chave fundamental para o meu amor pela pesquisa. MUITÍSSIMO obrigada, por me ensinar, pelas práticas experimentais, conselhos, pelas palavras de incentivo e pelas broncas, por me acompanhar em absolutamente toda nossa caminhada, durante anos. Sua dedicação por mim me permitiu continuar. Te levarei para sempre em meu coração.

Agradeço aos grandes amigos: Giovanna Mitidiero por todo carinho, doçura e por me ensinar tanto com sua força, Ana Luíza por me transmitir paz de espírito e sempre me ouvir, ao Felipe de Deus por ser minha energia e motivação durante nossa parceria de clínicas. Aos três obrigada pelos risos, momentos compartilhados e boas lembranças que levarei para a vida, vocês foram meus presentes. À Larissa Ayres minha conexão instantânea, minha maior fonte de risadas, trocas e amadurecimento. Tenho muito orgulho de quem nos tornamos, e por sermos reconhecidas juntas.

Aos amigos da octagésima primeira turma, que durante uma fase muito conturbada foram amparo e não mediram esforços para que eu pudesse me equilibrar novamente, essencialmente ao Danilo Ferraz, Tatiana Pêcego e Thalles Eduardo, que me aconselham e me deleitam em todo tempo.

À LABUCO, liga de cirurgia, e aos membros que por ela tive a oportunidade de conhecer. Foi nesse grupo que vivi as melhores experiências da graduação, me abriu portas e me presenteou com pessoas extraordinárias. Ao meu grande mentor Prof. Dr. Lair Mambrini

por toda mansidão e ânimo de ter abraçado o sonho de construir esse projeto comigo, por todos os conselhos, pela disposição ao me ensinar, por ter acreditado em meu potencial. Conduzir a liga foi um aprendizado além da odontologia.

Aos residentes e preceptores CTBMF-UFU com os ensinamentos de vocês eu me tornei uma profissional. Ao Ricardo Pedro por me tornar mais forte e por toda sua irmandade, ao Gustavo Lauand por me ensinar como ser impecável cirurgicamente, você foi meu maior guia. À Mirlany Mendes por ser confidente, companheira e instigar o melhor de mim. Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Jonas Dantas por todo entusiasmo, disposição em reservar parte do seu escasso tempo para compartilhar sabedorias e experiências e por ser uma grande inspiração.

Agradeço aos muitos amigos de todos os grupos, vocês fizeram meu caminho mais feliz e me alimentaram de comida, sorrisos e bons momentos. Ao David, Angélica, Maria Adélia, Jéssica Cristina, Ana Carolina e Amilton. Levo todos no coração hoje, amanhã e sempre.

Aos professores da FOUFU, nomes que eu não poderia deixar de citar, principalmente Ana Paula Oliveira, Ana Paula Turrioni, Paulo César Filho, Laís Rani, Letícia Davi, Alessandra Maia, Karla Zancopé, Germana, Sérgio Vitorino, Guilherme Almeida, Maria Antonieta e Andréa Gomes por toda contribuição e ensinamento durante a graduação. Vocês foram mais que profissionais, que em algum momento me marcaram inusitadamente nessa jornada. Parabéns por serem professores tão maravilhosos.

Agradeço aos funcionários da Universidade, em especial à Andreia, Sônia, Advaldo, Fátima, Kênia, Bethânia, Elaine e Elisângela. Obrigada pela humanidade, gentileza e paciência.

À Danyella que foi mais que amiga, obrigada por toda parceria, me apoiar e compartilhar todos os risos e choros da pesquisa, do laboratório ao trabalho final. Agradeço também a toda equipe que permitiu que o trabalho acontecesse, sobretudo a Camila Linhares e a Jessyca Venâncio, todo o esforço de vocês me inspira.

Por fim muito obrigada à minha orientadora, Prof. Dr^a Flaviana Soares Rocha, por ser uma porta aberta, pelo carinho, pela atenção e paciência comigo enquanto passa pela fase, que eu acredito ser a mais incrível e complexa da sua vida. Pelo seu empenho em me manter mesmo de longe, sou muito honrada por ter feito parte da sua equipe e da sua vida, e muito

orgulhosa por assim finalizar sua trajetória em Uberlândia, que foi esplêndida. Você é o exemplo de profissional que eu me inspirei e que eu busco ser.

Finalizar essa etapa foi a realização de um sonho. Foi um caminho que tive muito orgulho de trilhar e que me fez crescer absurdamente.

RESUMO

Defeitos ósseos estão frequentemente relacionados à prática clínica. Substitutos sintéticos e materiais para enxertos de diferentes fabricações e origens têm sido usados para promover e potencializar a formação óssea durante o reparo de tecidos. O objetivo deste estudo foi a avaliação *in vivo* da bioatividade de scaffolds 3D-nanofibrosos de sílica (Vidro bioativo), produzidos pela técnica de SBS (*Solution Blow Spinning*) para regeneração óssea. As nanofibras utilizadas neste estudo foram obtidas por SBS com a composição 65% SiO₂, 31% CaO e 4% P₂O₅ em mol, em duas conformações macroscópicas: corpo ou fibra. Para avaliar o efeito biológico, defeitos ósseos foram criados no fêmur de 15 ratos Wistar machos. Os defeitos foram preenchidos com sangue, Vidro bioativo Corpo ou Vidro bioativo Fibra, e os animais foram sacrificados após 14 ou 28 dias. Os fêmures foram coletados e processados para obtenção das lâminas histológicas. Foi realizada análise descritiva histológica do reparo ósseo, associado ao biomaterial. Além disso, a neoformação óssea e as partículas remanescentes do biomaterial foram quantificadas para a análise histomorfométrica. A análise qualitativa e quantitativa revelou uma formação óssea de qualidade e atividade de remodelação em sítios enxertados com Vidro bioativo em comparação ao grupo controle, certificando a bioatividade e biocompatibilidade dos *scaffolds* nanofibrilares fabricados através de técnica SBS.

Palavras-chave: biovidro, sílica, regeneração óssea, remodelação óssea.

ABSTRACT

Bone defects are frequently related to the clinic practice. Synthetic substitutes and materials for grafts from different production and origins have been used to promote and potentialize bone formation during the tissue repair. The purpose of this study was the silica 3D-nanofibrous scaffolds bioactivity (bioactive glass) evaluation in vivo, produced by the SBS (Solution Blow Spinning) technique for bone regeneration. The nanofibers utilized in this study were obtained by SBS with the composition of 65% SiO₂, 31% CaO and 4% P₂O₅ mol, in two macroscopic conformations: body or fiber. To evaluate the biological effect, bone defects were created on the femur of 15 Wistar male rats. The defects were filled with blood, Body Bioactive Glass or Fiber Bioactive Glass, and the animals were sacrificed after 14 or 28 days. The femur were collected and processed to obtain the histological slides. A histological descriptive analysis of the bone repair was made, associated to the biomaterial. Furthermore, the bone neoformation and the biomaterial remaining particles were quantified for the histomorphometric analysis. The qualitative and quantitative analysis revealed a quality bone formation and an activity of remodeling in grafted sites with bioactive Glass in comparison to the bioactivity and biocompatibility of the nanofibrous scaffolds fabricated through the SBS technique.

Keywords: bioactive glass, silica, bone regeneration, bone remodeling.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

C -	Controle
mm -	Milímetros
cm -	Centímetros
g -	Gramas
Mg-	Miligramas
Kg-	Kilograma
h-	Horas
Rpm-	Rotações por minuto
µm-	Micrômetro

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
2. PROPOSIÇÃO.....	13
3. METODOLOGIA.....	14
3.1. <i>Fabricação dos Scaffolds.....</i>	14
3.2. <i>Delineamento experimental.....</i>	15
3.3. <i>Procedimento cirúrgico.....</i>	15
3.4. <i>Eutanásia e coleta das amostras.....</i>	16
3.5. <i>Análise histológica, histomorfométrica e estatística.....</i>	17
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSSÃO.....	21
6. CONCLUSÃO.....	24
7. REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

As perdas ósseas são comuns no cotidiano clínico e são observadas devido a condições variadas como: traumas, após extrações dentárias, remoções de tumores, infecções e alterações ósseas relacionadas com a idade, podendo gerar defeitos ósseos de diversas magnitudes. Frequentemente podem ser necessários enxertos para as reconstruções ósseas que melhorem o prognóstico desses pacientes. Estes enxertos podem ser autógenos, associados ou não aos biomateriais. O reparo ósseo e sua demanda clínica desperta o interesse em substitutos que sejam biocompatíveis, tenham viabilidade clínica e comercial, alta disponibilidade, custo benefício válido e que devolva um resultado estético e funcional de qualidade (ZHAO et al., 2021).

O processo de reparação tecidual é um processo fisiológico complexo que envolve diferentes células e vários mediadores químicos. Inicialmente caracterizado pela presença de um coágulo sanguíneo, plaquetas, fatores de crescimento e, gradualmente progredindo para a formação de um novo tecido estimulado por fatores angiogênicos e mediadores inflamatórios (SCHMIDT-BLEEK et al., 2012).

A diferenciação dos osteoblastos a partir das células mesenquimais é fundamental para ocorrer a reparação. A neovascularização também é característica do processo e se dá entremeando a matriz extracelular recém formada (MIDWOOD; WILLIAMS; SCHWARZBAUER, 2004). Com o passar do tempo o tecido ósseo imaturo formado passará por maturação e remodelação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Diversos materiais para enxertos têm sido estudados com o intuito de direcionar de maneira adequada a formação do tecido ósseo ou até estimular a osteogênese (JIMI et al., 2012).

Os enxertos podem fornecer três características críticas para um reparo, são eles: (1) osteocondução, que consiste em um arcabouço físico para que possa ocorrer a orientação e proliferação celular e facilitar a angiogênese; (2) osteoindução, capacidade de estimular a diferenciação de células mesenquimais através de fatores de crescimento ósseo e, (3) osteogênese que constitui o potencial de desenvolvimento de células viáveis responsáveis pela formação de matriz óssea (GIANNOUDIS; DINOPOULOS; TSIRIDIS, 2005; KAO; SCOTT, 2007; ZHAO et al., 2021). O enxerto ósseo autógeno é considerado o “padrão ouro” e consagrado na literatura como o material ideal para a reparação de defeitos ósseos, por possuir

as três propriedades (BAUER; MUSCHLER, 2000; KAO; SCOTT, 2007; SHEIKH et al., 2019). Porém, por possuir limitações como disponibilidade limitada, necessidade de um segundo sítio cirúrgico podendo gerar complicações e desconforto para o paciente (AHLMANN et al., 2002), outros materiais têm sido usados para superar essas limitações.

Para isso existem outras opções como o uso de aloenxertos ou xenoenxertos, que embora tragam vantagens, ainda sim são alternativas que possuem desvantagens que limitam seu uso como propriedades osteoindutivas reduzidas, possibilidade de imunogenicidade, e questões como restrições à utilização de produtos derivados de animais (GIANNOUDIS; DINOPOULOS; TSIRIDIS, 2005). Os materiais sintéticos têm sido uma escolha promissora como novos substitutos, por possuir características bioativas e biocompatíveis.

O principal desafio na busca de um biomaterial ideal é atender aos requisitos específicos que podem tornar um material de escolha como potencial substituto ósseo. Deve-se atender aos parâmetros de possuir poros de tamanhos adequados e permitir a migração, proliferação e diferenciação celular e a vascularização local. Outro critério a ser atendido é possuir resistência mecânica e elástica adequada para mimetizar a estabilidade do tecido vivo nativo, possuindo a biodegradabilidade mais próxima do tecido. Outros princípios que devem ser atendidos são: ser atóxico, ter estabilidade dimensional e química e possuir baixo custo (KARAGEORGIU; KAPLAN, 2005; MURPHY; HAUGH; O'BRIEN, 2010; SAITO et al., 2012).

Existe muito interesse na atuação da engenharia de tecidos para construção de materiais sintéticos substitutos. A partir do avanço para o desenvolvimento de biomateriais que satisfazem critérios de osteocondutividade, taxa de degradação semelhante à remodelação do tecido ósseo natural e estabilidade biomecânica, surgem estruturas tridimensionais, porosas e capazes de suportar a formação do tecido novo. Conhecidos como *scaffolds*, esses arcabouços se assemelham à microestrutura e propriedades mecânicas e funcionais do tecido nativo (HEJAZI; MIRZADEH, 2016).

Os *scaffolds* podem ser compostos por fibras ou nanofibras organizadas estruturalmente para que tenham uma maior abundância de poros, resultando em uma grande área de superfície específica. Dessa forma, os *scaffolds* constituídos por nanofibras ganharam uma atenção especial, devido às suas características estruturais que mimetizam a matriz extracelular (WENG et al., 2017), favorecendo o desenvolvimento do tecido ósseo através da biologia natural do processo de reparação.

As propriedades dos *scaffolds* estão relacionados com a composição química da natureza do biomaterial utilizado na sua formação. Podem ser constituídos por metais, biopolímeros, compósitos, cerâmicas ou a combinação deles através do enriquecimento ou da caracterização de outros biomateriais (GAO et al., 2014; ZHAO et al., 2021).

Diversas técnicas de fabricação de *scaffolds* podem ser empregadas. Dependendo do processo adotado, ocorre uma grande variação no resultado final, influenciando requisitos críticos para sua aplicação, como a quantidade e distribuição de poros, propriedades mecânicas e biomiméticas do material frente ao tecido nativo (CAPUANA et al., 2021). Há uma grande variedade ao uso de tecnologias para produção dos *scaffolds*.

As técnicas convencionais podem ser através da liofilização, adição de agente formador de poros ou espuma química. Porém esses métodos possuem suas limitações, como: resultar em tamanhos de poros menores que o recomendado para suportar a infiltração e a diferenciação de algumas células e exigir um consumo maior de tempo e energia. A principal técnica empregada para a produção de *scaffolds* é a eletrofiação, considerada eficiente em relação ao controle e regulação do diâmetro das fibras e tamanho dos poros. A literatura também corrobora da combinação da eletrofiação com outras técnicas para fabricação desses materiais (CAMPIGLIO et al., 2019). Embora seja uma técnica usualmente utilizada, apresenta a desvantagem de possuir baixa produção em escala industrial, e ser um equipamento de maior custo (MEDEIROS et al., 2009; BONAN et al., 2015).

Como alternativa às desvantagens empregadas pela eletrofiação, a técnica da fiação por sopro em solução ou *Solution Blow Spinning* (SBS), possui ganhos relacionados à produção de nanofibras tridimensionais, em larga escala e com custo reduzido devido ao seu mecanismo mais simples (MEDEIROS et al., 2009; BONAN et al., 2015).

Dentre os variados materiais utilizados na fabricação dos *scaffolds*, a sílica é um material cerâmico sintético biodegradável à base de silicato que é comumente utilizado para substitutos ósseos (FERNANDEZ DE GRADO et al., 2018). A eficácia desse vidro bioativo se deve à sua biocompatibilidade, osteocondutividade, atividade antimicrobiana e uma estrutura porosa que facilita a neovascularização (THOMAS; PULEO; AL-SABBAGH, 2005).

Diversos estudos evidenciam a eficiência desse material quando usado para enriquecer outros biomateriais, aprimorando as propriedades mecânicas em relação aos substitutos sintéticos puros, já que o vidro bioativo possui excelentes características osteogênicas em

locais regenerativos, portanto, é uma escolha promissora e potencial clínico para combinações com materiais presentes nos enxertos (WENG et al., 2017; ESFAHANIZADEH et al., 2018). O Vidro bioativo tem sido usado com sucesso em várias aplicações clínicas de cirurgia oral e maxilofacial, como aumento de rebordo alveolar, preenchimento de alvéolos pós extrações e levantamento de seios da face (NORTON; WILSON, 2002; THRONDSO; SEXTON, 2002; TURUNEN et al., 2004; SEOL et al., 2010; EZZAT; EL-SHENAWY, 2015; EL SHAZLEY et al., 2016).

A interface do vidro bioativo ao tecido biológico estimula a produção de matriz extracelular, não evocando uma resposta inflamatória exacerbada (EBERHARD et al., 2005). A sílica desempenha um ponto chave na determinação da bioatividade do vidro bioativo (ZHONG; GREENSPAN; FENG, 2002; MORTIN; SHELTON, 2003), dessa forma tem sido utilizado como revestimento de implantes (KITSUGI et al., 1996).

Novas técnicas de produção dos *scaffolds* a partir de nanofibras de vidros bioativos estão sendo desenvolvidas atualmente, otimizando suas propriedades em relação aos materiais de enxerto, em busca de métodos com melhor custo benefício. Diante disso, esse trabalho tem por objetivo a avaliação *in vivo* do potencial osteocondutor e osteoindutor de scaffolds 3D-nanofibrosos de sílica produzidas pela técnica de SBS (*Solution Blow Spinning*) para regeneração óssea.

2. PROPOSIÇÃO

Avaliar, em modelo experimental *in vivo*, por meio de parâmetros histológicos e histomorfométricos, a bioatividade dos scaffolds 3D-nanofibrosos de sílica (vidro bioativo) durante o reparo do tecido ósseo, após 14 e 28 dias.

3. METODOLOGIA

3.1. Fabricação dos Scaffolds

Os *scaffolds* 3D nanofibrilares de sílica (Vidro bioativo) foram preparados através da técnica de fiação por sopro em solução (SBS) conforme a Figura 1.

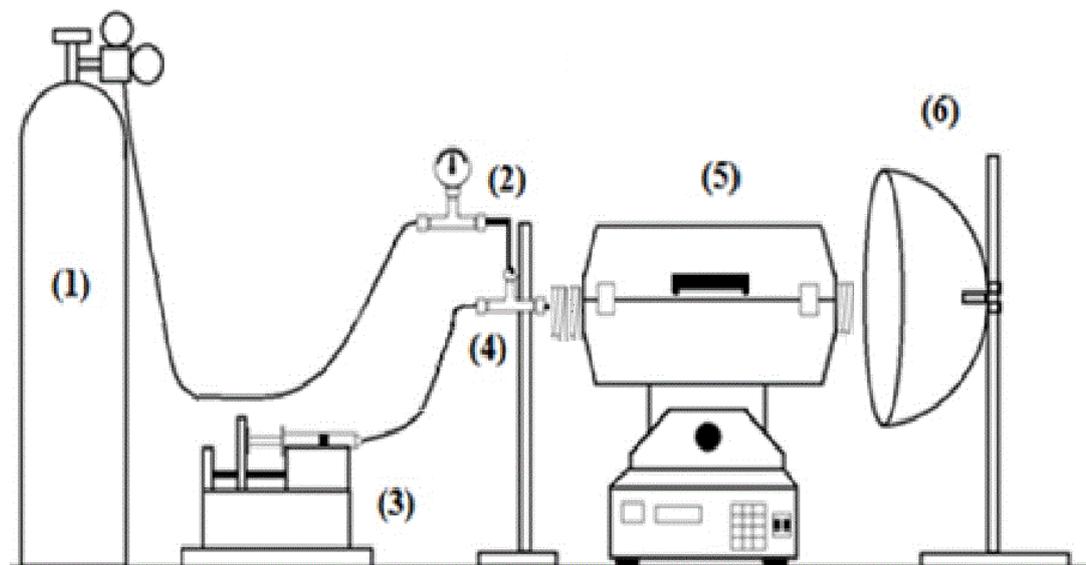


Figura 1. Esquema do aparato utilizado na fiação por sopro em solução (SBS): (1) compressor de ar; (2) manômetro para regular o fluxo do ar; (3) sistema de injeção da solução polimérica, (4) sistema de tubos concêntricos acoplados ao manômetro; (5) sistema de aquecimento (forno) e (6) coletor.

Para sua obtenção, foram utilizados: (1) PRECURSORES- Tetraetil ortossilicato, TEOS, Si (OC₂H₅)₄ (Sigma-Audrich, 99%), trietil fosfato, TEP, (C₂H₅O)₃PO (Sigma-Audrich, 99,8%), nitrato de cálcio, (Ca(NO₃)₂ · 4H₂O) (Sigma-Audrich, 99%); (2) AGENTE DE FIAÇÃO- Poli (álcool vinílico) (PVA 110, Kyraray, Brasil); (3) SOLVENTES/CATALISADORES- Água e ácido acético (CH₃COOH, HAC) (VWR Chemicals, 99,9%,).

As soluções preparadas foram transferidas para uma seringa e injetadas no canal interno do aparelho SBS, com o canal externo fornecendo ar pressurizado. Os parâmetros de produção foram: (1) taxa de injeção de 100 µL.min⁻¹; (2) distância de trabalho de 50 cm; e (3) pressão de fiação 0,41 MPa. A fiação ocorreu dentro da câmara de vidro com temperatura de 45°C para obtenção das fibras “verdes” (após fiação e anterior à calcinação) (FARIAS et al., 2015). Depois de fiadas, as fibras “verdes” foram coletadas e o material resultante apresenta morfologia 3D tipo algodão (Fibra Vidro bioativo). Parte das fibras “verdes” também foram moldadas na forma cilíndrica com leve pressão e moldes cilíndricos (Vidro

bioativo Corpo). Em seguida, todas as fibras “verdes” foram calcinadas em mufla a 700°C, com objetivo de eliminar os componentes orgânicos e obter os *scaffolds* 3D nanofibrilares de sílica (Vidro bioativo), os quais foram armazenados em frascos estéreis imediatamente após sua obtenção.

3.2. *Delineamento experimental*

Neste estudo foram utilizados 15 ratos machos *Rattus norvegicus*, da linhagem *Wistar*, clinicamente sadios com peso entre 250 e 350g. Os animais foram mantidos no Biotério da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) em gaiolas apropriadas, climatizadas à temperatura de 22°C e ciclo claro-escuro de 12 horas, e tratados com ração e água *ad libitum*. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas da Lei nº 11.794, decreto nº 6.899 e demais legislações complementares do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), com aprovação prévia do Comitê de ética da UFU (CEUA-UFU) com Parecer nº088/17.

Os fêmures dos animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos distintos (n=5) Controle 14 dias, Vidro bioativo Corpo 14 dias, Vidro bioativo Fibra 14 dias, Controle 28 dias, Vidro bioativo Corpo 28 dias, Vidro bioativo Fibra 28 dias.

3.3. *Procedimento cirúrgico*

Todos os animais foram submetidos à cirurgia para confecção das lesões em ambos os fêmures conforme descrito por Batista et al. 2014. Previamente foram anestesiados por injeção intraperitoneal, contendo 0,7ml/100g de peso corpóreo do animal de cloridrato de xilazina 2% e 0,1 ml/100g de peso corpóreo do animal de cloridrato de quetamina 10%. Após anestesia os animais foram submetidos à tricotomia da região coxofemoral e antissepsia da região com solução de álcool iodado 0,5% (Rioquímica®, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). A área operatória foi limitada com campo cirúrgico fenestrado de tecido esterilizado, adaptado para o procedimento. Com o animal posicionado em decúbito lateral, o acesso cirúrgico à região lateral do fêmur foi obtido por meio de uma incisão contínua longitudinal com 2 cm de extensão, na pele e tecido subcutâneo. Após a incisão da fáscia muscular, a musculatura da região foi divulsionada até a exposição do periósteo, que foi incisado e descolado ao longo da área óssea a ser exposta, permitindo, assim, acesso direto à diáfise do fêmur (Figura 2)

O fêmur foi delimitado em três porções (superior, mediana e inferior), com o objetivo de padronizar a área a ser manipulada, sendo a região mediana, o local de eleição para a realização do experimento. Em seguida, o defeito ósseo foi realizado com broca esférica nº 8 (2,3mm de diâmetro) acoplada em um motor elétrico com 1000 rpm, associado à irrigação abundante com solução fisiológica estéril de cloreto de sódio a 0,9%. A referência de profundidade utilizada para a perfuração correspondeu ao rompimento da cortical óssea até a profundidade da medula óssea. Para auxiliar posteriormente a localização do defeito ósseo no momento do sacrifício e coleta das amostras, foi colocada uma amarilha com fio cirúrgico monofilamento de nylon 4-0. Em seguida, os defeitos ósseos foram aleatoriamente preenchidos com: Coágulo (controle negativo); Vidro bioativo - fibra; Vidro bioativo - corpo. A sutura foi realizada por planos com fio cirúrgico monofilamento de nylon 4-0. No período pós-operatório foi administrado dipirona via oral (10 gotas em 20 ml de água), durante três dias (Figura 2).

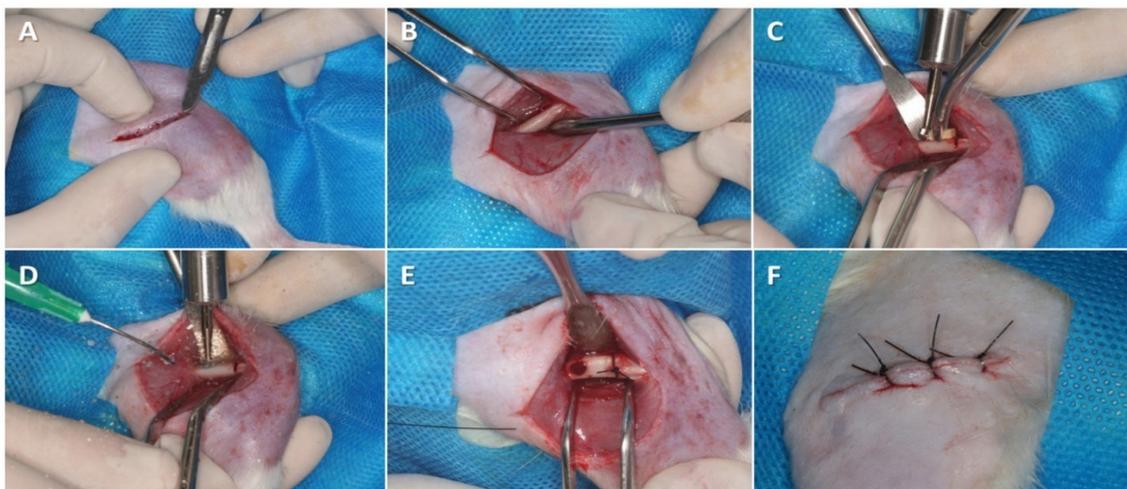


Figura 2: Etapas cirúrgicas para confecção do defeito ósseo; A- Incisão em pele; B- Exposição da área do fêmur; C- Demarcação da distância de 5mm entre a marca feita com broca esférica e o defeito ósseo; D- Perfuração do defeito ósseo com broca esférica; E- Defeito ósseo e amarilha de referência; F- Sutura. * Imagens gentilmente cedidas por Jonas Dantas Batista (2014).

3.4. Eutanásia e coleta das amostras

Os animais sofreram eutanásia após o período de 14 e 28 dias após a cirurgia por meio de aprofundamento anestésico seguido por deslocamento cervical, até que a morte dos animais foi constatada pela ausência dos sinais vitais, seguindo os princípios da Lei nº 11.794, Decreto nº 6.899 e demais legislações complementares do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

Em seguida foi realizada uma incisão longitudinal acompanhando a cicatriz cutânea existente, ao longo do fêmur operado. O segmento ósseo contendo a lesão foi removido, utilizando brocas 702 em alta rotação, sob irrigação com soro fisiológico (Figura 2). As diáfises contendo o defeito ósseo foram imediatamente fixadas em PBS-tamponada de formalina (4%) solução (pH 7,4) durante 48h à temperatura ambiente. Subsequentemente, elas foram lavadas, o osso foi desmineralizado com solução de Ácido Etildiaminotetracético (EDTA) a 10% pH 7,4, e então processados para inclusão em parafina pela técnica convencional. Foram obtidos cortes semi-seriados com 5 μ m de espessura.

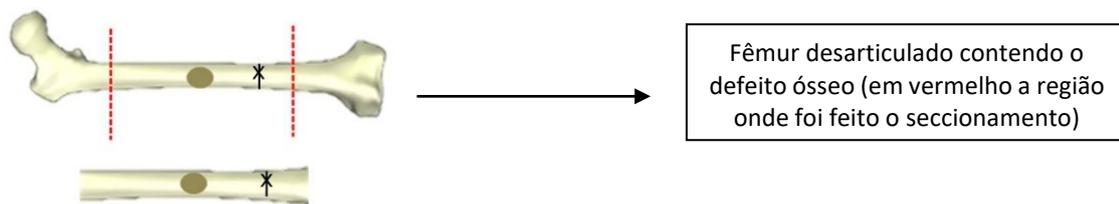


Figura 3: Esquema demonstrando a posição do seccionamento do fêmur

3.5. Análise histológica, histomorfométrica e estatística

O estudo morfológico das lâminas foi realizado com o emprego da microscopia óptica (Microscópio óptico modelo BX50 Olympus®, Olympus Imaging America Inc. Shinjuku-ku, Tóquio/Japão), visando análise qualitativa descritiva das lâminas histológicas. Para isso foram selecionadas 03 lâminas de cada fêmur coradas em Hematoxilina e Eosina (HE).

Para a análise histomorfométrica, 03 lâminas histológicas de cada fêmur coradas em Tricrômio de Mallory foram escaneadas utilizando o scanner digital Aperio AT Turbo (Copyright© 2013 Leica Biosystems Imaging, Inc All Rights Reserved) no aumento de 20x. As imagens histológicas digitalizadas foram visualizadas utilizando o programa de leitura de imagens Aperio ImageScope (Copyright© Aperio Technologiches, Inc 2003-2014. All rights reserved). O defeito ósseo (região de interesse - ROI) foi delimitado com quatro linhas retas das bordas da cortical lesada à cortical oposta. Foi quantificada a porcentagem de osso recém-formado / partículas do biomaterial remanescentes com o instrumento de medição de Image J 1,53 (Wayne Rasband, National Instit u TES de Saúde, EUA).

Os dados foram analisados usando GraphPad Prism (GraphPad Prism® versão 5.0 para Windows, San Diego, CA, EUA). Inicialmente, os valores obtidos foram submetidos ao

teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Os parâmetros foram analisados por meio do teste ANOVA Two Way com correção de Tukey (para comparação entre os grupos, em cada período experimental). As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas se $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Descrição morfológica

No Grupo Controle, observou-se tecido ósseo com aspecto morfológico normal, com formação de trabéculas que delimitam pequenas cavidades e preencheram parcialmente o defeito. Nos Grupos Vidro bioativo Fibra e Vidro bioativo Corpo, o tecido ósseo primário pode ser observado associado a numerosas partículas remanescentes do biomaterial, tanto em 14 quanto em 28 dias. Áreas de tecido ósseo secundário não foram observadas no defeito, mesmo após 28 dias. Osteoblastos cúbicos com basofilia citoplasmática foram observados revestindo a matriz óssea neoformada, indicando intensa atividade de síntese proteica. Partículas remanescentes do biomaterial incorporadas à matriz óssea, com indícios de remodelação foram visualizadas (Figura 4).

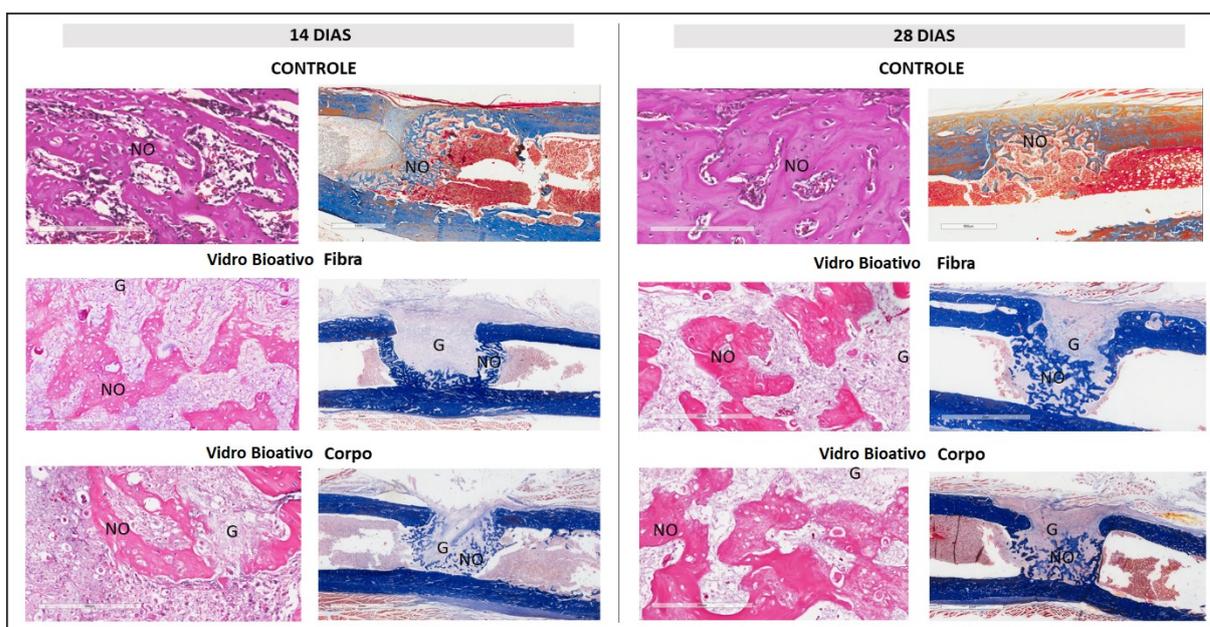


Figura 4. Imagens representativas da neoformação óssea nos Grupos Controle, Vidro bioativo Fibra e Vidro bioativo Corpo após 14 e 28 dias. Observe a nova deposição óssea associada às partículas remanescentes do biomaterial. NO: neoformação óssea; G: partículas de biomaterial. HE e TM.

Análise histomorfométrica

A análise histomorfométrica revelou maior quantidade de osso neoformado no Grupo Vidro bioativo Corpo quando comparado aos Grupos Vidro bioativo Fibra e Controle, em 14 e 28 dias, porém essa diferença não foi estatisticamente significante. No grupo Controle não há partículas remanescentes de biomaterial. A porcentagem de partículas remanescentes do

biomaterial nos grupos Vidro bioativo Fibra e Vidro bioativo Corpo aos 14 e 28 dias foi semelhante (Figura 5).

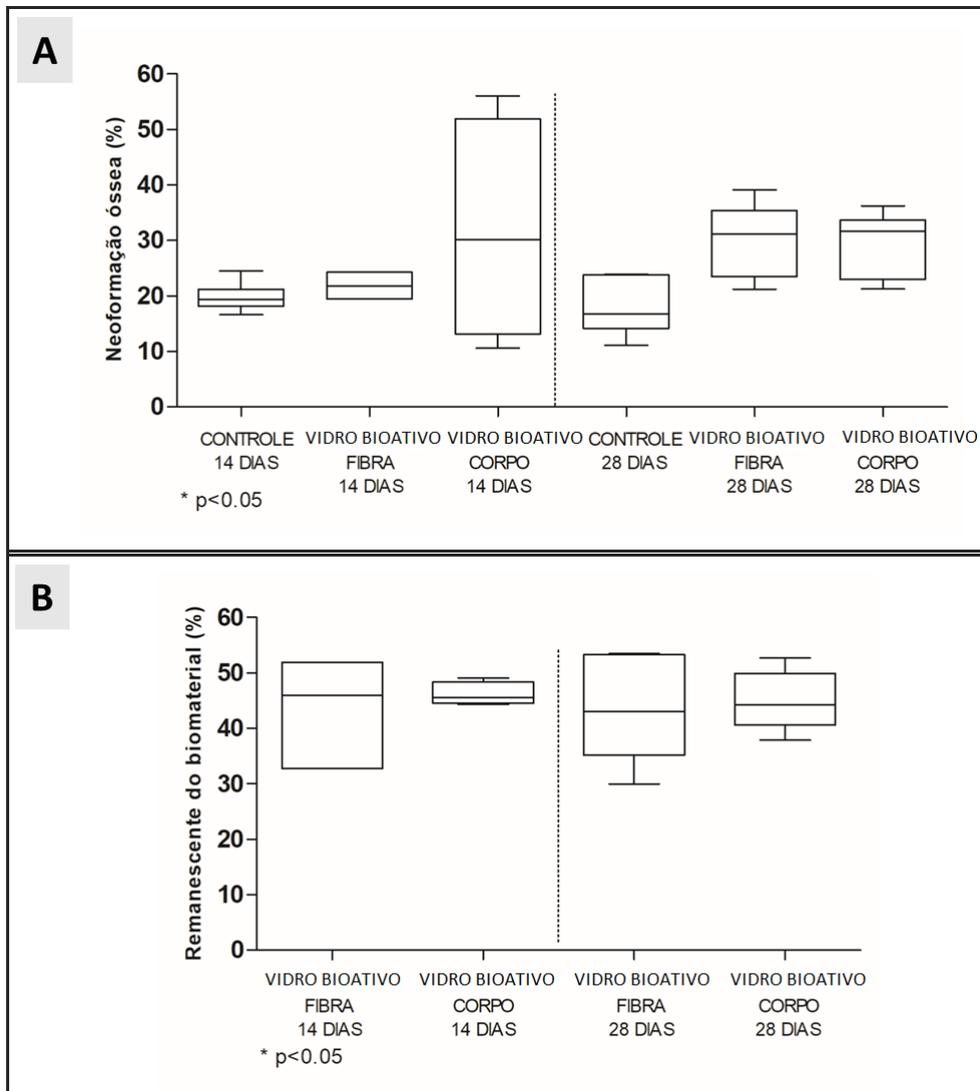


Figura 5. Análise histomorfométrica da neoformação óssea (A) e partículas remanescentes do biomaterial (B), nos grupos avaliados, após 14 e 28 dias.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o comportamento do vidro bioativo durante o reparo ósseo, nos períodos de 14 e 28 dias. O primeiro passo ao desenvolver um novo biomaterial para o reparo de tecidos é garantir que ele não represente um risco quando implantado no corpo e não apresentar uma característica de toxicidade para o tecido nativo. Este experimento revelou através da análise histológica descritiva e qualitativa das lâminas, que a composição do vidro bioativo não apresentou áreas com reações inflamatórias exacerbadas na interface do biomaterial enxertado na região. A Sílica, precursor do material de estudo deste experimento, é bem conhecida quanto a sua eficácia e sua bioatividade (CLUPPER et al., 2004; THOMAS; PULEO; AL-SABBAGH, 2005; GABBAI-ARMELIN et al., 2017; LEHMAN et al., 2019).

Há uma grande quantidade de estudos e dados experimentais que apoiam o uso do vidro bioativo em diversas aplicações clínicas (FROUM et al., 2002; SOHRABI et al., 2012; EL-RASHIDY et al., 2017; MENEZES et al., 2018; TURNBULL et al., 2018; LYSENKO; BORYSENKO, 2019). O vidro bioativo demonstra ter comportamento de osteogênese, estímulo na formação da matriz extracelular óssea e expõe uma capacidade de fornecer pistas bioativas durante o processo de reparo (CLUPPER et al., 2004; HA; WEITZMANN; BECK, 2014; BATTAFARANO et al., 2021; ZHAO et al., 2021).

Devido aos resultados promissores desse material, grande parte das pesquisas estão voltadas para o desenvolvimento de materiais combinados, através da dopagem com diversos materiais, como cerâmicos, metais, polímeros, moléculas ou células. Espera-se com isso a geração de novos *scaffolds* implementados em seus recursos, em busca do aperfeiçoamento e estratégias inovadoras (WU et al., 2013; WANG et al., 2016; WENG et al., 2017; SHAFAGHI et al., 2020; BATTAFARANO et al., 2021; LEE et al., 2021).

O tamanho e quantidade dos poros dos materiais de enxerto desempenham um papel significativo nos resultados regenerativos, pois determinam os espaços por onde se proliferam os vasos sanguíneos servindo como um arcabouço capaz de guiar e promover a proliferação de osteoblastos e a formação da matriz extracelular (DHANDAYUTHAPANI et al., 2011). A principal finalidade dos *scaffolds* é mimetizar a arquitetura do osso natural, oferecendo uma estabilidade mecânica no interior do osso trabecular.

Idealmente os *scaffolds* devem sofrer reabsorção em taxas semelhantes ao tecido de origem (ORYAN et al., 2014), possuir uma porosidade abundante e interligada de ao menos 80% de seu corpo com um tamanho de poro variando entre 100 e 500 μm

(KARAGEORGIU; KAPLAN, 2005; MORONI; DE WIJN; VAN BLITTERSWIJK, 2006; BELLUCCI et al., 2012; WENG et al., 2021), além de restabelecer uma projeção adequada para suportar as cargas mecânicas fisiológicas do osso nativo (PEREIRA et al., 2020). Porém, a exigência da alta porosidade pode limitar a estabilidade mecânica desses *scaffolds* (ORYAN et al., 2014; PEREIRA et al., 2020). Assim, uma dependência incompatível entre a arquitetura porosa e a capacidade mecânica pode ser considerado um ponto crucial que determina o comportamento do biomaterial durante a neoformação óssea inicial e a remodelação do tecido (ZHANG et al., 2018; WU et al., 2020; ZHENG et al., 2021).

De acordo com os resultados desse estudo, observou-se que o grupo vidro bioativo Corpo, no período de 14 dias e 28 dias, conseguiu entregar uma maior formação óssea, mesmo possuindo uma alta porosidade, em comparação com o grupo vidro bioativo Fibra e Controle nos mesmos períodos. Esse comportamento é justificado considerando que os *scaffolds* apresentados como Corpo fornecem uma atuação mecânica inicial de maior estabilidade, entregando também um grau de porosidade compatível com a especificidade do reparo. É importante salientar que o tecido ósseo possui complexas propriedades estruturais, como seu equilíbrio mecânico, que são modificadas por diferentes diretrizes (SHARIR; BARAK; SHAHAR, 2008; GONG et al., 2010; FLORENCIO-SILVA et al., 2015; HART et al., 2017). Devido tamanha complexidade, estudos de biomecânica em diferentes condições são aplicados no campo da engenharia de tecidos em busca de métodos que habilitam o biomaterial para oferecer alternativas promissoras (KANKALA et al., 2018; BITTNER et al., 2019; LIU et al., 2019; DILOKSUMPAN et al., 2020; SÄLLSTRÖM et al., 2020).

Materiais que possuem superfícies quebradiças e que são manuseados com dificuldade demonstram fraca resistência mecânica, por esse motivo é fundamental a proposição de materiais que possuem baixo custo de processamento e caracterização, e que apresentem também propriedades estruturais satisfatórias bem como uma manipulação simples. Resultados semelhantes a essas características foram descritas por Bellucci et al. 2012.

Seguindo essa ideia, o vidro bioativo utilizado no estudo e produzido através da técnica de fiação por sopro em solução (SBS) apresentou vantagens incluindo um manuseio relativamente fácil e uma eficiente adaptabilidade ao local do defeito. Uma remodelação satisfatória foi percebida no presente estudo, semelhante a atividade do osso nativo, também indicando outro aspecto favorável dessas nanomatrizes na regeneração de tecidos duros.

Em particular, os métodos utilizados para fabricação dos *scaffolds* são uma questão a ser considerada para a escolha clínica de materiais sintéticos, visto que a fabricação de *scaffolds* sintéticos podem interferir no custo benefício, no manejo, na adequação ao defeito ósseo e na aplicabilidade comercial desses materiais.

A eletrofiação é o método mais utilizado para a construção de nanofibras de cerâmica (MEDEIROS et al., 2009; KIM et al., 2014; BONAN et al., 2015; VILLARREAL-GÓMEZ et al., 2016; NAZARNEZHAD et al., 2020; SONG; LI; WU, 2020). Porém, devido ao alto custo para produções em alta escala, a fiação por sopro em solução ou *Solution Blow Spinning* (SBS) tem sido potencialmente considerada por apresentar uma produção de menor custo, já que dispõe de um aparelho simples (REMPEL et al., 2019; LI et al., 2020; CLARO et al., 2021), e controle durante a reprodução da dimensão dos poros, espessura das nanofibras e equilíbrio mecânico da estrutura (MEDEIROS et al., 2009, 2016, 2021).

A comparação das propriedades mecânicas das fibras produzidas, entre os métodos de fabricação de *scaffolds* através de SBS e da eletrofiação são discutidos por diversos autores (CLARO et al., 2021; HENNING et al., 2021; JIA et al., 2021). Assim como demonstrado no presente estudo, a produção de nanofibras 3D de sílica através SBS exibiu uma capacidade de caracterização promissora, possibilitando uma melhora na formação do tecido ósseo atendendo as necessidades específicas do reparo.

A comparação da área de neoformação óssea a partir do coágulo sanguíneo com a área contendo o biomaterial indica um resultado benéfico, comprovando a biocompatibilidade, biodegradabilidade e atoxicidade entre a interface biomaterial e osso.

6. CONCLUSÃO

Novas abordagens na fabricação de *scaffolds* nanofibrilares 3D estão sendo investigados, principalmente quanto à sua resistência mecânica e seu comportamento *in vivo* ou em fluidos corporais simulados, com o objetivo de testar a bioatividade desses materiais. A viabilidade de um novo protocolo para produzir *scaffolds* biocerâmicos para engenharia de tecido ósseo foi demonstrado. Os resultados discutidos indicam que as nanofibras produzidas podem apresentar respostas biocompatíveis em modelo *in vivo*, apesar das diferentes técnicas de fabricação utilizadas. A SBS é uma técnica que permite a geração da fibra utilizando um aparato simples, provando ser uma formulação promissora para a fabricação de novos *scaffolds* de reparo ósseo. Novos estudos são necessários para explorar novas combinações de materiais, que não são acessíveis para a eletrofiação ou outras técnicas de fabricação, associadas com vidros bioativos nanofibrilares utilizando a fiação por sopro em solução.

7. REFERÊNCIAS

AHLMANN, E. et al. COMPARISON OF ANTERIOR AND POSTERIOR ILIAC CREST BONE GRAFTS IN TERMS OF HARVEST-SITE MORBIDITY AND FUNCTIONAL OUTCOMES. **The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume**, v. 84, n. 5, p. 716–720, maio 2002. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00004623-200205000-00003>>.

BATTAFARANO, G. et al. Strategies for Bone Regeneration: From Graft to Tissue Engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 3, p. 1128, 23 jan. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/3/1128>>.

BAUER, T.; MUSCHLER, G. Bone graft materials. An overview of the basic science. **Clin Orthop Relat Res**, v. 371, p. 10–27, 2000.

BELLUCCI, D. et al. Processing and characterization of innovative scaffolds for bone tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1397–1409, 23 jun. 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10856-012-4622-6>>.

BITTNER, S. M. et al. Fabrication and mechanical characterization of 3D printed vertical uniform and gradient scaffolds for bone and osteochondral tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 90, p. 37–48, maio 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706119302168>>.

BONAN, R. F. et al. In vitro antimicrobial activity of solution blow spun poly(lactic acid)/polyvinylpyrrolidone nanofibers loaded with Copaiba (*Copaifera* sp.) oil. **Materials Science and Engineering: C**, v. 48, p. 372–377, mar. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493114008194>>.

CAMPIGLIO, C. E. et al. Cross-Linking Strategies for Electrospun Gelatin Scaffolds. **Materials**, v. 12, n. 15, p. 2476, 4 ago. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1996-1944/12/15/2476>>.

CAPUANA, E. et al. Solution-Based Processing for Scaffold Fabrication in Tissue Engineering Applications: A Brief Review. **Polymers**, v. 13, n. 13, p. 2041, 22 jun. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4360/13/13/2041>>.

CLARO, P. I. C. et al. Ionic Conductive Cellulose Mats by Solution Blow Spinning as Substrate and a Dielectric Interstrate Layer for Flexible Electronics. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 22, p. 26237–26246, 9 jun. 2021. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.1c06274>>.

CLUPPER, D. C. et al. Bioactive evaluation of 45S5 bioactive glass fibres and preliminary study of human osteoblast attachment. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, n. 7, p. 803–808, jul. 2004. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1023/B:JMSM.0000032821.32577.fc>>.

DHANDAYUTHAPANI, B. et al. Polymeric Scaffolds in Tissue Engineering Application: A Review. **International Journal of Polymer Science**, v. 2011, p. 1–19, 2011. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijps/2011/290602/>>.

DILOKSUMPAN, P. et al. Orthotopic Bone Regeneration within 3D Printed Bioceramic Scaffolds with Region-Dependent Porosity Gradients in an Equine Model. **Advanced Healthcare Materials**, v. 9, n. 10, p. 1901807, 23 maio 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adhm.201901807>>.

EBERHARD, J. et al. The effect of the topical administration of bioactive glass on inflammatory markers of human experimental gingivitis. **Biomaterials**, v. 26, n. 13, p. 1545–1551, maio 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961204004521>>.

EL-RASHIDY, A. A. et al. Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models. **Acta Biomaterialia**, v. 62, p. 1–28, out. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706117305329>>.

EL SHAZLEY, N. et al. Bioglass in Alveolar Bone Regeneration in Orthodontic Patients. **JDR Clinical & Translational Research**, v. 1, n. 3, p. 244–255, 6 out. 2016. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2380084416660672>>.

ESFAHANIZADEH, N. et al. The Anti-biofilm Activity of Nanometric Zinc doped Bioactive Glass against Putative Periodontal Pathogens: An in vitro Study. **Biomedical Glasses**, v. 4, n. 1, p. 95–107, 1 nov. 2018. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/bglass-2018-0009/html>>.

EZZAT, A. M.; EL-SHENAWY, H. Repair of cleft alveolar bone with bioactive glass material using Z-plasty flap. **International Journal of Applied and Basic Medical**

Research, v. 5, n. 3, p. 211–213, 2015. Disponível em: <<http://www.ijabmr.org/text.asp?2015/5/3/211/165381>>.

FARIAS, R. M. da C. et al. Production of submicrometric fibers of mullite by solution blow spinning (SBS). **Materials Letters**, v. 149, p. 47–49, jun. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X15003195>>.

FERNANDEZ DE GRADO, G. et al. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. **Journal of Tissue Engineering**, v. 9, p. 204173141877681, 1 jan. 2018. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2041731418776819>>.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, n. 6, p. 1–17, 2015. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/421746/>>.

FROUM, S. et al. Histological Comparison of Healing Extraction Sockets Implanted With Bioactive Glass or Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft: A Pilot Study. **Journal of Periodontology**, v. 73, n. 1, p. 94–102, jan. 2002. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2002.73.1.94>>.

GABBAI-ARMELIN, P. R. et al. Characterization and biocompatibility of a fibrous glassy scaffold. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 11, n. 4, p. 1141–1151, abr. 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/term.2017>>.

GAO, C. et al. Current Progress in Bioactive Ceramic Scaffolds for Bone Repair and Regeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4714–4732, 18 mar. 2014. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/1422-0067/15/3/4714>>.

GIANNOUDIS, P. V.; DINOPOULOS, H.; TSIRIDIS, E. Bone substitutes: An update. **Injury**, v. 36, n. 3, p. S20–S27, nov. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020138305002871>>.

GONG, H. et al. An adaptation model for trabecular bone at different mechanical levels. **BioMedical Engineering OnLine**, v. 9, n. 1, p. 32, 2 dez. 2010. Disponível em: <<https://biomedical-engineering-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-925X-9-32>>.

HA, S.-W.; WEITZMANN, M. N.; BECK, G. R. Bioactive Silica Nanoparticles Promote

Osteoblast Differentiation through Stimulation of Autophagy and Direct Association with LC3 and p62. **ACS Nano**, v. 8, n. 6, p. 5898–5910, 24 jun. 2014. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/nn5009879>>.

HART, N. et al. Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action. **J Musculoskelet Neuronal Interact**, v. 17, n. 3, p. 114–139, 2017.

HEJAZI, F.; MIRZADEH, H. Novel 3D scaffold with enhanced physical and cell response properties for bone tissue regeneration, fabricated by patterned electrospinning/electrospraying. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 27, n. 9, p. 143, 22 set. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10856-016-5748-8>>.

HENNING, L. M. et al. Review on Polymeric, Inorganic, and Composite Materials for Air Filters: From Processing to Properties. **Advanced Energy and Sustainability Research**, v. 2, n. 5, p. 2100005, 26 maio 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/aesr.202100005>>.

JIA, C. et al. Mass Production of Ultrafine Fibers by a Versatile Solution Blow Spinning Method. **Accounts of Materials Research**, v. 2, n. 6, p. 432–446, 25 jun. 2021. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/accountsmr.1c00040>>.

JIMI, E. et al. The Current and Future Therapies of Bone Regeneration to Repair Bone Defects. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, p. 1–7, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijd/2012/148261/>>.

JUNQUEIRA, L.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10. ed. [s.l: s.n.]

KANKALA, R. et al. 3D-Printing of Microfibrous Porous Scaffolds Based on Hybrid Approaches for Bone Tissue Engineering. **Polymers**, v. 10, n. 7, p. 807, 23 jul. 2018. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2073-4360/10/7/807>>.

KAO, S. T.; SCOTT, D. D. A Review of Bone Substitutes. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 19, n. 4, p. 513–521, nov. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1042369907000477>>.

KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v. 26, n. 27, p. 5474–5491, set. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961205001511>>.

KIM, J.-H. et al. Characterization and application of electrospun alumina nanofibers. **Nanoscale Research Letters**, v. 9, n. 1, p. 44, 27 dez. 2014. Disponível em: <<https://nanoscalereslett.springeropen.com/articles/10.1186/1556-276X-9-44>>.

KITSUGI, T. et al. Bone-bonding behavior of plasma-sprayed coatings of BioglassR, AW-glass ceramic, and tricalcium phosphate on titanium alloy. **J Biomed Mater Res**, v. 30, n. 2, p. 261–269, 1996.

LEE, J.-H. et al. Materials roles for promoting angiogenesis in tissue regeneration. **Progress in Materials Science**, v. 117, p. 100732, abr. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079642520300967>>.

LEHMAN, L. F. C. et al. Bioactive glass containing 90% SiO₂ in hard tissue engineering: An in vitro and in vivo characterization study. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v. 13, n. 9, p. 1651–1663, 10 set. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/term.2919>>.

LI, J. et al. Intercalated Montmorillonite Reinforced Polyimide Separator Prepared by Solution Blow Spinning for Lithium-Ion Batteries. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 28, p. 12879–12888, 15 jul. 2020. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.iecr.0c01667>>.

LIU, D. et al. 3D printed PCL/SrHA scaffold for enhanced bone regeneration. **Chemical Engineering Journal**, v. 362, p. 269–279, abr. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894719300154>>.

LYSENKO, O.; BORYSENKO, A. BIOACTIVE GLASS-CERAMIC COMPOSITION IN SURGICAL MANAGEMENT OF PERIODONTAL INTRABONY DEFECTS. **Georgian Med News**, v. 295, p. 34–41, 2019.

MEDEIROS, E. L. G. et al. Porous Bioactive Nanofibers via Cryogenic Solution Blow Spinning and Their Formation into 3D Macroporous Scaffolds. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 2, n. 9, p. 1442–1449, 12 set. 2016. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbomaterials.6b00072>>.

MEDEIROS, E. L. G. et al. 3D nanofibrous bioactive glass scaffolds produced by one-step spinning process. **Ceramics International**, v. 47, n. 1, p. 102–110, jan. 2021. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272884220324925>>.

MEDEIROS, E. S. et al. Solution blow spinning: A new method to produce micro- and nanofibers from polymer solutions. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 113, n. 4, p. 2322–2330, 15 ago. 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.30275>>.

MENEZES, J. D. et al. Bioactive glass added to autogenous bone graft in maxillary sinus augmentation: a prospective histomorphometric, immunohistochemical, and bone graft resorption assessment. **Journal of Applied Oral Science**, v. 26, 11 jun. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-77572018000100460&lng=en&tlng=en>.

MIDWOOD, K. S.; WILLIAMS, L. V.; SCHWARZBAUER, J. E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 36, n. 6, p. 1031–1037, jun. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272503004291>>.

MORONI, L.; DE WIJN, J. R.; VAN BLITTERSWIJK, C. A. 3D fiber-deposited scaffolds for tissue engineering: Influence of pores geometry and architecture on dynamic mechanical properties. **Biomaterials**, v. 27, n. 7, p. 974–985, mar. 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961205006320>>.

MORTIN, L.; SHELTON, R. Primary bone-derived cell colonization of unconditioned and pre-conditioned Bioglass 45S5 surfaces in vitro. **J Mater Sci Mater Med**, v. 14, n. 4, p. 297–305, 2003.

MURPHY, C. M.; HAUGH, M. G.; O'BRIEN, F. J. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen–glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 31, n. 3, p. 461–466, jan. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961209009958>>.

NAZARNEZHAD, S. et al. Electrospun Nanofibers for Improved Angiogenesis: Promises for Tissue Engineering Applications. **Nanomaterials**, v. 10, n. 8, p. 1609, 17 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-4991/10/8/1609>>.

NORTON, M. R.; WILSON, J. Dental implants placed in extraction sites implanted with bioactive glass: human histology and clinical outcome. **Implantes Int J Oral Maxillofac**, v. 17, n. 2, p. 249–57, 2002.

ORYAN, A. et al. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future

directions. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 9, n. 1, p. 18, 17 dez. 2014. Disponível em: <<https://josr-online.biomedcentral.com/articles/10.1186/1749-799X-9-18>>.

PEREIRA, H. F. et al. Scaffolds and coatings for bone regeneration. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 3, p. 27, 2 mar. 2020. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10856-020-06364-y>>.

REMPEL, S. P. et al. Nano/microfibers of EVA copolymer obtained by solution blow spinning: Processing, solution properties, and pheromone release application. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 24, p. 47647, 20 jun. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/app.47647>>.

SAITO, E. et al. Periodontal repair following implantation of beta-tricalcium phosphate with different pore structures in class III furcation defects in dogs. **Dental Materials Journal**, v. 31, n. 4, p. 681–688, 2012. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/31/4/31_2011-259/_article>.

SÄLLSTRÖM, N. et al. 3D-printable zwitterionic nano-composite hydrogel system for biomedical applications. **Journal of Tissue Engineering**, v. 11, p. 204173142096729, 29 jan. 2020. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2041731420967294>>.

SCHMIDT-BLEEK, K. et al. Inflammatory phase of bone healing initiates the regenerative healing cascade. **Cell and Tissue Research**, v. 347, n. 3, p. 567–573, 2012.

SEOL, Y.-J. et al. Osteoconductive and degradable electrospun nonwoven poly(ϵ -caprolactone)/CaO-SiO₂ gel composite fabric. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 94, p. 649–659, 2010. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.32738>>.

SHAFAGHI, R. et al. Effect of TiO₂ doping on degradation rate, microstructure and strength of borate bioactive glass scaffolds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 107, p. 110351, fev. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493118329540>>.

SHARIR, A.; BARAK, M. M.; SHAHAR, R. Whole bone mechanics and mechanical testing. **The Veterinary Journal**, v. 177, n. 1, p. 8–17, jul. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023307003292>>.

SHEIKH, Z. et al. Natural and synthetic bone replacement graft materials for dental and

maxillofacial applications. In: **Advanced Dental Biomaterials**. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 347–376.

SOHRABI, K. et al. An Evaluation of Bioactive Glass in the Treatment of Periodontal Defects: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 4, p. 453–464, abr. 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1902/jop.2011.110347>>.

SONG, J.; LI, Z.; WU, H. Blowspinning: A New Choice for Nanofibers. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 12, n. 30, p. 33447–33464, 29 jul. 2020. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.0c05740>>.

THOMAS, M. V.; PULEO, D. A.; AL-SABBAGH, M. Bioactive Glass Three Decades On. **Journal of Long-Term Effects of Medical Implants**, v. 15, n. 6, p. 585–597, 2005. Disponível em: <<http://www.dl.begellhouse.com/journals/1bef42082d7a0fdf,56437700108bb47c,715fc3a220a2b785.html>>.

THRONDSO, R. R.; SEXTON, S. B. Grafting mandibular third molar extraction sites: A comparison of bioactive glass to a nongrafted site. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 94, n. 4, p. 413–419, out. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079210402002780>>.

TURNBULL, G. et al. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. **Bioactive Materials**, v. 3, n. 3, p. 278–314, set. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X17300397>>.

TURUNEN, T. et al. Bioactive glass granules as a bone adjunctive material in maxillary sinus floor augmentation. **Clinical Oral Implants Research**, v. 15, n. 2, p. 135–141, abr. 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0501.2004.00989.x>>.

VILLARREAL-GÓMEZ, L. J. et al. Electrospinning as a powerful technique for biomedical applications: a critically selected survey. **Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition**, v. 27, n. 2, p. 157–176, 22 jan. 2016. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2015.1116885>>.

WANG, H. et al. Influence of Cu doping in borosilicate bioactive glass and the properties of its derived scaffolds. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 194–203, jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115302824>>.

WENG, L. et al. Binary Doping of Strontium and Copper Enhancing Osteogenesis and Angiogenesis of Bioactive Glass Nanofibers while Suppressing Osteoclast Activity. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 9, n. 29, p. 24484–24496, 26 jul. 2017. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.7b06521>>.

WENG, T. et al. 3D bioprinting for skin tissue engineering: Current status and perspectives. **Journal of Tissue Engineering**, v. 12, p. 204173142110285, 13 jan. 2021. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/20417314211028574>>.

WU, C. et al. Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity. **Biomaterials**, v. 34, n. 2, p. 422–433, jan. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961212010897>>.

WU, C. et al. Cryogenically printed flexible chitosan/bioglass scaffolds with stable and hierarchical porous structures for wound healing. **Biomedical Materials**, v. 16, n. 1, p. 015004, 27 nov. 2020. Disponível em: <<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-605X/abb2d7>>.

ZHANG, Y. et al. 3D-printed scaffolds of mesoporous bioglass/gliadin/polycaprolactone ternary composite for enhancement of compressive strength, degradability, cell responses and new bone tissue ingrowth. **International Journal of Nanomedicine**, v. Volume 13, p. 5433–5447, set. 2018. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/3d-printed-scaffolds-of-mesoporous-bioglassgliadinpolycaprolactone-ter-peer-reviewed-article-IJN>>.

ZHAO, R. et al. Bone Grafts and Substitutes in Dentistry: A Review of Current Trends and Developments. **Molecules**, v. 26, n. 10, p. 3007, 18 maio 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/26/10/3007>>.

ZHENG, X. et al. Novel three-dimensional bioglass functionalized gelatin nanofibrous scaffolds for bone regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 109, n. 4, p. 517–526, abr. 2021. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.34720>>.

ZHONG, J.; GREENSPAN, D.; FENG, J. A microstructural examination of apatite induced by Bioglass in vitro. **J Mater Sci Mater Med**, v. 13, n. 3, p. 321–326, 2002.