

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 20/09/2019.



**“UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



**Hélida Gomes de Oliveira Barud**

**BIOMATERIAIS MULTIFUNCIONAIS APLICADOS EM  
REPARO ÓSSEO NA ODONTOLOGIA**

ARARAQUARA

2017



**“UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO”**

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE ARARAQUARA**



**Hélida Gomes de Oliveira Barud**

**BIOMATERIAIS MULTIFUNCIONAIS APLICADOS EM  
REPARO ÓSSEO NA ODONTOLOGIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Dentística Restauradora, da Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP, como parte dos requisitos à obtenção do título de Doutora em Ciências Odontológicas.

**Orientador: Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior**

**Co-orientador: Prof. Dr. Hermes Pretel**

ARARAQUARA

2017

Barud, Héliida Gomes de Oliveira

Biomateriais multifuncionais aplicados em reparo ósseo na Odontologia / Héliida Gomes de Oliveira Barud.-- Araraquara: [s.n.], 2017  
108f.; 30 cm.

Tese (Doutorado em Dentística Restauradora) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia

Orientador: Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior

Co- orientador: Prof. Dr. Hermes Pretel

1. Regeneração óssea 2. Materiais biocompatíveis 3. Engenharia tecidual 4. Impressão tridimensional 5. Microtomografia por Raio-X I.  
Título

# **BIOMATERIAIS MULTIFUNCIONAIS APLICADOS EM REPARO ÓSSEO NA ODONTOLOGIA**

**COMISSÃO JULGADORA**

**TESE PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORAMENTO**

Presidente e Orientador: Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior

2º Examinador: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantônio

3º Examinador: Prof. Dr. Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira

4º Examinador: Prof. Dr. Rodrigo Alvarenga Rezende

5º Examinador: Prof. Dr. Hewerson Santos Tavares

Araraquara, 20 de setembro de 2017.

## DADOS CURRICULARES

### *Hélida Gomes de Oliveira Barud*

**Nascimento** 23/02/1979, Paranavaí, PR.

**Filiação** Absalão José de Oliveira e Célida Gomes de Oliveira

**1998 a 2001** Graduação em Odontologia. Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- FOAr - UNESP – Araraquara/SP.

**2001 a 2001** Aperfeiçoamento em Atualização de Procedimentos Clínicos Integrados. Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- FOAr - UNESP – Araraquara/SP.

**2002 a 2002** Aperfeiçoamento em Atualização em Endodontia. Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho- FOAr - UNESP – Araraquara/SP.

**2006 a 2007** Curso de Pós-Graduação em Odontologia em Saúde Coletiva, nível Especialização. Centro de Pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic - SLMANDIC– Campinas/SP.

**2009 a 2010** Aperfeiçoamento em Ortodontia Corretiva. Grupo de Estudos Ortodônticos e Serviços – GESTOS – Araraquara/SP

**2010 a 2012** Aperfeiçoamento em Ortodontia Corretiva. Centro de Pós-Graduação em Ortodontia – Ribeirão Preto/SP.

**2012 a 2014** Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Dentística Restauradora, nível Mestrado. Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - FOAr - UNESP – Araraquara/SP.

**2016 a 2017** Curso de Doutorado sanduíche no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, em Coimbra, Portugal, sob a supervisão do Professor Antônio José Ribeiro.

**2014 a 2017** Curso de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração Dentística Restauradora, nível Doutorado. Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - FOAr - UNESP – Araraquara/SP.

A **DEUS**, obrigada pela oportunidade de conseguir realizar mais este sonho, que era intangível, mas agora tornou-se real. Obrigada por cuidar de cada detalhe! Pois eu sei que é o Senhor quem opera o querer e o efetuar no nosso coração, quem capacita e dirige os nossos passos, dando sabedoria, paciência e virtude no caminhar! A Ti, toda a honra e glória!

Ao meu querido esposo **HERNANE**,  
Obrigada por ser tão companheiro, compreensivo e amoroso!  
Por todo apoio em tudo, Parceiro em todo o tempo!

Amo muito você!

Ao meu filho **SAMUEL**,  
um presente de Deus querido e companheiro. Obrigada por me acompanhar nesta jornada e por muito me ajudar com a **Ellen**.

A minha pequena princesa **ELLEN**,  
tesouro do Papai do céu, cheia de doçura e meiguice...  
Aos meus amados Pais **ABSALÃO** e **CÉLIDA** e irmão **LYSIAS EDUARDO**  
pelo eterno exemplo de luta e determinação baseados no amor.  
Mesmo distantes fisicamente, sei que estão torcendo por mim!

Obrigado por me ensinarem os valores desta vida

Amo vocês para sempre!

A todos os meus familiares queridos e amigos que me apoiaram e vibram  
pelo meu sucesso.

Ofereço esta conquista a vocês, a qual sem o apoio de cada um, não teria  
o mesmo sentido.

**Muito obrigada!**

*Ao meu orientador,*

*Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Junior.*

*Muito obrigada pela amizade, confiança motivação e otimismo em tudo!*

*Conhecimentos e aprendizado técnico, um bom livro pode oferecer.  
Agradeço a Deus por sua vida, por ter tido a oportunidade de aprender  
muito mais nesta nova fase.*

*Aprender com sua  
dedicação não apenas no trabalho clínico e acadêmico na Odontologia,  
mas com o cuidado paternal de família, de lições de vida.  
Para sempre minha amizade, gratidão e admiração.*



## **AGRADECIMENTOS**

*Ao Prof. Dr. Hermes Pretel, por sua co-orientação em todos os passos. Por agregar qualidade a este trabalho, pelo belo estudo histológico realizado. Muito obrigada, por tudo!*

*Ao Prof. Dr. Cleverton Roberto de Andrade e Profa. Dra. Marisa Aparecida C. Gabrielli, por terem participado dos meus exames de pré-qualificação e também qualificação, por todas as sugestões e contribuições feitas enriquecendo o trabalho.*

*Aos alunos de iniciação científica Renan Barroso e Priscila Carvalho, e à querida Morgana, por todos os momentos descontraídos e também delicados no cuidado com os ratinhos da pesquisa, nossos filhinhos.*

*A Luana, que ajudou na aquisição das imagens de micro-ct.*

*A empresa DMC, na pessoa do Dr. Marcos Aurélio Napolitano que cedeu as amostras para o estudo.*

*Ao funcionário Pedro da histologia, por todo o cuidado necessário para o processamento histológico para o estudo.*

*A Diretoria, Coordenação da Pós-Graduação em Ciências Odontológicas e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista.*

*Ao Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, em especial aos professores da Disciplina de Dentística da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr pela convivência e ensinamentos.*

*Ao Instituto de Química de Araraquara – UNESP e Laboratório de Materiais Fotônicos por permitir a caracterização dos materiais usados neste estudo.*

*Aos funcionários da Secretaria de Pós – Graduação da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr – UNESP, obrigada pela atenção, paciência e dedicação.*

*A todos os funcionários da Biblioteca da FOAr – UNESP pela disposição de sempre.*

*A todos os queridos amigos que dedicaram atenção e cuidado ao meu filho nos momentos de minha ausência. Muitíssimo obrigada pelo apoio sempre! A toda família do coração conquistada aqui em Araraquara, que tornou minha vida muito mais alegre nesta fase tão intensa. Não tenho palavras para agradecer todo carinho.*

*À CAPES pela concessão de bolsa de estudo para realização deste trabalho.*

*A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desse trabalho.*

**Muito Obrigada!!**

*“Bom mesmo é ir à luta com determinação,  
abraçar a vida e viver com paixão,  
perder com classe e vencer com ousadia,  
pois o triunfo pertence a quem se atreve...  
E a vida é muito para ser insignificante”.*

*Charles Chaplin*

“Educar é ser um artesão da personalidade, um poeta da inteligência, um semeador de ideias”.

*Augusto Cury*

Barud HGO. Biomateriais multifuncionais aplicados em reparo ósseo na odontologia [Tese de Doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia UNESP; 2017.

## **RESUMO**

A regeneração óssea caracteriza-se por ser um processo fisiológico complexo que envolve a participação coordenada entre angiogênese e osteogênese. Envolve um processo de múltiplas etapas que inclui migração, proliferação e diferenciação de vários tipos de células, como células endoteliais, fibroblastos, osteoblastos e osteoclastos. Sabe-se que os biomateriais sintéticos têm demonstrado ser uma excelente alternativa ao reparo ósseo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do Biosilicato de sódio (BS) e dos compósitos 3D de 30% de hidroxiapatita e ácido poliláctico (3D 30% HA / PLA) e 30% hidroxiapatita e ácido poli(ácido láctico-co-glicólico) (30% HA / PLGA), e em defeitos críticos na calvária de ratos. Cento e vinte ratos machos de 90 dias com 350g de massa corporal em média foram aleatoriamente divididos em grupos de acordo com materiais de enxerto e tempo de análise, apresentando 6 animais em cada um. Os defeitos de tamanho crítico foram criados empregando-se uma trefina de 8 mm de diâmetro interno e preenchidos com os materiais mencionados ou apenas o coágulo sanguíneo como controle. Após 14 (T1), 30 (T2), 60 (T3), 90 (T4) e 120 dias (T5) dias do procedimento cirúrgico, a regeneração óssea foi avaliada por radiografia, microtomografia computadorizada ( $\mu$ -CT) e histologia. A avaliação macroscópica mostrou biocompatibilidade em torno da área de interesse entre os biomateriais e ossos adjacentes. As imagens de  $\mu$ -CT e de raios-x revelaram uma considerável formação óssea em relação ao PLGA e ao scaffold 3D, sendo que este último demonstrou uma maior extensão do tecido ósseo neoformado, mesmo dentro dos poros do scaffold. Por outro lado, os compósitos 3D 30%HA/PLA e 30% HA/PLGA não foram totalmente degradados permanecendo um remanescente do biomaterial em torno do reparo ósseo. Quanto ao BS, este apresentou formação óssea similar ao grupo controle.

**Palavras Chave:** Regeneração óssea. Materiais biocompatíveis. Engenharia tecidual. Impressão tridimensional. Microtomografia por Raio-X.

## **ABSTRACT**

The process of bone regeneration requires a coordinated coupling between osteogenesis and angiogenesis involving a multistep process that includes migration, proliferation, and differentiation of several types of cells such as endothelial, fibroblasts, osteoblasts and osteoclasts. It is known that synthetic biomaterials have been proven to be an excellent alternative to bone repair. Thus, the aim of this study is to evaluate the effect of calcium and sodium Biosilicate (BS), a 3D scaffold of hydroxyapatite and polylactic acid (30% HA / PLA) and a hydroxyapatite and poly (lactic-co-glycolic acid) (30% HA / PLGA) composites in critical-sized calvarial defects. One hundred and twenty 90 days old male rats with 350g of body mass on average were randomly divided into groups (n = 6) according to graft materials and analysis time. Critical-size defects were created by means of a 8 mm inner diameter trephine bur and were filled with a 3D 30% HA/PLGA scaffold, 30% HA/PLA, BS or blood clot as control. After 15 (T1), 30 (T2), 60 (T3), 90 (T4) and 120 (T5) days of the surgical procedure, bone regeneration was evaluated by histology, x-ray and micro-computed tomography ( $\mu$ -CT). Macroscopic evaluation showed no significant inflammation around the interest area.  $\mu$ -CT results indicates that 30% HA/PLA and 3D 30% HA/PLGA composites were not fully degraded and images revealed considerable bone formation in 90 days and 120 days in relation to these materials. On the other hand, BS presented a bone formation similar to control groups.

**Key words:** Bone regeneration. Biocompatible materials. Tissue engineering. Printing, three-dimensional. X-Ray microtomography.

# Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1.1 Biosilicato (BS)</b> .....	18
<b>1.2 Ácido Polilático (PLA)</b> .....	19
<b>1.3 Poli (ácido lático-co-glicólico) (PLGA)</b> .....	21
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	23
<b>2.1 Biosilicato</b> .....	23
<b>2.2 Ácido Polilático (PLA)</b> .....	27
<b>2.3 Poli (ácido lático-co-glicólico) (PLGA)</b> .....	30
<b>3 PROPOSIÇÃO</b> .....	34
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	35
<b>4.1 Materiais</b> .....	35
<b>4.2 Caracterização Físico-Química</b> .....	36
<b>4.3 Avaliação In Vivo: Metodologia</b> .....	37
<b>4.4 Avaliação da Taxa de Reparo Ósseo</b> .....	41
<b>4.4.1 Imagens de raios-X</b> .....	41
<b>4.4.2 Microtomografia computadorizada (Micro-CT)</b> .....	43
<b>4.5 Análise Histológica</b> .....	44
<b>4.6 Análise Estatística</b> .....	45
<b>5 RESULTADOS</b> .....	46
<b>5.1 Caracterização Físico-Química</b> .....	46
<b>5.1.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</b> .....	46
<b>5.1.2 Espectroscopia de raios-X de energia dispersiva (EDS)</b> .....	50
<b>5.1.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)</b> .....	52
<b>5.2 Avaliação da Taxa de Reparo Ósseo</b> .....	54
<b>5.2.1 Imagens de raios-X</b> .....	54
<b>5.2.2 Micro-CT</b> .....	58
<b>5.3 Análise Histológica</b> .....	62
<b>5.3.1 Tempo: 7 dias</b> .....	63
<b>5.3.2 Tempo: 14 dias</b> .....	68
<b>5.3.3 Tempo 30 dias</b> .....	73
<b>5.3.4 Tempo 60 dias</b> .....	78
<b>5.3.5 Tempo 120 dias</b> .....	83
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	88
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	96
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	97
<b>ANEXO</b> .....	107

## 1 INTRODUÇÃO

O processo de reparação tecidual compreende dois mecanismos: a regeneração e a cicatrização. A regeneração ocorre através da reposição tecidual “original”. A cicatrização abrange uma série de estágios complexos, interdependentes e simultâneos, e representa o esforço do corpo para restaurar a função e a estrutura natural de um tecido injuriado (Santos<sup>85</sup>, 2000), o que resulta no fechamento do defeito por um tecido diferente do original.

Em relação ao tratamento de injúrias ou defeitos no tecido ósseo, este pode variar de acordo com a localização, tamanho e função do osso lesionado. Em defeitos pouco extensos, o próprio coágulo de sangue resultante da hemorragia local pode ser suficiente para promover a reparação. No entanto, a regeneração de defeitos ou fraturas mais extensas, exige técnicas específicas de enxertia, para preencher o espaço entre os fragmentos de osso, garantindo o suprimento sanguíneo, viabilizando e conduzindo os diferentes processos do reparo tecidual.

Os enxertos podem ser realizados com ósseos autógenos (Misch et al.<sup>65</sup>, 2011; Rana et al.<sup>78</sup>, 2011; Rogers et al.<sup>81</sup>, 2011), alógenos (Barone et al.<sup>6</sup>, 2009) e xenógenos (Hatano et al.<sup>33</sup>, 2004; Santis et al.<sup>83</sup>, 2011; Hallman et al.<sup>31</sup>, 2001), ou biomateriais sintéticos (Araújo et al.<sup>3</sup>, 2010; Xu et al.<sup>112</sup>, 2011; Kohgo et al.<sup>50</sup>, 2010).

O enxerto ósseo autógeno ainda é considerado o padrão-ouro para a reconstrução óssea, pois apresenta algumas vantagens em relação aos demais: é o único osteoindutor, osteocondutor e osteoprogenitor. (Block, Kent<sup>8</sup>, 1997; Crespi et al.<sup>15</sup>, 2006; Gerressen et al.<sup>26</sup>, 2009; Sbordone et al.<sup>86</sup>, 2009). Contudo, é de pleno conhecimento que os autoenxertos apresentam algumas limitações, como: hematoma, ruptura dos tecidos moles, dor, quantidade e áreas doadoras limitadas; potencial de morbidade da área doadora; considerável reabsorção; viabilidade limitada por causa da escassez de vascularização (enxertos não vascularizados) e tempo cirúrgico adicional (Bucharth<sup>11</sup>, 1983). Além disso, cada área anatômica oferece desafios específicos para reconstrução óssea em relação à forma e função, sendo que alguns

sítios de doação de enxertia (como fíbula, escápula, rádio e crista ilíaca) podem levar a uma maior morbidade da área doadora (Ayub et al.<sup>5</sup>, 2011; Hench<sup>37</sup>, 2006).

Deste modo, o desafio das pesquisas mais recentes está voltado para o desenvolvimento de substitutos ósseos (sintéticos) que reproduzam as muitas funções das matrizes extracelulares naturais, uma vez que elas regulam as respostas do hospedeiro. Esta propriedade é denominada biomimetismo (Barrere et al.<sup>7</sup>, 2008).

Outra questão importante no desenvolvimento dos enxertos biomiméticos é o controle da biodegradabilidade, já que o material não deve deteriorar antes da recuperação da região onde foi implantado, mas deve ser substituído gradativamente à medida que o processo ocorre (Freyman et al.<sup>23</sup>, 2001).

A aplicação de biomateriais sintéticos na regeneração do tecido ósseo como uma alternativa aos enxertos é relevante, pois eles não causam dano aos tecidos saudáveis, não aumentam os riscos de contaminações virais e bacterianas e, por serem disponibilizados comercialmente, são padronizados e regulamentados por órgãos competentes para tais fins. Adicionalmente, de forma geral, apresentam fácil dissolução e absorção, ao mesmo tempo em que permitem e estimulam a formação óssea (Wan et al.<sup>101</sup>, 2006; Chen et al.<sup>12</sup>, 2009).

Os biomateriais a serem utilizados para reconstrução óssea devem obedecer aos princípios biológicos que norteiam a cicatrização óssea, uma vez que o tecido ósseo não lesionado está em constante remodelação e sua massa total depende da relação de equilíbrio existente entre a formação e a reabsorção óssea (Silva et al.<sup>94</sup>, 2007). Neste ponto, vale a pena ressaltar que a consolidação do reparo neste tecido está relacionada a alguns fatores, tais como: amplo suprimento sanguíneo, possibilidade de migração celular, estabilidade mecânica, presença de um arcabouço tridimensional, além de se considerar o tamanho do sítio lesionado. Em situações em que a morfologia e a dimensão do defeito são extensas e críticas ao reparo, o mecanismo regenerativo pode tornar-se limitado resultando em uma cicatriz fibrosa (Kim et al.<sup>49</sup>, 2006). Por conseguinte, os biomateriais a serem utilizados como substitutos do tecido



ósseo precisam ser dotados de características peculiares como biocompatibilidade, biodegradabilidade e osteocondutibilidade, para serem capazes de proporcionar a condução de osteoblastos ou de células precursoras de osteoblastos para o sítio lesado e de fatores regulatórios que promovam esse recrutamento, assim como o crescimento celular neste sítio (Liu, Ma<sup>34</sup>, 2004; Wan et al.<sup>102</sup>, 2006; Chen et al.<sup>12</sup>, 2009).

Ademais, outro ponto relevante que atuará como suporte para neoformação óssea é a configuração morfológica do enxerto de biomaterial (Precheur<sup>76</sup>, 2007). Estes devem possuir função imediata após a implantação, apresentar habilidade de se integrar ao organismo, para sustentar e proteger o reparo das forças fisiológicas que incidem sobre a área danificada (Vunjak-Novakovic, Kaplan<sup>101</sup>, 2006).

De forma geral, os estudos *in vitro* contribuem significativamente para avaliar a resposta celular direta ao biomaterial, suas propriedades mecânicas e de degradação, contudo não dispensam a necessidade dos testes *in vivo*, que representam um passo intermediário e fundamental no desenvolvimento para viabilizar a aplicação em humanos (Li et al.<sup>59</sup>, 2015).

O modelo de experimentação animal, então, apresenta-se como extremamente relevante neste processo para compreender as propriedades biológicas, físico-químicas bem como a degradação dos materiais, observando a interação destes com os tecidos circundantes ao implante (Li et al.<sup>59</sup>, 2015).

Uma grande variedade de espécies diferentes de mamíferos já foi usada em estudos relacionados ao reparo do tecido ósseo. Os roedores são animais pequenos, de baixo custo e fáceis de manusear, o que os torna ideais para os estudos pré-clínicos. Apesar de existirem algumas limitações relacionadas ao tamanho reduzido dos ossos longos e a cortical muito fina e frágil estas características não são impeditivas para que os roedores sejam aplicados com sucesso como modelo animal de reparo ósseo (Gomes, Fernandes<sup>27</sup>, 2011).

Para testes de viabilidade e performance de enxertos para grandes lesões ósseas, o modelo de defeito crítico (DC) na região da calvária de ratos tem sido frequentemente

aplicado, pois mimetiza "a menor ferida óssea que não pode ser reparada espontaneamente pelo organismo" segundo Schmitz e Hollinger<sup>89</sup>, em 1986.

Este modelo tem se demonstrado muito adequado e popular entre os pesquisadores devido às seguintes razões: a estrutura óssea da calvária permite que seja realizado um defeito crítico uniforme, padronizado e reprodutível que pode ser facilmente avaliado pela técnica de raios-x e pela histologia. Sua localização anatômica oferece um acesso cirúrgico adequado para manuseio; a dura-máter e a cobertura da meninge oferecem um suporte adequado para os materiais a serem implantados sem a necessidade de fixação adicional tanto externa como interna. Além disso, por ser um modelo extensivamente utilizado e estudado, favorece a comparação de resultados e o desenvolvimento de materiais e técnicas (Hollinger, Kleinschmidt<sup>38</sup>, 1990; An, Friedman<sup>2</sup>, 1999).

No que tange a substituição de tecido ósseo, substâncias contendo cálcio/fosfato são preferíveis, tais como a hidroxiapatita (HA), cerâmicas e vidros bioativos (Matsumoto et al.<sup>63</sup>, 2012).

Vidros bioativos têm sido amplamente utilizados como material de substituição óssea, principalmente devido à sua capacidade única de se ligar ao tecido vivo, e a sua biocompatibilidade e propriedades osteocondutoras. Apesar dos seus efeitos estimulantes bem conhecidos na osteogênese, a utilização de vidro bioativo monolítico para aplicações de engenharia tecidual óssea tem sido limitada, devido ao baixo desempenho das propriedades mecânicas (Hench<sup>37</sup>, 2006; Hollinger et al.<sup>39</sup>, 2008).

O biosilicato (BS) foi desenvolvido no intuito de melhorar as propriedades mecânicas dos vidros bioativos. Moura et al.<sup>68</sup> (2007) e Granito et al.<sup>28,29</sup> (2009, 2011) reportaram que o BS apresenta satisfatória atividade osteogênica induzindo com eficiência a neoformação óssea.

Compostos de fosfato de cálcio, tais como hidroxiapatita (HA) e fosfato tricálcico (TCP) também têm sido largamente utilizados como substitutos ósseos devido às suas

excelentes propriedades de biocompatibilidade, osteocondutividade, e bioafinidade ao tecido em questão. No entanto, estes compostos também são mecanicamente deficientes, mostrando-se frágeis e propensos a fraturas, não oferecendo o suporte mecânico necessário para os grandes defeitos ósseos. (Hayakawa et al.<sup>34</sup>, 2010).

Poliésteres biodegradáveis, tais como o ácido polilático (PLA), Ácido poliglicólico (PGA) e os seus copolímeros de poli (ácido lático-co-glicólico) (PLGA), têm boa biocompatibilidade, boa resistência mecânica, bom módulo de elasticidade e podem ser conformados termicamente, de modo a satisfazer os requisitos básicos de materiais de transporte/condutores em engenharia tecidual óssea e cartilaginosa (Villalobos et al.<sup>99</sup>, 2007; Weng et al.<sup>109</sup>, 2001)

Compósitos que associem nanopartículas de HA com PLA ou PLGA têm atraído considerável atenção como substitutos de osso por apresentarem boa osteocondutividade, e biodegradabilidade, associada a alta resistência mecânica (Shikinami et al.<sup>91</sup>, 1999; Petricca et al.<sup>74</sup>, 2006; Kim et al.<sup>49</sup>, 2006; Wei et al.<sup>107</sup>, 2004; Watanabe et al.<sup>106</sup>, 2004; Hasegawa et al.<sup>32</sup>, 2005; Shikinami et al.<sup>90</sup>, 2005). Adicionalmente, matrizes de PGA e PLGA têm apresentado similaridade no suporte de crescimento de tecidos dentários altamente organizados (Duailibi<sup>18</sup>, 2004). Este fato indica que os materiais que apresentam aplicações em reparo de tecido ósseo, provavelmente tem potencial para também serem utilizados no reparo dos tecidos dentários.

### **1.1 Biosilicato (BS)**

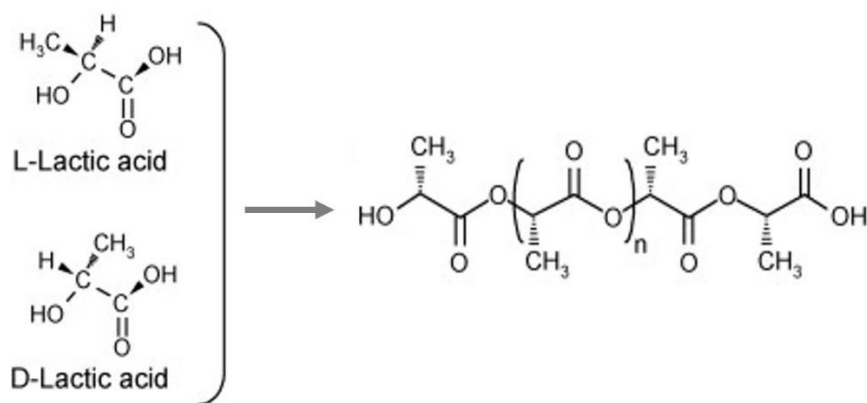
A mais recente vitrocerâmica bioativa disponível foi desenvolvida por Ravagnani e colaboradores, do Laboratório de Materiais Vítreos da Universidade Federal de São Carlos, Brasil (Ravagnani<sup>79</sup>, 2003), cuja composição baseia-se no sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ . Esta vitro-cerâmica foi patenteada e registrada como Biosilicate® em 2003 e apresenta bioatividade muito similar ao Bioglass® 45S5, ainda considerado o padrão ouro de materiais bioativos (Hench<sup>37</sup>, 2006; Jones<sup>43</sup>, 2013).

O Biosilicate® (BS) caracteriza-se por ser um vidro cerâmico cristalino cujas propriedades osteogênicas, osteoindutivas e biomecânicas são consideradas satisfatórias. O BS não é citotóxico ou genotóxico e possui propriedades antibacterianas (Moura et al.<sup>68</sup>, 2007; Granito et al.<sup>28,29</sup>, 2009, 2011). Estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos, testaram o desempenho do BS para aplicações médicas e odontológicas (Zanotto et al.<sup>115</sup>, 2006; Zanotto<sup>116</sup>, 2010; Tirapelli et al.<sup>98</sup>, 2011; Granito et al.<sup>28,29</sup>, 2009, 2011; Renno et al.<sup>80</sup>, 2010; Boccaccini, Gough<sup>9</sup>, 2007; Williams<sup>110</sup>, 2009; Kokubo<sup>51</sup>, 2008).

## 1.2 Ácido Polilático (PLA)

O ácido polilático (PLA) caracteriza-se por ser um poliéster derivado do ácido láctico configurando o principal polímero biodegradável utilizado em aplicações biomédicas nas últimas cinco décadas. Suas ligações éster podem ser hidrolisadas em fragmentos bem menores cuja metabolização é segura sendo facilmente degradados pelo organismo humano (Lasprilla et al.<sup>54</sup>, 2012). Adicionalmente, estes polímeros são hidrofóbicos, semi cristalinos, com propriedades mecânicas e térmicas apreciáveis, sendo considerados materiais de base ideais para a fabricação de biomateriais, cuja obtenção industrial ocorre através da polimerização do ácido láctico ou da polimerização de abertura do anel (Cheng et al.<sup>13</sup>, 2009; Lim et al.<sup>60</sup>, 2008), cuja unidade estrutural está representada na Figura 1.

**Figura 1-** Representação da síntese do PLA. Araraquara, 2017.



Dentre as vias de obtenção do PLA, este pode ser produzido a partir de materiais não fósseis e/ou recursos naturais renováveis a partir da fermentação de polissacarídeos extraídos da cana de açúcar, milho, batata, melão da cana e beterraba açucareira. Outras fontes alternativas bio-baseadas de açúcares fermentáveis, tais como: biomassa celulósica não alimentar, resíduos agrícolas, culturas não-alimentares e gramíneas também podem ser consideradas na obtenção de PLA (Vink, Davies<sup>100</sup>, 2015).

Atualmente, novas formulações do PLA e de seus copolímeros, produzidos por "bioengenharia verde" de baixo custo e de alto valor agregado, tem atraído grande atenção de pesquisadores, devido às excelentes possibilidades de desenvolvimento de soluções inovadoras na biomedicina, pois são biodegradáveis, bioreabsorvíveis e não tóxicos (Pawar et al.<sup>73</sup>, 2014; Lasprilla et al.<sup>54</sup>, 2012).

Em aplicações ortopédicas e dentárias, materiais baseados em PLA têm sido utilizados como dispositivos de fixação em cirurgias reconstrutivas, incluindo as da articulação mandibular, torácica, mão, perna, dedo e fraturas dos dedos do pé; em procedimentos de reconstrução do ligamento; em fixações de tecidos moles e duros; no alinhamento de osteocondral e fragmentos ósseos; em reparo do menisco; fixação de cartilagem hialina e até em aplicações estéticas de preenchimento facial (Middleton, Tipton<sup>64</sup>, 2000).

Devido às propriedades térmicas, o PLA pode ser facilmente moldado em diferentes conformações, resultando em muitos tipos de matrizes para suporte e crescimento de tecidos. Essa propriedades permitem que enxertos ou scaffolds de PLA possam ser construídos por manufatura aditiva, conhecida popularmente por impressão 3D associada a sistemas de fabricação assistida por computador (CAD /CAM), favorecendo de modo único a obtenção de dispositivos personalizados que apresentem uma geometria adequada e estável, possibilitando o desenvolvimento de estruturas de PLA altamente complexas com a incorporação de

diversos tipos de fatores de crescimentos, alguns tipos de células e fármacos para liberação controlada (Xiong et al.<sup>111</sup>, 2002; Yan et al.<sup>113,114</sup>, 2003, 2005; Farahani et al.<sup>20</sup>, 2014).

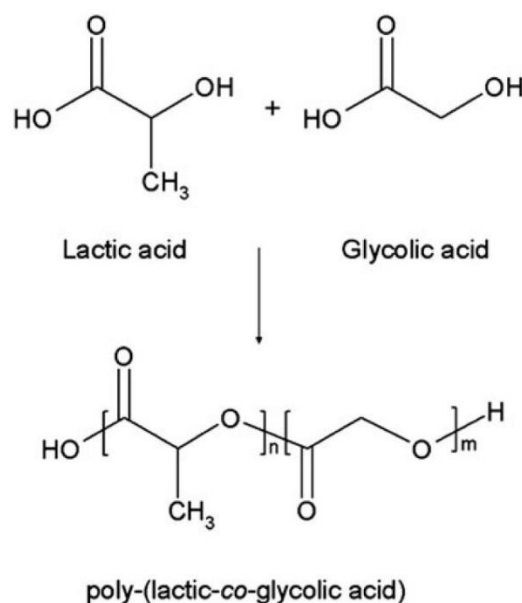
As desvantagens do PLA estão relacionadas a propriedades mecânicas ainda deficientes, que podem ser melhoradas pela associação com outros materiais e fibras de reforço.

Dentre as diversas possibilidades de combinações de materiais que podem ser associados ao PLA, tem crescido o interesse nos compósitos baseados em HA/PLA.

### 1.3 Poli (ácido lático-co-glicólico) (PLGA)

O ácido polilático quando copolimerizado com ácido glicólico resulta em um polímero amorfo denominado poli (ácido lático-co-glicólico) (PLGA), dotado de diferentes propriedades físicas e mecânicas bem como diferentes taxas de degradação, dependendo da proporção entre as unidades glicólicas e láticas, da organização do copolímero e peso molecular quando comparado ao PLA (Zhou et al.<sup>118</sup>, 2004; Wang et al.<sup>105</sup>, 2006). A Figura 2 ilustra a estrutura deste polímero.

**Figura 2-** Esquema representativo da estrutura química do PLGA. N representa o número de unidades de ácido lático e M, as unidades de ácido glicólico. Araraquara, 2017.



Devido à semelhança em composição e por ser derivado do PLA, o biopolímero PLGA apresenta propriedades físico-químicas e biológicas semelhantes, com a vantagem de maior controle da degradação, ao se variar as proporções de monômeros, pois apresenta melhor equilíbrio entre os constituintes hidrofóbicos / hidrofílicos e na cristalinidade (Lanao et al.<sup>53</sup>, 2013).

A aplicação do biopolímero PLGA na forma pura é dificultada pela baixa osteocondutividade, exibindo propriedades mecânicas insatisfatórias no que tange o suporte de carga, sendo frequentemente utilizado em combinação com outros materiais, tais como cerâmica, vidro bioativo, ou outras modificações estruturais para torná-lo mais biomimético (Pan, Ding<sup>71</sup>, 2012). Adicionalmente, a superfície ligeiramente hidrofóbica do PLGA é tida como inadequada para a adesão e proliferação celular, de acordo com alguns pesquisadores (Chun et al.<sup>14</sup>, 2004; Park et al.<sup>72</sup>, 2007).

Compostos de HA/PLGA também têm sido propostos como forma de melhorar o desempenho mecânico do enxerto. Neste composto o PLGA atuaria como um suporte para que a HA seja depositada, reduzindo a fragilidade mecânica e controlando a taxa de reabsorção enxerto (Kim, Kim<sup>48</sup>, 2008; Asti et al.<sup>4</sup>, 2010; Zhang et al.<sup>117</sup>, 2011).

Apesar de os estudos mostrarem que BS, HA/PLA e HA/PLGA apresentam isoladamente potencial para serem utilizados como enxertos/scaffolds para reparação óssea e de outros tecidos humanos, ainda não existem estudos comparando a performance destas três formulações em defeitos críticos de calvária de ratos.

Da mesma forma, não se sabe se a impressão aditiva de biomateriais termicamente fundidos (3D), na formulação proposta pelo estudo, apresentaria vantagens em relação às técnicas tradicionais de produção utilizadas nos demais materiais do estudo.

## 7 CONCLUSÃO

Conclui-se que a hipótese nula deve ser rejeitada uma vez que existem diferenças significativas na composição e desempenho dos biomateriais testados. A caracterização química dos materiais realizada por EDS, FT-IR e morfológica por MEV mostrou diferenças relevantes em especial quando consideramos os scaffolds 3D 30% HA/PLA e 30% HA/PLGA, nos quais foi evidente uma superfície não porosa e pouco favorável ao reparo, enquanto o BS apresentou partículas irregulares dispersas.

Quanto à resposta histológica, nota-se uma progressão da organização tecidual, organização das fibras colágenas e deposição de matriz mineralizada, revelando a boa biocompatibilidade de todos os tratamentos, com a maior tendência de maturação de fibras colágenas e tecido ósseo para os scaffolds 3D 30% HA/PLA e 30% HA/PLGA.

Em relação à taxa de reparo ósseo, os materiais que apresentaram o desempenho estatisticamente superior foram o 3D 30% HA/PLA e 30% HA/PLGA quando analisados por radiografia e micro-ct. O conjunto destas análises indica que os tratamentos 3D 30% HA/PLA e 30% HA/PLGA configuram uma excelente opção em termos de reparo em defeitos ósseos críticos.



## REFERÊNCIAS\*

1. Akagi H, Iwata M, Ichinohe T, Amimoto H, Hayashi Y, Kannno N, et al. Hydroxyapatite/poly-L-lactide acid screws have better biocompatibility and femoral burr hole closure than does poly-L-lactide acid alone. *J Biomater Appl.* 2014; 28(6): 954-62.
2. An Y, Friedman R. Animal models of bone defect repair. In: An Y, Friedman R, eds. *Animal models in orthopaedic research*, Boca Raton: CRC Press; 1999. p. 241–60.
3. Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J.  $\beta$ -tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21(4): 445-54.
4. Asti A, Gastaldi G, Dorati R, Saino E, Conti B, Visai L, et al. Stem cells grown in osteogenic medium on PLGA, PLGA/HA, and titanium scaffolds for surgical applications. *Bioinorg Chem Appl.* 2010; 83(1):1031-43.
5. Ayub LG, Novaes Júnior AB, Grisi MFM, Taba Junior M, Pallioto DB, Souza SLS. Regeneração óssea guiada e suas aplicações terapêuticas. *Braz J Periodontol.* 2011; 21(04): 39-45.
6. Barone A, Varanini P, Orlando B, Tonelli P, Covani U. Deep-frozen allogeneic onlay bone grafts for reconstruction of atrophic maxillary alveolar ridges: a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009; 67(6): 1300-6.
7. Barrere F, Mahmood TA, Groot K, Van Blitterswijk CA. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Mater Sci Eng.* 2008; 59(1): 38-71.
8. Block MS, Kent JN. Sinus augmentation for dental implants: the use of autogenous bone. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55(11):1281-6.
9. Boccaccini AR, Gough JE. *Tissue engineering using ceramics and polymers*. Cambridge, England: Woodhead Publishing; 2007. 624p.
10. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Mineral Res.* 2010; 25(7): 1468-6.
11. Buchardt H. The biology of bone repair. *Clin Orthop Relat Res* 1983; (174): 28-42.
12. Chen KY, Shyu PC, Dong GC, Chen YS, Kuo WW, Yao CH. Reconstruction of calvarial defect using a tricalcium phosphate-oligomeric proanthocyanidins cross-linked gelatin composite. *Biomaterials.* 2009; 30(9): 1682-8.
13. Cheng Y, Deng S, Chen P, Ruan R. Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review. *Front Chem Chin.* 2009; 4(3): 259-64.

---

\*De acordo com o manual da FOAr/UNESP, adaptadas das normas Vancouver. Disponível no site: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

14. Chun KW, Yoo HS, Yoon JJ, Park TG. Biodegradable PLGA microcarriers for injectable delivery of chondrocytes: effect of surface modification on cell attachment and function. *Biotechnol Prog.* 2004; 20(6):1797-801.
15. Crespi R, Vinci R, Cappare P, Gherlone E, Romanos GE. Calvarial versus iliac crest for autologous bone graft material for a sinus lift procedure: a histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 22(4):527-32.
16. Danoux CB, Barbieri D, Yuan H, De Bruijn JD, van Blitterswijk CA, Habibovic P. In vitro and in vivo bioactivity assessment of a polylactic acid/hydroxyapatite composite for bone regeneration. *Biomatter.* 2014; 4 (1): e27664.
17. Ding C, Qiao Z, Jiang W, Li H, Wei J, Zhou G, et al. Regeneration of a goat femoral head using a tissue-specific, biphasic scaffold fabricated with CAD/CAM technology. *Biomaterials.* 2013; 34 (28): 6706–16.
18. Duailibi MT, Duailibi SE, Young CS, Bartlett JD, Vacanti JP, Yelick PC. Bioengineered teeth from cultured rat tooth bud cells. *J Dent Res.* 2004; 83(7): 523-8.
19. Fang Z, Feng QL. Improved mechanical properties of hydroxyapatite whisker reinforced poly(L-lactic acid) scaffold by surface modification of hydroxyapatite. *Mat Sci Eng C Mater.* 2014; 35: 190–4.
20. Farahani K, Chizary K, Therriault D. Three-dimensional printing of freeform helical microstructures: a review. *Nanoscale.* 2014; 6 (18): 10470-85.
21. Fernandes KR, Magri AMP, Kido HW, Parisi JR, Assis L, Fernandes KPS, et al. Biosilicate/PLGA osteogenic effects modulated by laser therapy: In vitro and in vivo studies. *J Photochem Photobiol B.* 2017; 173(2017): 258-65.
22. Fernandes KR, Magri AMP, Kido HW, Ueno F, Assis L, Fernandes KPS, et al. Characterization and biological evaluation of the introduction of PLGA into biosilicateVR. *J Biomed Mater Res Part B.* 2017; 105 (5):1063–74.
23. Freyman TM, Yannas IV, Gibson LJ. Cellular materials as porous scaffolds for tissue engineering. *Prog Mater Sci.* 2001; 46(3): 273-82.
24. Gabbai-Armelin PR, Renno AC, Crovace MC, Magri AM, Zanotto ED, Peitl O, et al. Putty-like bone fillers based on CaP ceramics or Biosilicate® combined with carboxymethylcellulose: Characterization, optimization, and evaluation. *J Biomater Appl.* 2017; 32(2):276-88.
25. Gentile P, Chiono V, Carmagnola I, Hatton PV. An overview of poly (lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering. *Int J Mol Sci.* 2014; 15(3): 3640-59.

26. Gerressen M, Hermanns - Sachweh B, Riediger D, Hilgers RD, Spiekermann H, Ghassemi A. Purely cancellous vs. corticocancellous bone in sinus floor augmentation with autogenous iliac crest: a prospective clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20(2): 109-15.
27. Gomes P, Fernandes M. Rodent models in bone-related research: the relevance of calvarial defects in the assessment of bone regeneration strategies. *Lab Anim.* 2011; 45(1): 14- 24.
28. Granito RN, Rennó AC, Ravagnani C, Bossini PS, Mochiuti D, Jorgetti V, et al. In vivo biological performance of a novel highly bioactive glassceramic (Biosilicate®): A biomechanical and histomorphometric study in rat tibial defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011;97(1):139-47.
29. Granito RN, Ribeiro DA, Rennó AC, Ravagnani C, Bossini PS, Peitl-Filho O, et al. Effects of biosilicate and bioglass 45S5 on tibial bone consolidation on rats: a biomechanical and a histological study. *J Mater Sci Mater Med.* 2009; 20(12): 2521-6.
30. Haider A, Gupta KC, Kang IK. PLGA/nHA hybrid nanofiber scaffold as a nanocargo carrier of insulin for accelerating bone tissue regeneration. *Nanoscale Res Lett.* 2014; 9(1): 314.
31. Hallman M, Lundgren S, Sennerby L. Histologic analysis of clinical biopsies taken 6 months and 3 years after maxillary sinus floor augmentation with 80% bovine hydroxyapatite and 20% autogenous bone mixed with fibrin glue. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2001; 3(2): 87-96.
32. Hasegawa S, Tamura J, Neo M, Goto K, Shikinami Y, Saito M, et al. In vivo evaluation of a porous hydroxyapatite/poly-DL-lactide composite for use as a bone substitute. *J Biomed Mater Res A.* 2005; 75(3): 567-79.
33. Hatano N, Shimizu Y, Ooya K. A clinical long-term radiographic evaluation of graft height changes after maxillary sinus floor augmentation with a 2: 1 autogenous bone/xenograft mixture and simultaneous placement of dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2004; 15(3): 339-45.
34. Hayakawa T, Mochizuki C, Hara H, Yang F, Shen H, Wang S, et al. In vivo evaluation of composites of PLGA and apatite with two different levels of crystallinity. *J Mater Sci Mater Med.* 2010; 21(1): 251-8.
35. He S, Lin K-F, Sun Z, Song Y, Zhao Y-N, Wang Z, et al. Effects of nano-hydroxyapatite/poly (DL-lactic-co-glycolic acid) microsphere-based composite scaffolds on repair of bone defects: evaluating the role of nano-hydroxyapatite content. *Artif Organs.* 2016; 40(7):E128–E135.
36. Hench LL, Xynos ID, Polak JM. Bioactive glasses for in situ tissue regeneration. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2004; 15(4):543–62.
37. Hench LL. The story of Bioglass®. *J Mater Sci: Mater Med.* 2006; 17(11): 967-78.

38. Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg.* 1990; 1(1):60–8.
39. Hollinger JO, Onikepe AO, MacKrell J, Einhorn T, Bradica G, Lynch S, et al. Accelerated fracture healing in the geriatric, osteoporotic rat with recombinant human platelet-derived growth factor-bb and an injectable beta-tricalcium phosphate/collagen matrix. *J Orthop Res.* 2008; 26(1): 83-90.
40. Huang M-N, Wang Y-L, Luo Y-F. Biodegradable and bioactive porous polyurethanes scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Sci Eng.* 2009; 2(1): 36-40.
41. International standard organization. ISO: 10993-6. Biological evaluation of medical devices- Part 5: tests for local effects after implantation. Switzerland: ISO; 2007.
42. Ishaug SL, Yaszemski MJ, Bizios R, Mikos AG. Osteoblast function on synthetic biodegradable polymers. *J Biomed Mater Res Part A.* 1994; 28(12): 1445-53.
43. Jones JR. Review of bioactive glass: from hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2013; 9(1): 4457–86.
44. Khan Y, Yaszemski MJ, Mikos AG, Laurencin CT. Tissue engineering of bone: material and matrix considerations. *J Bone Joint Surg Am.* 2008; 90(1):36-42.
45. Kido HW, Oliveira P, Parizotto NA, Crovace MC, Zanotto ED, Peitl-Filho O, et al. Histopathological, cytotoxicity and genotoxicity evaluation of Biosilicate® glass–ceramic scaffolds. *J Biomed Mater Res Part A.* 2013; 101(3): 667–73.
46. Kido HW, Tim CR, Bossini PS, Parizotto NA, de Castro CA, Crovace MC, et al. Porous bioactive scaffolds: characterization and biological performance in a model of tibial bone defect in rats. *J Mater Sci: Mater Med.* 2015; 26(2): 74.
47. Kido HW, Brassolatti P, Tim CR, Gabbai-Armelin PR, Magri AMP, Fernandes KR, et al. Porous poly (D,L-lactide-co-glycolide) acid/Biosilicate® composite scaffolds for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res Part B.* 2017;105(1):63–71.
48. Kim SS, Kim BS. Comparison of osteogenic potential between apatite-coated poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite particulates and Bio-Oss. *Dent Mater J.* 2008; 27(7): 368–75.
49. Kim SS, Sun Park M, Jeon O, Yong Choi C, Kim B-S. Poly (lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials.* 2006; 27(8): 1399-409.
50. Kohgo T, Yamada Y, Ito K, Yajima A, Yoshimi R, Okabe K, et al. Bone regeneration with self-assembling peptide nanofiber scaffolds in tissue engineering for osseointegration of dental implants. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2010; 31(4): e9-16.
51. Kokubo T. *Bioceramics and their clinical applications.* Boca Raton: CRC Press; 2008.

52. Kwak S, Haider A, Gupta KC, Kim S, Kang IK. Micro/nano multilayered scaffolds of PLGA and collagen by alternately electrospinning for bone tissue engineering. *Nanoscale Res Lett.* 2016; 11(1): 1-16.
53. Lanao RPF, Jonker AM, Wolke JGC, Jansen JA, Van Hest JCM, Leeuwenburgh SCG. Physicochemical properties and applications of poly(lactic-co-glycolic acid) for use in bone regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2013; 19(4): 380–90.
54. Lasprilla AJR, Martinez GAR, Lunelli BH, Jardini AL, Filho RM. Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices - a review. *Biotechnol Adv.* 2012; 30(1): 321-8.
55. Lee JY, Musgrave D, Pelinkovic D, Fukushima K, Cummins J, Usas A, et al. Effect of bone morphogenetic protein-2-expressing muscle-derived cells on healing of critical-sized bone defects in mice. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83(7): 1032–9.
56. Li D, Sun H, Jiang L, Zhang K, Liu W, Zhu Y et al. Enhanced biocompatibility of PLGA nanofibers with gelatin/nano-hydroxyapatite bone biomimetics incorporation. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2014; 6(12): 9402–10.
57. Li J, Lu XL, Zheng YF. Effect of surface modified hydroxyapatite on the tensile property improvement of HA/PLA composite. *Appl Surf Sci.* 2008; 255 (2): 494–7.
58. Li X, Zhang S, Zhang X, Xie S, Zhao G, Zhang L. Biocompatibility and physicochemical characteristics of poly ( $\epsilon$ -caprolactone)/poly (lactide-co-glycolide)/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Design.* 2017; 114(2017): 149-60.
59. Li Y, Chen SK, Li L, Qin L, Wang XL, Lai YX. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *J Orthop Translat.* 2015; 3(3): 95-104.
60. Lim LT, Auras R, Rubino M. Processing technologies for poly(lactic acid). *Prog Polym Sci.* 2008; 33(8): 820–52.
61. Lu HH, Tang A, Oh SC, Spalazzi JP, Dionisio K. Compositional effects on the formation of a calcium phosphate layer and the response of osteoblast-like cells on polymer-bioactive glass composites. *Biomaterials* 2005; 26(32): 6323–34.
62. Martins CHG, Carvalho TC, Souza MGM, Ravagnani C, Peitl O, Zanotto ED, et al. Assessment of antimicrobial effect of Biosilicate against anaerobic, microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms. *J Mater Sci.* 2011; 22(6): 1439–46.
63. Matsumoto MA, Caviquioli G, Bigueti CC, de Andrade Holgado L, Saraiva PP, Rennó ACM, et al. A novel bioactive vitroc ceramic presents similar biological responses as autogenous bone grafts. *J Mater Sci: Mater Med* 2012; 23(6): 1447-56.
64. Middleton JC, Tipton AJ. Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices. *Biomaterials.* 2000; 21(23): 2335-46.

65. Misch CM. Maxillary autogenous bone grafting. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2011; 23(2): 229-38.
66. Mooney MP, Siegel MI. Animal models for bone tissue engineering. In: Wnek G, Bowlin G, editors. *Encyclopedia of Biomaterials and biomedical engineering.* New York: Marcel Dekker; 2005. p. 1–19.
67. Morelli S, Salerno S, Holopainen J, Ritala M, De Bartolo L. Osteogenic and osteoclastogenic differentiation of co-cultured cells in Polylactic acid-nanohydroxyapatite fiber scaffolds. *J Biotechnol.* 2015; 204 (2015):53–62.
68. Moura J, Teixeira LN, Ravagnani C, Peitl-Filho O, Zanotto ED, Beloti MM, et al. In vitro osteogenesis on a highly bioactive glassceramic (Biosilicate®). *J Biomed Mater Res A.* 2007; 82(3): 545-57.
69. Nazhat SN, Kellomäki M, Törmälä P, Tanner KE, Bonfield W. Dynamic mechanical characterization of biodegradable composites of hydroxyapatite and polylactides, *J. Biomed. Mater Res* 2001; 58 (4): 335–43.
70. Ogden K, Ordway N, Diallo D, Tillapaugh-Fay G, Aslan C. Dimensional accuracy of 3D printed vertebra. *Proc SPIE.* 2014; 9036: 903629. [acesso 2017 abr 25]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1117/12.2043489>.
71. Pan Z, Ding JD. Poly(lactide-co-glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Interface Focus.* 2012; 2(3). 366–77.
72. Park K, Ju YM, Son JS, Ahn KD, Han DK. Surface modification of biodegradable electrospun nanofiber scaffolds and their interaction with fibroblasts. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2007; 18(4): 369–82.
73. Pawar RP, Tekale SU, Shisodia SU, Totre JT, Domb AJ. Biomedical applications of poly(lactic acid). *Recent Pat Regen Med.* 2014; 4(1): 40–51.
74. Petricca SE, Marra KG, Kumta PN. Chemical synthesis of poly (lactico- glycolic acid)/hydroxyapatite composites for orthopaedic applications. *Acta Biomater.* 2006; 2(3): 277-86.
75. Pinto KNZ, Tim CR, Crovace MC, Matsumoto MA, Parizotto NA, Zanotto ED, et al. Effects of Biosilicate® scaffolds and low-level laser therapy on the process of bone healing. *Photomed Laser Surg.* 2013; 31(6): 252-60.
76. Precheur HV. Bone graft materials. *Dent. Clin. North Am.* 2007; 51(3): 729-46.
77. Rakmae S, Ruksakulpiwat Y, Sutapun W, Suppakarn N. Effect of silane coupling agent treated bovine bone based carbonated hydroxyapatite on in vitro degradation behavior and bioactivity of PLA composites. *Mater Sci Eng C.* 2012; 32(6): 1428–36.

78. Rana M, Warraich R, Kokemüller H, Lemound J, Essig H, Tavassol F, et al. Reconstruction of mandibular defects—clinical retrospective research over a 10-year period. *Head Neck Oncol* 2011; 3(1): 23.
79. Ravagnani C. Biosilicate for oral health promotion [Masters dissertation]. São Carlos, Brazil: Federal University; 2003.
80. Renno ACM, McDonnell PA, Crovace MC, Zanotto ED, Laakso L. Effect of 830 nm laser phototherapy on osteoblasts grown in vitro on Biosilicate® scaffolds. *Photomed Laser Surg*. 2010; 28 (1): 131–3.
81. Rogers GF, Greene AK, Mulliken JB, Proctor MR, Ridgway EB. Exchange cranioplasty using autologous calvarial particulate bone graft effectively repairs large cranial defects. *Plast Reconstr Surg*. 2011; 127(4): 1631-42.
82. Sánchez-Arévalo FM, Muñoz-Ramírez LD, Álvarez-Camacho M, Rivera-Torres F, Maciel-Cerda A, Montiel-Campos R, et al. Macro and micromechanical behaviors of poly(lactic acid)–hydroxyapatite electrospun composite scaffolds. *J Mater Sci*. 2017; 52 (6): 3353–67.
83. Santis ED, Botticelli D, Pantani F, Pereira FP, Beolchini M, Lang NP. Bone regeneration at implants placed into extraction sockets of maxillary incisors in dogs. *Clin Oral Implants Res*. 2011; 22(4): 430-7.
84. Santos D, Correia CO, Silva DM, Gomes PS, Fernandes MH, Santos JD, et al. Incorporation of glass-reinforced hydroxyapatite microparticles into poly(lactic acid) electrospun fibre mats for biomedical applications. *Mater Sci Eng C*. 2017; 75 (1): 1184–90.
85. Santos V. Avanços tecnológicos no tratamento de feridas e algumas aplicações em domicílio. In: Duarte Y, editor. *Atendimento domiciliar: um enfoque gerontológico*. São Paulo: Atheneu; 2000. p. 265-306.
86. Sbordone L, Toti P, Menchini-Fabris G, Sbordone C, Guidetti F. Implant success in sinus-lifted maxillae and native bone: a 3-year clinical and computerized tomographic follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; 24(2): 316-24.
87. Senatov FS, Niaza KV, Zadorozhnyy MY, Maksimkin AV, Kaloshkin SD, Estrin YZ. Mechanical properties and shape memory effect of 3D-printed PLA-based porous scaffolds. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016; 57: 139–48.
88. Shen L, Yang H, Ying J, Qiao F, Peng M. Preparation and mechanical properties of carbon fiber reinforced hydroxyapatite/polylactide biocomposites. *J Mater Sci Mater Med*. 2009; 20 (11): 2259–65.
89. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomaxillofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res*. 1986; (205): 299-308.

90. Shikinami Y, Matsusue Y, Nakamura T. The complete process of bioresorption and bone replacement using devices made of forged composites of raw hydroxyapatite particles/poly L-lactide (Fu-HA/PLLA). *Biomaterials*. 2005; 26(27): 5542-51.
91. Shikinami Y, Okuno M. Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): part I. Basic characteristics. *Biomaterials*. 1999; 20(9): 859-77.
92. Shirakata Y, Nakamura T, Shinohara Y, Taniyama K, Sakoda K, Yoshimoto T, et al. An exploratory study on the efficacy of rat dedifferentiated fat cells (rDFATs) with a poly lactic-co-glycolic acid/hydroxylapatite (PLGA/HA) composite for bone formation in a rat calvarial defect model. *J Mater Sci Mater Med*. 2014; 25(3): 899–908.
93. Shuai CJ, Yang B, Peng SP, Li Z. Development of composite porous scaffolds based on poly(lactide-co-glycolide)/nano-hydroxyapatite via selective laser sintering. *Int J Adv Manuf Technol*. 2013; 69(1-4): 51–7.
94. Silva ARDS, Ribeiro ACP, Salzedas LMP, Soubhia AMP, Sundefeld MLMM. Análise da densidade óssea radiográfica de ratos submetidos ao alcoolismo crônico utilizando imagem digital. *Rev Odonto Ciênc*. 2007; 22(55): 77-81.
95. Talal A, Waheed N, Al-Masri M, McKay IJ, Tanner KE, Hughes FJ. Absorption and release of protein from hydroxyapatite-polylactic acid (HA-PLA) membranes. *J Dent*. 2009; 37 (11): 820–6.
96. Tanodekaew S, Channasanon S, Kaewkong P, Uppanan P. PLA-HA scaffolds: preparation and bioactivity. *Procedia Eng*. 2013; 59 (2013): 144 – 9.
97. Thanh DTM, Trang PTT, Huong HT, Nam PT, Phuong NT, Trang NTT, et al. Fabrication of poly (lactic acid)/hydroxyapatite (PLA/HAp) porous nanocomposite for bone regeneration. *Int J Nanotechnol*. 2015; 12(5-7): 391–404.
98. Tirapelli C, Panzeri H, Lara EHG, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. *J Oral Rehabil*. 2011; 38(4): 253–62.
99. Villalobos CFE, Velasquillo MC, Martínez LV, Lecona BH, Reyes MB, Estrada VE, et al. Results of the experimental repair of osteochondral lesions in a pig model using tissue engineering. *Acta Ortop Mex*. 2007; 21(4): 217-23.
100. Vink ETH, Davies S. Life cycle inventory and impact assessment data for 2014 Ingeo™ Polylactide Production. *Ind Biotechnol*. 2015; 11(3): 167–80.
101. Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Tissue engineering: the next generation. *Tissue Eng*. 2006; 12(12): 3261-3.
102. Wan DC, Nacamuli RP, Longaker MT. Craniofacial bone tissue engineering. *Dent Clin North Am*. 2006; 50(2): 175-90.



103. Wang DX, He Y, Bi L, Qu Z-H, Zou J-W, Pan Z, et al. Enhancing the bioactivity of Poly(lactic-co-glycolic acid) scaffold with a nanohydroxyapatite coating for the treatment of segmental bone defect in a rabbit model. *Int J Nanomed* 2013;8:1855–65.
104. Wang M, Favi P, Cheng X, Golshan NH, Ziemer KS, Keidar M, Webster TJ. Cold atmospheric plasma (CAP) surface nanomodified 3D printed polylactic acid (PLA) scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomater*. 2016; 46 (2016) 256–65.
105. Wang ZY, Zhao YM, Wang F, Wang J. Syntheses of poly(lactic acid-co-glycolic acid) serial biodegradable polymer materials via direct melt polycondensation and their characterization. *J Appl Polym Sci*. 2006; 99 (1): 244–52.
106. Watanabe T, Ban S, Ito T, Tsuruta S, Kawai T, Nakamura H. Biocompatibility of composite membrane consisting of oriented needle-like apatite and biodegradable copolymer with soft and hard tissues in rats. *Dent Mater J*. 2004; 23(4): 609-12.
107. Wei G, Ma PX. Structure and properties of nanohydroxyapatite/ polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2004; 25(19): 4749-57.
108. Weizbauer A, Kieke M, Rahim MI, Angrisani GL, Willbold E, Diekmann J, et al. Magnesium-containing layered double hydroxides as orthopaedic implant coating materials: an in vitro and in vivo study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016;104(3):525-31.
109. Weng Y, Cao Y, Arevalo C, Vacanti MP, Vacanti CA. Tissueengineered composites of bone and cartilage for mandible condylar reconstruction. *J Oral Max Surg*. 2001; 59(2): 185-90.
110. Williams DF. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*. 2009; 30(30): 5897-909.
111. Xiong Z, Yan Y, Wang S, Zhang R, Zhang C. Fabrication of porous scaffolds for bone tissue engineering via low-temperature deposition. *Scr Mater*. 2002; 46 (11): 771–6.
112. Xu C, Su P, Chen X, Meng Y, Yu W, Xiang AP, et al. Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic Bioglass-Collagen-Phosphatidylserine composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 2011; 32(4): 1051-8.
113. Yan Y, Wang X, Pan Y, Liu H, Cheng J, Xiong Z, et al. Fabrication of viable tissueengineered constructs with 3D cell-assembly technique. *Biomaterials*. 2005; 26 (29): 5864–71.
114. Yan Y, Xiong Z, Hu Y, Wang S, Zhang R, Zhang C. Layered manufacturing of tissue engineering scaffolds via multi-nozzle deposition. *Mater Lett*. 2003; 57 (18): 2623–8.
115. Zanotto ED, Ravagnani C, Peitl O, Panzeri H, Lara EHG, inventores; Fundação Universidade Federal de São Carlos, depositante. Process and compositions for preparing particulate, bioactive or resorbable biosilicates for use in the treatment of oral ailments. Unites Satets patent US 20060251737 A1, 2006 nov 9.
116. Zanotto ED. Bright future for glass-ceramics. *Am Ceram Soc Bull*. 2010; 89(8): 19–27.

117. Zhang P, Wu H, Lu Z, Deng C, Hong Z, Jing X, et al. Rgd-conjugated copolymer incorporated into composite of poly(lactide-co-glycolide) and poly(L-lactide)-grafted nanohydroxyapatite for bone tissue engineering. *Biomacromolecules*. 2011; 12(7): 2667–80.
118. Zhou SB, Deng XM, Li XH, Jia WX, Liu L. Synthesis and characterization of biodegradable low molecular weight aliphatic polyesters and their use in protein-delivery systems. *J Appl Polym Sci*. 2004; 91(3): 1848–56.