

RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 26/02/2026.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

LETÍCIA ADRIELLY DIAS GRISANTE

**HIDROGEL 3D INCORPORADO COM BIOVIDRO PARA SISTEMA
DRUG DELIVERY: caracterização e estudo *in vitro***

LETÍCIA ADRIELLY DIAS GRISANTE

**HIDROGEL 3D INCORPORADO COM BIOVIDRO PARA SISTEMA *DRUG*
DELIVERY: caracterização e estudo *in vitro***

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Patologia. Linha de pesquisa: Desenvolvimento de biomateriais em saúde bucal.

Orientadora: Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Moreira Bastos Campos

São José dos Campos

2024

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2024]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Grisante, Letícia Adrielly Dias

Hidrogel 3D incorporado com biovidro para sistema drug delivery: caracterização e estudo in vitro / Letícia Adrielly Dias Grisante. - São José dos Campos : [s.n.], 2024.
83 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2024.

Orientadora: Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Coorientador: Thiago Moreira Bastos Campos

1. Drug delivery. 2. Hidrogel. 3. Impressão 3D. 4. Estrôncio. 5. Osteogênese. I. Vasconcellos, Luana Marotta Reis de, orient. II. Campos, Thiago Moreira Bastos, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Com o aumento das enfermidades que afetam o sistema musculoesquelético, a regeneração óssea se tornou um desafio clínico em casos de lesões ou doenças ósseas. Diante do avanço tecnológico e dos tratamentos disponíveis, os biomateriais emergem como aliados essenciais no tratamento dessas lesões, proporcionando suporte estrutural e condições aprimoradas para a regeneração do tecido comprometido. Nesta pesquisa, exploramos a produção de hidrogéis à base de alginato de sódio, incorporados com vidro bioativo em um sistema de liberação controlada de medicamentos, que foram posteriormente impressos em 3D. Avaliamos o comportamento desses materiais *in vitro*, com o objetivo de otimizar o processo de osteogênese e futuramente do reparo ósseo. A metodologia adotada segue o Nível de Maturidade Tecnológica (TRL/MRL), e os resultados obtidos destacam a relevância do estudo e produção desses novos biomateriais. Os hidrogéis impressos demonstraram a necessidade de investigações mais aprofundadas, fornecendo informações cruciais sobre a biocompatibilidade e o potencial osteogênico e reparador desses materiais. Essa pesquisa não apenas contribui para a expansão do conhecimento científico, mas também abre caminho para investigações clínicas mais aprofundadas sobre esses biomateriais inovadores. Essa pesquisa está relacionada com a área 3 da ODS.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

With the increase in diseases affecting the musculoskeletal system, bone regeneration has become a clinical challenge in cases of bone injuries or diseases. In the face of technological advances and available treatments, biomaterials are emerging as essential allies in the treatment of these injuries, providing structural support and enhanced conditions for the regeneration of compromised tissue. In this research, we explore the production of sodium alginate-based hydrogels incorporated with bioactive glass in a controlled drug delivery system, which were subsequently 3D printed. We assessed the behavior of these materials in vitro, aiming to optimize the bone repair process. The adopted methodology follows the Technology Readiness Level/Maturity Readiness Level (TRL/MRL), and the obtained results underscore the relevance of studying and producing these novel biomaterials. The printed hydrogels have demonstrated the need for more in-depth investigations,

providing crucial insights into the biocompatibility and osteogenic/repair potential of these materials. This research not only contributes to the expansion of scientific knowledge but also paves the way for more in-depth clinical investigations into these innovative biomaterials. This research is related to SDG 3.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Prof. Assoc. Alexandre Luiz Souto Borges

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Profa. Dra. Dayane Batista Tada

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

São José dos Campos

São José dos Campos, 26 de Fevereiro de 2024.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar presente comigo em todos os momentos, me dando forças e guiando meu caminho, sustentando meu lar e atendendo minhas orações.

À minha família, por sempre me apoiar em todas as decisões, me incentivando a continuar estudando e me ajudando a crescer pessoal e profissionalmente.

Ao meu pai, Antônio Carlos da Cruz, que durante toda sua vida se esforçou para me ver bem, sempre me apoiou e se mostrou ser um pai amoroso, fazendo do meu sonho profissional, o dele também. Sentirei saudades pelo restante de minha vida, meu amor e gratidão serão eternos.

Ao meu marido Lucas, por abraçar essa caminhada comigo, sempre me incentivando, se alegrando comigo a cada novo passo, e me acolhendo nos momentos de dificuldades. Você foi minha melhor escolha, obrigada por ser meu melhor amigo e marido.

À minha mãe Francisca, que sempre esteve torcendo por mim e desejando o meu melhor, me ajudando em toda minha caminhada. Obrigada por ser uma mãe tão presente e atenciosa.

Aos meus irmãos Leandro e Maickon, que sempre me ouviram e estiveram de braços abertos para abraçar junto comigo essa trajetória.

À minha orientadora, professora Luana. Muito mais que uma orientadora, sempre nos ensinando com paciência e carinho, não tenho palavras para expressar minha gratidão.

Ao meu Co-orientador Professor Thiago Campos, pela imensa parceria, interesse e dedicação ao projeto.

Às minhas companheiras de projeto Marília e Juliani, que sempre se mostraram atenciosas para ensinar e dar risadas no decorrer do mestrado.

Ào nosso grupo do mestrado, Marília, Adriane, Thais, Gieyse, Nathália e Mateus, que tornou a caminhada mais leve.

Ao pessoal do LEIC e da equipe da professora Luana, meus agradecimentos por todo aprendizado e companheirismo.

Aos docentes do ICT UNESP, em especial a professora Marianne Sppalding por todos esses anos de histologia, por sempre ser amável e paciente; e também ao professor Alexandre Borges, por acreditar no meu potencial e ensinar tanto sobre esse projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa durante o período de agosto/2023 – fevereiro/2024.

“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.”

Paulo Freire

RESUMO

Grisante LAD. Hidrogel 3D incorporado com biovidro para sistema *drug delivery*: caracterização e estudo *in vitro* [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2024.

Atualmente há diversos tratamentos para a osteoporose, porém a maioria deles pode corroborar com o surgimento de outras complicações sistêmicas, para isso é de suma importância o desenvolvimento de terapias locais, visando diminuir ou eliminar os efeitos colaterais causados por medicamentos de uso oral. O objetivo nesse projeto foi avaliar a influência de hidrogéis, com sistema *drug delivery*, incorporados com partículas de vidro bioativo funcionalizadas com diferentes medicamentos, na osteogênese *in vitro*. Partículas de vidro bioativo foram sintetizadas e caracterizadas. Em seguida, foram funcionalizadas com os fármacos raloxifeno e ranelato de estrôncio usando a técnica sonoquímica. Hidrogéis de alginato foram sintetizados e incorporados com as partículas funcionalizadas usando impressão 3D em dimensões específicas. Os hidrogéis foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, análise de intumescimento e molhabilidade. Em testes *in vitro*, os hidrogéis foram cortados em medidas menores e usados para culturas de células para avaliar a atividade e diferenciação celular para osteogênese. Células mesenquimais foram isoladas de ratas ovariectomizadas, diferenciadas em osteoblastos e co-cultivadas com os hidrogéis. Viabilidade celular, conteúdo de proteína total, atividade de fosfatase alcalina, morfologia celular e formação de nódulos de mineralização foram analisados em intervalos de tempo definidos. Os dados quantitativos foram submetidos aos testes estatísticos de normalidade Kolmogorov-Smirnov, seguidos pelo teste não paramétrico Kruskal Wallis e teste múltiplo de Dunn, com nível de significância de 5%. A caracterização morfológica e físico-química evidenciou o sucesso da referida metodologia em confeccionar o novo biomaterial. Nos testes *in vitro*, todos os grupos de hidrogéis impressos 3D não se mostraram citotóxicos e permitiram a diferenciação celular. A atividade de fosfatase alcalina não apresentou diferença entre os grupos. Por meio da análise da morfologia celular por fluorescência direta foi possível observar que em todos os grupos com exceção ao HBRx as células exibiam morfologia poligonal de forma íntegra, todos os grupos apresentaram células aderidas na superfície dos materiais, sendo que a maior quantidade de células foi observada no grupo hidrogel com vidro bioativo incorporado com ranelato de estrôncio. Na análise da formação de nódulos de mineralização, todos os grupos apresentaram a formação dos nódulos, exceto o grupo HBRx. Os resultados evidenciaram sucesso na produção de todos os novos biomateriais, HP, HB HBRx e HBSr tanto na síntese quanto na impressão 3D, conforme verificado nos testes de MEV, EDS e Raman, enquanto nos testes *in vitro* os grupos com vidro bioativo, em sua maioria, apresentaram resultados positivos para o uso na engenharia tecidual. De modo geral hidrogéis impresso 3D com vidro bioativo sem fármaco (HB) e incorporado com fármaco ranelato de estrôncio (HBSr) são os biomateriais que se mostraram mais promissores em comparação aos demais grupos.

Palavras chave: *drug delivery*; hidrogel; impressão 3D; osteogênese; raloxifeno; estrôncio.

ABSTRACT

Grisante LAD. 3D Hydrogel Incorporated with Bioactive Glass and Drug Delivery System: Characterization and In Vitro Study [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2024.

Currently, there are several treatments for osteoporosis; however, most of them can lead to the emergence of other systemic complications. Therefore, it is of utmost importance to develop local therapies aiming to reduce or eliminate the side effects caused by orally administered medications. The objective of this project was to evaluate the influence of hydrogels with drug delivery systems incorporated with bioactive glass particles functionalized with different drugs on in vitro osteogenesis. Bioactive glass particles were synthesized and characterized. Subsequently, they were functionalized with the drugs raloxifene and strontium ranelate using sonochemical technique. Alginate hydrogels were synthesized and incorporated with the functionalized particles using 3D printing in specific dimensions. The hydrogels were characterized by scanning electron microscopy, swelling analysis, and wettability assessment. In in vitro tests, the hydrogels were cut into smaller sizes and used for cell cultures to assess cell activity and differentiation for osteogenesis. Mesenchymal cells were isolated from ovariectomized rats, differentiated into osteoblasts, and co-cultured with the hydrogels. Cell viability, total protein content, alkaline phosphatase activity, cellular morphology, and mineralization nodule formation were analyzed at defined time intervals. Quantitative data were subjected to Kolmogorov-Smirnov normality tests, followed by non-parametric Kruskal-Wallis and multiple Dunn tests, with a significance level of 5%. The morphological and physicochemical characterization demonstrated the success of the methodology in fabricating the new biomaterial. In the in vitro tests, all groups of 3D-printed hydrogels were non-cytotoxic and allowed cell differentiation. Alkaline phosphatase activity showed no difference among the groups. Through direct fluorescence-based cellular morphology analysis, it was observed that cells in all groups except HBRx exhibited intact polygonal morphology, with cells adhering to the material surfaces in all groups. The highest quantity of cells was observed in the hydrogel group incorporating bioactive glass with strontium ranelate. In the mineralization nodule formation analysis, all groups showed nodule formation except for the HBRx group. The results demonstrated successful production of all new biomaterials (HP, HB, HBRx, and HBSr) in both synthesis and 3D printing, as verified by SEM, EDS, and Raman tests. Meanwhile, in vitro testing showed that groups with bioactive glass mostly exhibited positive results for tissue engineering purposes. Overall, 3D-printed hydrogels with bioactive glass without drugs (HB) and incorporated with strontium ranelate (HBSr) proved to be the most promising biomaterials compared to the other groups.

Keywords: drug delivery; hydrogel; 3D printing; osteogenesis; raloxifene; strontium.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALP	Fosfatase alcalina
BIOCERAM	Laboratório de Biocerâmicas
BG	Bioactive glass
CEUA	Comitê de Ética em Pesquisa em Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Experimentação Animal
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier
H	Hidrogel
ICT	Instituto de Ciência e Tecnologia
ITA	Instituto Tecnológico de Aeronáutica
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MSCs	Mesenquimais
PT	Proteína total
Rx	Raloxifeno
SFB	Soro Fetal Bovino
Sr	Ranelato de Estrôncio (Strontium Ranelate)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3 PREPOSIÇÃO.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Síntese do vidro bioativo 45S5.....	25
4.2 Caracterização do vidro bioativo antes da funcionalização	26
4.2.1 Difração de raios-X.....	26
4.2.2 Espectroscopia de Raman.....	26
4.2.3 Difração a laser	27
4.3 Funcionalização do vidro bioativo com os medicamentos de escolha	27
4.3.1 Caracterização do vidro bioativo após funcionalização	31
4.3.2 Síntese do hidrogel	32
4.3.3 Caracterização dos hidrogéis.....	37
4.4 Experimentos <i>in vitro</i> para validação dos hidrogéis.....	39
4.4.1 Comitê de Ética.....	39
4.4.2 Isolamento e cultura de células mesenquimais e análise da diferenciação celular	39
4.4.3 Determinação da viabilidade celular por Alamar Blue®.....	43
4.4.3.1 Análise do conteúdo de proteína total.....	44
4.4.3.2 Atividade da fosfatase alcalina (ALP)	44
4.4.3.3 Análise da morfologia celular por fluorescência direta	45
4.4.3.4 Análise da formação de nódulos de mineralização.....	45
5 RESULTADOS.....	46
5.1 Vidro bioativo 45S5	46
5.2 Caracterização do vidro bioativo antes da funcionalização	46
5.2.1 Difração de raios-X.....	46
5.2.2 Espectroscopia de Raman.....	47

5.2.3 Difração a laser	49
5.3 Caracterização do vidro bioativo após funcionalização	50
5.4 Caracterização dos hidrogéis.....	55
5.5 Experimentos <i>in vitro</i> para validação dos hidrogéis.....	60
5.5.1 Determinação da viabilidade celular.....	60
5.5.2 Análise do conteúdo de proteína total.....	61
5.5.3 Atividade de fosfatase alcalina (ALP)	62
5.5.4 Análise da morfologia celular por fluorescência direta	63
5.5.5 Análise da formação de nódulos de mineralização.....	65
6 DISCUSSÃO	67
7 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS.....	75
ANEXO.....	83

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicaram por meio das análises de caracterização e testes *in vitro* que o hidrogel impresso 3D incorporado ou não com vidro bioativo e os fármacos raloxifeno e ranelato de estrôncio são promissores, uma vez que não foram citotóxicos e permitiram a diferenciação celular. Em relação à síntese do material, foi observado o sucesso nos grupos HP, HB HBRx e HBSr na produção e impressão, confirmado pelos testes MEV, EDS e Raman.

A incorporação do vidro bioativo no hidrogel se mostrou benéfica, apresentando melhores resultados ao comparar com o hidrogel sem o vidro bioativo, nos testes de fluorescência e de viabilidade celular.

Comparando todos os grupos, incorporados ou não com vidro bioativo com ou sem a presença dos fármacos, todos os grupos apresentaram resultados adequados, com exceção ao HBRx. Com isso, tem-se que os hidrogéis impresso 3D com vidro bioativo sem fármaco (HB) e incorporado com fármaco ranelato de estrôncio (HBSr) são os biomateriais que se mostraram mais promissores em comparação aos demais grupos, e podem trazer grandes impactos para a medicina regenerativa, principalmente na regeneração óssea.

REFERÊNCIAS

- Acciaretto F, Vesentini S, Cipolla L. Fabrication Strategies Towards Hydrogels for Biomedical Application: Chemical and Mechanical Insights. *Chem Asian J.* 2022 Nov 16;17(22):e202200797. doi: 10.1002/asia.202200797.
- Adepu S, Ramakrishna S. Controlled Drug Delivery Systems: Current Status and Future Directions. *Molecules.* 2021 Sep 29;26(19):5905. doi: 10.3390/molecules26195905.
- Alacid Y, Martínez-Tomé MJ, Esquembre R, Herrero MA, Mateo CR. Portable Alkaline Phosphatase-Hydrogel Platform: From Enzyme Characterization to Phosphate Sensing. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 31;24(3):2672. doi: 10.3390/ijms24032672.
- Amiri M, Khazaeli P, Salehabadi A, Salavati-Niasari M. Hydrogel beads-based nanocomposites in novel drug delivery platforms: Recent trends and developments. *Adv Colloid Interface Sci.* 2021 Feb; 288:102316. doi: 10.1016/j.cis.2020.102316.
- Anthamatten A, Parish A. Clinical Update on Osteoporosis. *J Midwifery Womens Health.* 2019 May;64(3):265-275. doi: 10.1111/jmwh.12954.
- Baracaldo-Santamaría D, Trujillo-Moreno MJ, Pérez-Acosta AM, Feliciano-Alfonso JE, Calderon-Ospina CA, Soler F. Definition of self-medication: a scoping review. *Ther Adv Drug Saf.* 2022 Oct 5;13:20420986221127501. doi: 10.1177/20420986221127501.
- Bertsch P, Diba M, Mooney DJ, Leeuwenburgh SCG. Self-Healing Injectable Hydrogels for Tissue Regeneration. *Chem Rev.* 2023 Jan 25;123(2):834-873. doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00179.
- Bolland MJ, Grey A. A comparison of adverse event and fracture efficacy data for strontium ranelate in regulatory documents and the publication record. *BMJ Open.* 2014 Oct 7;4(10):e005787. doi: 10.1136/bmjopen-2014-005787.
- Cao H, Duan L, Zhang Y, Cao J, Zhang K. Current hydrogel advances in physicochemical and biological response-driven biomedical application diversity. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Dec 16;6(1):426. doi: 10.1038/s41392-021-00830-x.
- Chang CC, Lee WS, Chuang CL, Hsin IF, Hsu SJ, Chang T et al. Effects of raloxifene on portal hypertension and hepatic encephalopathy in cirrhotic rats. *Eur J Pharmacol.* 2017 May 5;802:36-43. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.02.039.
- Chen CH, Wang L, Serdar TU, Arioka M, Moghim MM, Salmon B et al. An osteopenic/osteoporotic phenotype delays alveolar bone repair. *Bone.* 2018 Jul;112:212-219. doi: 10.1016/j.bone.2018.04.019.

Chen P, Cheng H, Tian J, Pan H, Chen S, Ye X et al. Photo-crosslinking modified sodium alginate hydrogel for targeting delivery potential by NO response. *Int J Biol Macromol*. 2023 Dec 31;253(Pt 6):126454. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126454.

Chen Y, Pal S, Hu Q. Recent advances in biomaterial-assisted cell therapy. *J Mater Chem B*. 2022 Sep 28;10(37):7222-7238. doi: 10.1039/d2tb00583b.

Clemett D, Spencer CM. Raloxifene: a review of its use in postmenopausal osteoporosis. *Drugs*. 2000 Aug;60(2):379-411. doi: 10.2165/00003495-200060020-00013.

Compston J. Strontium ranelate lives to fight another day. *Maturitas*. 2014 Jun;78(2):75-6. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.03.011.

Costa S, Fairfield H, Reagan MR. Inverse correlation between trabecular bone volume and bone marrow adipose tissue in rats treated with osteoanabolic agents. *Bone*. 2019 Jun;123:211-223. doi: 10.1016/j.bone.2019.03.038.

Cottrill E, Pennington Z, Lankipalle N, Ehresman J, Valencia C, Schilling A et al. The effect of bioactive glasses on spinal fusion: A cross-disciplinary systematic review and meta-analysis of the preclinical and clinical data. *J Clin Neurosci*. 2020 Aug;78:34-46. doi: 10.1016/j.jocn.2020.04.035.

D'Amelio P, Isaia GC. The use of raloxifene in osteoporosis treatment. *Expert Opin Pharmacother*. 2013 May;14(7):949-56. doi: 10.1517/14656566.2013.782002.

Deeks ED, Dhillon S. Strontium ranelate: a review of its use in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Drugs*. 2010 Apr 16;70(6):733-59. doi: 10.2165/10481900-000000000-00000.

Doyle EC, Wragg NM, Wilson SL. Intraarticular injection of bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhances regeneration in knee osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2020 Dec;28(12):3827-3842. doi: 10.1007/s00167-020-05859-z.

El-Rashidy AA, Roether JA, Harhaus L, Kneser U, Boccaccini AR. Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models. *Acta Biomater*. 2017 Oct 15;62:1-28. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.030. Epub 2017 Aug 24.

Faasse K, Petrie KJ. The nocebo effect: patient expectations and medication side effects. *Postgrad Med J*. 2013 Sep;89(1055):540-6. doi: 10.1136/postgradmedj-2012-131730.

Fernández-Lizárraga M, García-López J, Rodil SE, Ribas-Aparicio RM, Silva-Bermudez P. Evaluation of the Biocompatibility and Osteogenic Properties of Metal Oxide Coatings Applied by Magnetron Sputtering as Potential Biofunctional Surface Modifications for Orthopedic Implants. *Materials (Basel)*. 2022 Jul 29;15(15):5240. doi: 10.3390/ma15155240.

França K, Lotti T. The history of medicine : Challenges and successes. *Wien Med Wochenschr.* 2017 Oct;167(Suppl 1):1. doi: 10.1007/s10354-017-0596-9.

Galante R, Redigueri CF, Kikuchi IS, Vasquez PA, Colaço R, Serro AP et al. About the Sterilization of Chitosan Hydrogel Nanoparticles. *PLoS One.* 2016 Dec 21;11(12):e0168862. doi: 10.1371/journal.pone.0168862.

Gao W, Zhang Y, Zhang Q, Zhang L. Nanoparticle-Hydrogel: A Hybrid Biomaterial System for Localized Drug Delivery. *Ann Biomed Eng.* 2016 Jun; 44(6):2049-61. Dóí: 10.1007/s10439-016-1583-9.

García-Perdomo HA, Jurado-Penagos A. Application of regenerative medicine and 3d bioprinting in urology. *Actas Urol Esp (Engl Ed).* 2022 Jul-Aug;46(6):323-328. English, Spanish. doi: 10.1016/j.acuroe.2022.03.006.

Gizzo S, Saccardi C, Patrelli TS, Berretta R, Capobianco G, Di Gangi S et al. Update on raloxifene: mechanism of action, clinical efficacy, adverse effects, and contraindications. *Obstet Gynecol Surv.* 2013 Jun;68(6):467-81. doi: 10.1097/OGX.0b013e31828baef9.

Gu X, Carroll Turpin MA, Romero-Ortega MI. Biomaterials and Regenerative Medicine in Pain Management. *Curr Pain Headache Rep.* 2022 Jul;26(7):533-541. doi: 10.1007/s11916-022-01055-5.

Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Dec;1092:385-96. doi: 10.1196/annals.1365.035.

Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006 Nov;17(11):967-78. doi: 10.1007/s10856-006-0432-z.

Ho TC, Chang CC, Chan HP, Chung TW, Shu CW, Chuang KP et al. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules.* 2022 May 2;27(9):2902. doi: 10.3390/molecules27092902.

Hu X, Xia Z, Cai K. Recent advances in 3D hydrogel culture systems for mesenchymal stem cell-based therapy and cell behavior regulation. *J Mater Chem B.* 2022 Mar 9;10(10):1486-1507. doi: 10.1039/d1tb02537f.

Inada M, Miyaura C. Cytokines in bone diseases. Cytokine and postmenopausal osteoporosis. *Clin Calcium.* 2010 Oct;20(10):1467-72. Japanese.

Klein-Nulend J, Oers RF, Bakker AD, Bacabac RG. Bone cell mechanosensitivity, estrogen deficiency, and osteoporosis. *J Biomech.* 2015 Mar 18;48(5):855-65. doi: 10.1016/j.jbiomech.2014.12.007.

Kaimonov MR, Safronova TV. Materials in the Na₂O-CaO-SiO₂-P₂O₅ System for Medical Applications. *Materials (Basel).* 2023 Aug 31;16(17):5981. doi: 10.3390/ma16175981.

Kajtez J, Nilsson F, Fiorenzano A, Parmar M, Emnéus J. 3D biomaterial models of human brain disease. *Neurochem Int.* 2021 Jul;147:105043. doi: 10.1016/j.neuint.2021.105043.

Kayath MJ, Marcia J. Raloxifeno e osteoporose: revisão de um novo modulador seletivo do receptor de estrógeno. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.* 1999, v. 43, n. 6, pp. 433-441. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-27301999000600008>.

Khan MUA, Razak SIA, Haider S, Mannan HA, Hussain J, Hasan A. Sodium alginate-f-GO composite hydrogels for tissue regeneration and antitumor applications. *Int J Biol Macromol.* 2022 May 31;208:475-485. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.091.

Khayambashi P, Iyer J, Pillai S, Upadhyay A, Zhang Y, Tran SD. Hydrogel Encapsulation of Mesenchymal Stem Cells and Their Derived Exosomes for Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 12;22(2):684. doi: 10.3390/ijms22020684.

Kitaura H, Marahleh A, Ohori F, Noguchi T, Shen WR, Qi J et al. Osteocyte-Related Cytokines Regulate Osteoclast Formation and Bone Resorption. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 21;21(14):5169. doi: 10.3390/ijms21145169.

Ko NY, Chen LR, Chen KH. The Role of Micro RNA and Long-Non-Coding RNA in Osteoporosis. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 10;21(14):4886. doi: 10.3390/ijms21144886.

Kołodziejaska B, Stępień N, Kolmas J. The Influence of Strontium on Bone Tissue Metabolism and Its Application in Osteoporosis Treatment. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 18;22(12):6564. doi: 10.3390/ijms22126564.

Lamo-Espinosa JM, Prósper F, Blanco JF, Sánchez-Guijo F, Alberca M, García V et al. Long-term efficacy of autologous bone marrow mesenchymal stromal cells for treatment of knee osteoarthritis. *J Transl Med.* 2021 Dec 11;19(1):506. doi: 10.1186/s12967-021-03160-2.

Li Q, Yu H, Zhao F, Cao C, Wu T, Fan Y et al. 3D Printing of Microenvironment-Specific Bioinspired and Exosome-Reinforced Hydrogel Scaffolds for Efficient Cartilage and Subchondral Bone Regeneration. *Adv Sci (Weinh).* 2023 Sep;10(26):e2303650. doi: 10.1002/advs.202303650.

Linero IM, Doncel A, Chaparro O. Proliferación y diferenciación osteogénica de células madre mesenquimales en hidrogeles de plasma sanguíneo humano. *Biomedica.* 2014 Jan-Mar;34(1):67-78. Spanish. doi: 10.1590/S0120-41572014000100010.

Lisboa-Filho PN, Gomes-Ferreira PHS, Batista FRS, Momesso GAC, Faverani LP, Okamoto R. Bone repair with raloxifene and bioglass nanoceramic composite in animal experiment. *Connect Tissue Res.* 2018 Dec;59(sup1):97-101. doi: 10.1080/03008207.2018.1430143.

Maia M, Klein ES, Monje TV, Pagliosa C. Reconstrução da estrutura facial por

biomateriais: revisão de literatura. Rev Bras Cir Plást [Internet]. 2010 Jul;25(3):566–72. doi: <https://doi.org/10.1590/S1983-51752010000300029>.

Marin E, Boschetto F, Pezzotti G. Biomaterials and biocompatibility: an historical overview. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2020. doi:10.1002/jbm.a.36930.

Martiniakova M, Babikova M, Omelka R. Pharmacological agents and natural compounds: available treatments for osteoporosis. J Physiol Pharmacol. 2020 Jun;71(3). doi: 10.26402/jpp.2020.3.01.

Miranda TS, Napimoga MH, De Franco L, Marins LM, Malta FS, Pontes LA et al. Strontium ranelate improves alveolar bone healing in estrogen-deficient rats. J Periodontol. 2020 Nov;91(11):1465-1474. doi: 10.1002/JPER.19-0561.

Mistura DV. Síntese e Caracterização de uma Classe de Hidrogéis Injetáveis, Termossensíveis e Biodegradáveis como Substrato para Diferenciação Celular. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, p. 154, 2018.

Mizuno HL, Tan E, Anraku Y, Sakai T, Sakuma I, Akagi Y. Relationship between Bulk Physicochemical Properties and Surface Wettability of Hydrogels with Homogeneous Network Structure. Langmuir. 2020 May 26;36(20):5554-5562. doi: 10.1021/acs.langmuir.0c00694.

Mohammad N, Bahareh N, Donald WM. Injectable hydrogel-based drug delivery systems for local cancer therapy. Drug Discovery Today, Volume 21, Issue 11, 2016, Pages 1835-1849. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.07.006>.

Mohammadi M. The global prevalence of osteoporosis in the world: a comprehensive systematic review and meta-analysis. J Orthop Surg Res. 2021 Oct 17;16(1):609. doi: 10.1186/s13018-021-02772-0.

Seeman E. Raloxifene. J Bone Miner Metab. 2001;19(2):65-75. doi: 10.1007/s007740170043.

Mohanto S, Narayana S, Merai KP, Kumar JA, Bhunia A, Hani U et al. Advancements in gelatin-based hydrogel systems for biomedical applications: A state-of-the-art review. Int J Biol Macromol. 2023 Dec 31;253(Pt 5):127143. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127143.

Montané E, Santesmases J. Adverse drug reactions. Med Clin (Barc). 2020 Mar 13;154(5):178-184. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2019.08.007.

Murab S, Gupta A, Włodarczyk-Biegun MK, Kumar A, van Rijn P, Whitlock P et al. Alginate based hydrogel inks for 3D bioprinting of engineered orthopedic tissues. Carbohydr Polym. 2022 Nov 15;296:119964. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119964.

Nascimento T, Valo M, Silva A, Cruz S, Gondim B, Mondelli R et al. Current Applications of Biopolymer-based Scaffolds and Nanofibers as Drug Delivery

Systems. *Current Pharmaceutical Design*, Volume 25, Issue 37, Page[3997-4012], 2019. DOI: 10.2174/1381612825666191108162948.

Neubern M. Psychotherapy, pain and complexity: building the therapeutic context. *Psic. Teor. e Pesq.* 26 (3). 2010 Set. <https://doi.org/10.1590/S0102-37722010000300014>.

Nii T, Katayama Y. Biomaterial-Assisted Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 2021 Aug 12;22(16):8657. doi: 10.3390/ijms22168657.

Norouzi M, Nazari B, Miller DW. Injectable hydrogel-based drug delivery systems for local cancer therapy. *Drug Discov Today.* 2016 Nov;21(11):1835-1849. doi: 10.1016/j.drudis.2016.07.006.

Pacelli S, Di Muzio L, Paolicelli P, Fortunati V, Petralito S, Trilli J et al. Dextran-polyethylene glycol cryogels as spongy scaffolds for drug delivery. *Int J Biol Macromol.* 2021 Jan 1;166:1292-1300. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.10.273.

Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *JBone Miner Res.* 1996 Aug;11(8):1043-51. doi: 10.1002/jbmr.5650110802.

Pellá MCG, Lima-Tenório MK, Tenório-Neto ET, Guilherme MR, Muniz EC, Rubira AF. Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications. *Carbohydr Polym.* 2018 Sep 15;196:233-245. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.05.033.

Pilmane M, Salma-Ancane K, Loca D, Locs J, Berzina-Cimdina L. Strontium and strontium ranelate: Historical review of some of their functions. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Sep 1;78:1222-1230. doi: 10.1016/j.msec.2017.05.042.

Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes AM. Biomaterials: types, applications, and market. *Química Nova*, 38(7), 957–971. Aug 2015. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150094>

Qaseem A, Forciea MA, McLean RM, Denberg TD; Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians; Barry MJ et al. Treatment of Low Bone Density or Osteoporosis to Prevent Fractures in Men and Women: A Clinical Practice Guideline Update From the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2017 Jun 6;166(11):818-839. doi: 10.7326/M15-1361.

Quintanilla RBS, Correa R. Raloxifene. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan.

Rahaman MN, Day DE, Bal BS, Fu Q, Jung SB, Bonewald LF et al. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater.* 2011 Jun;7(6):2355-73. doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.016.

Rastogi P, Kandasubramanian B. Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering. *Biofabrication.* 2019 Sep 10;11(4):042001. doi: 10.1088/1758-5090/ab331e.

Ren J, Blackwood KA, Doustgani A, Poh PP, Steck R, Stevens M et al. Meltelectrospun polycaprolactone strontium-substituted bioactive glass scaffolds for bone regeneration [published correction appears in J Biomed Mater Res A. 2016 Aug;104(8):2109]. J Biomed Mater Res A. 2014;102(9):3140-3153. doi:10.1002/jbm.a.34985

Rizwan M, Hamdi M, Basirun WJ. Bioglass® 45S5-based composites for bone tissue engineering and functional applications. J Biomed Mater Res A. 2017 Nov;105(11):3197-3223. doi: 10.1002/jbm.a.36156.

Salari N, Ghasemi H, Mohammadi L, Behzadi MH, Rabieenia E, Shohaimi S et al. Introduction to Glass Science and Technology. 2^o Ed. New York: The Royal Society of Chemistry, 2005.

Sun Z, Song C, Wang C, Hu Y, Wu J. Hydrogel-Based Controlled Drug Delivery for Cancer Treatment: A Review. Mol Pharm. 2020 Feb 3;17(2):373-391. doi: 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01020.

Suryanarayana C, Norton MG. X-Rays and Diffraction. In: Suryanarayana, C. and Norton, M.G., Eds., X-Ray Diffraction, Springer US, Boston, 1998. 3-19. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4899-0148-4_1.

Tan J, Fu X, Sun CG, Liu C, Zhang XH, Cui YY et al. A single CT-guided percutaneous intraosseous injection of thermosensitive simvastatin/poloxamer 407 hydrogel enhances vertebral bone formation in ovariectomized minipigs. Osteoporos Int. 2016 Feb;27(2):757-67. doi: 10.1007/s00198-015-3230-y.

Thambi T, Li Y, Lee DS. Injectable hydrogels for sustained release of therapeutic agents. J Control Release. 2017 Dec 10;267:57-66. doi: 10.1016/j.jconrel.2017.08.006.

Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. J Steroid Biochem Mol Biol. 2014 Jul;142:155-70. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.

Todros S, Todesco M, Bagno A. Biomaterials and Their Biomedical Applications: From Replacement to Regeneration. *Processes*. 2021; 9(11):1949. <https://doi.org/10.3390/pr9111949>.

Wang T, Yi W, Zhang Y, Wu H, Fan H, Zhao J et al. Sodium alginate hydrogel containing platelet-rich plasma for wound healing. Colloids Surf B Biointerfaces. 2023 Feb;222:113096. doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.113096.

Wang Y, Wang J, Gao R, Liu X, Feng Z, Zhang C et al. Biomimetic glycopeptide hydrogel coated PCL/nHA scaffold for enhanced cranial bone regeneration via macrophage M2 polarization-induced osteo-immunomodulation. Biomaterials. 2022 Jun;285:121538. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121538.

Wong JKU, Mehta A, Vũ TT, Yeo GC. Cellular modifications and biomaterial design to improve mesenchymal stem cell transplantation. Biomater Sci. 2023 Jul

12;11(14):4752-4773. doi: 10.1039/d3bm00376k. PMID: 37233031.

Wu X, Li H. Incorporation of Bioglass Improved the Mechanical Stability and Bioactivity of Alginate/Carboxymethyl Chitosan Hydrogel Wound Dressing. *ACS Appl Bio Mater.* 2021 Feb 15;4(2):1677-1692. doi: 10.1021/acsabm.0c01477. Epub 2021 Jan 20. PMID: 35014515.

Xu C, Dai G, Hong Y. Recent advances in high-strength and elastic hydrogels for 3D printing in biomedical applications. *Acta Biomater.* 2019 Sep 1;95:50-59. doi: 10.1016/j.actbio.2019.05.032.

Xu X, Li X, Liang Y, Ou Y, Huang J, Xiong J et al. Estrogen Modulates Cartilage and Subchondral Bone Remodeling in an Ovariectomized Rat Model of Postmenopausal Osteoarthritis. *Med Sci Monit.* 2019; 25: 3146–3153. doi: 10.12659/MSM.916254.

Yang J, Zhang YS, Yue K, Khademhosseini A. Cell-laden hydrogels for osteochondral and cartilage tissue engineering. *Acta Biomater.* 2017 Jul 15;57:1-25. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.036.

Yuan H, de Bruijn JD, Zhang X, van Blitterswijk CA, de Groot K. Bone induction by porous glass ceramic made from Bioglass (45S5). *J Biomed Mater Res.* 2001 May 1;58(3):270-6. doi: 10.1002/1097-4636(2001)58:33.0.co;2-2.

Zhao X, Xiong D, Liu Y. Improving surface wettability and lubrication of polyetheretherketone (PEEK) by combining with polyvinyl alcohol (PVA) hydrogel. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2018 Jun;82:27-34. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.03.014.

Zhang M, Zhao X. Alginate hydrogel dressings for advanced wound management. *Int J Biol Macromol.* 2020 Nov 1;162:1414-1428. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311.

Zhu Y, Goh C, Shrestha A. Biomaterial Properties Modulating Bone Regeneration. *Macromol Biosci.* 2021 Apr;21(4):e2000365. doi: 10.1002/mabi.202000365.