

RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 17/11/2027.



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

LETÍCIA CAVASSINI TORQUATO

**FIBRA DE CARBONO ATIVADA: avaliação das interações
biológicas *in vitro***

2023

LETÍCIA CAVASSINI TORQUATO

FIBRA DE CARBONO ATIVADA: avaliação das interações biológicas *in vitro*

Tese 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 DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Estudos sobre microbiologia, imunologia e terapia em periodontia e implantodontia.

Orientadora: Profa. Assoc. Andréa Carvalho De Marco

São José dos Campos

2023

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).

Torquato, Leticia Cavassini

Fibra de carbono ativada: avaliação das interações biológicas in vitro / Leticia Cavassini Torquato. - São José dos Campos : [s.n.], 2023. 83 f. : il.

Tese (Doutorado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.

Orientadora: Andréa Carvalho De Marco.

1. Fibra de carbono. 2. Viabilidade celular. 3. Osteogênese. 4. Biofilmes. 5. Engenharia Tecidual. I. De Marco, Andréa Carvalho, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Andréa Carvalho De Marco

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Assoc. Luana Marotta Reis De Vasconcellos

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Assist. Emanuel da Silva Rovai

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Antônio Carlos Victor Canettieri

Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP)

São José dos Campos

Profa. Dra. Camila Lopes Ferreira

Universidade de Taubaté (UNITAU)

Taubaté

São José dos Campos, 17 de novembro de 2023.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Cleide Cavassini Torquato e Claudinei Henrique Torquato por toda dedicação, apoio e carinho. Vocês são meus exemplos de garra e superação, não há forma de agradecer por todos os sacrifícios que fizeram e fazem por mim, obrigado por me guiarem nesses anos, devo tudo a vocês.

Ao meu noivo, Juliano Kazuto Chiba por toda paciência, dedicação e amor em ajudar a superar os meus obstáculos diários, tenho grande admiração pela sua força e determinação, tenho certeza que só cheguei mais longe por todo seu apoio.

À minha irmã Rafaela, que me apoia em todas as decisões que venho tomando durante meu caminho e sempre estando presente em momentos difíceis.

Aos meus avós paternos, Maria Luíza Batista Torquato e Lazaro Aparecido Torquato (*in memoriam*) por sempre me verem com orgulho. À minha avó materna, Margarida Frizo Cavassini por ser meu exemplo de pessoa de fé e amor.

À Deus, por ter me abençoado colocando pessoas maravilhosas em meu caminho que me ajudam a crescer diariamente.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Ciência e Tecnologia - Unesp, na pessoa do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Dr. Cesar Rogério Pucci e da vice-diretora Profa. Dra. Symone Cristina Teixeira.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde – CASB e ao programa de Biopatologia Bucal na pessoa do coordenador Prof. Alexandre Luiz Souto Borges.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, Profa. Assoc. Andréa Carvalho De Marco, Prof. Assist. Emanuel da Silva Rovai, Prof. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardini, Prof. Assoc. Mauro Pedrine Santamaria, e o Prof. Assoc. Sérgio Lúcio P. de Castro Lopes.

Aos meus amigos da Pós-graduação, pelo companheirismo e ajuda diária.

Especialmente à Caroline Trefiglio Rocha, Clarissa Carvalho Martins Maciel, Eduardo Antônio Chelin Suarez, Felipe Moura e Nátaly Domingues Almeida. Agradeço também aos alunos Juliani Caroline Ribeiro Araújo e Marina Fernandes, e a Profa. Dra. Camilla Magnoni Moretto Nunes pelo auxílio, amizade e companhia nos laboratórios. Aos meus amigos Andressa Pedrine Falcon, Bruna Emi Takamura Nakahara e Hugo Heiji Irie, agradeço pelo carinho e apoio.

Agradeço à parceria dos professores Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos, Profa. Assoc. Luciane Dias De Oliveira, Prof. Jossano Saldanha Marcuzzo e Prof. Eduardo José de Arruda.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Doutorado no período de 01/01/2022 à 01/12/2023.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica - PIBIC, pela concessão de bolsa para Luiz Augusto Rodrigues dos Santos (3994), Bianca Aparecida dos Santos (6424) e Tainá Amorim Ono (6389), e aos alunos que participaram ativamente deste trabalho.

À equipe técnica da clínica, Jacqueline Amaral Gomes Bueno, Marcia Cristina Lopes Garcia e Valeria Santos da Silva, pela ajuda e dedicação de sempre.

Agradeço especialmente minha orientadora, não poderia ter escolhido alguém melhor para me guiar em todo esse processo, obrigada pela dedicação, amor e carinho em toda nossa trajetória.

"Sempre que alguém cria alguma coisa com todo o coração, essa criação
recebe uma alma". Hayao Miyazaki

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	9
RESUMO	10
ABSTRACT	12
1 INTRODUÇÃO	14
2 FIBRA DE CARBONO ATIVADA INCORPORADA COM ÍONS DE PRATA (AgNO ₃): avaliação das interações biológicas <i>in vitro</i>	18
2.1 PROPOSIÇÃO	18
2.1.2 Objetivo geral	18
2.1.3 Objetivos específicos	18
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.2.1 Obtenção da fibra de carbono.....	19
2.2.2 Ensaio biológico <i>in vitro</i>	22
2.2.3 Cultura celular.....	23
2.2.4 Avaliação da proliferação celular	26
2.2.5 Determinação da viabilidade celular (citotoxicidade)	27
2.2.6 Interação celular com a fibra	27
2.2.7 Conteúdo de proteína total.....	28
2.2.8 Atividade de fosfatase alcalina	29
2.2.9 Formação e quantificação dos nódulos de mineralização	29
2.2.10 Avaliação da formação de biofilme microbianos	30
2.2.11 Análise Estatística	32
2.3 RESULTADOS.....	32
2.3.1 Proliferação celular	32
2.3.2 Determinação da viabilidade celular (citotoxicidade)	33
2.3.3 Interação celular.....	34

2.3.4 Conteúdo de proteína total.....	36
2.3.5 Atividade de fosfatase alcalina.....	36
2.3.6 Análise da formação de nódulos de mineralização	37
2.3.7 Avaliação da formação de biofilme microbianos	39
2.4 DISCUSSÃO	42
2.5 CONCLUSÃO	47
3 FIBRA DE CARBONO ATIVADA INCORPORADA COM ÍONS DE	
METAIS: avaliação das interações biológicas <i>in vitro</i>.....	48
3.1 PROPOSIÇÃO	48
3.1.1 Objetivo geral	48
3.1.2 Objetivos específicos	48
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
3.2.1 Preparação da fibra de carbono ativada.....	49
3.2.2 Ensaio biológico <i>in vitro</i>	50
3.2.3 Cultura celular.....	50
3.2.4 Avaliação da proliferação celular	52
3.2.5 Interação celular com a fibra	53
3.2.6 Determinação da viabilidade celular (citotoxicidade)	53
3.2.7 Conteúdo de proteína total.....	54
3.2.8 Atividade de fosfatase alcalina.....	54
3.2.9 Avaliação da Genotoxicidade	55
3.2.10 Formação e quantificação dos nódulos de mineralização	57
3.2.11 Análise estatística.....	58
3.4 RESULTADOS.....	58
3.4.1 Proliferação celular	58
3.4.2 Interação celular.....	59
3.4.3 Viabilidade celular	62
3.4.4 Conteúdo de Proteína Total	63

3.4.5 Atividade de Fosfatase alcalina.....	63
3.4.6 Genotoxicidade	64
3.4.7 Formação e quantificação dos nódulos de mineralização	67
3.5 DISCUSSÃO	68
3.6 CONCLUSÃO	72
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS	74
ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética do Uso de Animais	81
ANEXO B – Certificado da Comissão de Ética do Uso de Animais.....	82

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista o pioneirismo desse estudo, pelo uso de fibra carbono ativada obtido a partir da fibra PAN têxtil como um possível biomaterial, foi desafiador encontrar na literatura estudos semelhantes *in vitro*, principalmente que avaliassem o material nas diferentes apresentações com as incorporações dos íons; logo, visando entender melhor os resultados obtidos nos testes, foi possível apenas correlacionar os resultados obtidos com outros estudos realizados com materiais a base de carbono de outras modalidades e com estudos que avaliaram as propriedades dos mesmos íons utilizados neste estudo.

As fibras utilizadas de base para a incorporação dos íons demonstraram grande potencial para uso como *scaffold* para reparação óssea, isso porque em ambos os estudos, na forma ativada e não ativada, as fibras apresentaram viabilidade celular e quantificação de cálcio satisfatórios. Sendo a versão não ativada mais econômica no que diz respeito ao tempo e custo de preparação.

As fibras, além de baixo custo de produção, podem ser esterilizadas em autoclave e possuem forma de feltro, o que facilitaria sua utilização clínica por ser um material fácil de adaptar ao local aonde pretende-se utilizar, características que tornam o material promissor.

Com relação à incorporação de íons metálicos, apesar de termos obtidos resultados favoráveis para aplicação de ouro e paládio, mais testes devem ser empregados a fim de assegurar sua segurança clínica em relação à citotoxicidade, relacionados à concentração na fibra de carbono. A quantidade de prata deverá ser ajustada também, o ideal é que seja encontrada uma concentração que seja favorável tanto à viabilidade celular quanto às propriedades antimicrobianas.

REFERÊNCIAS*

- Amaral MA, Matsushima, JT, Rezende MC, Gonçalves ES, Marcuzzo JS, Baldan MR. Production and characterization of activated carbon fiber from textile PAN fiber. *J Aerosp Technol Manag.* 2017;9(4):423-430. doi: <https://doi.org/10.5028/jatm.v9i4.831>.
- Anthony, P. M.; Karl-Erik, K.; Lars, A. *Cirurgia Bucomaxilofacial*. Editora Guanabara Koogan Ltda: Grupo GEN, 2016. 9788527728829. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527728829/>. Acesso em: 2021 set. 01.
- Aoki K, Usui Y, Narita N, Ogiwara N, Iashigaki N, Nakamura K, Kato H, Sano K, Ogiwara N, Kametani K, Kim C, Taruta S, Kim YA, Endo M, Saito N. A thin carbon-fiber web as a scaffold for bone-tissue regeneration. *Small.* 2009 Jul;5(13):1540-6. doi: 10.1002/smll.200801610. PMID: 19334009.
- Aoki K, Haniu H, Kim YA, Saito N. The Use of Electrospun Organic and Carbon Nanofibers in Bone Regeneration. *Nanomaterials (Basel).* 2020 Mar 20;10(3):562. doi: 10.3390/nano10030562. PMID: 32244931; PMCID: PMC7153397.
- Aurore V, Caldana F, Blanchard M, Kharoubi Hess S, Lannes N, Mantel PY, Filgueira L, Walch M. Silver-nanoparticles increase bactericidal activity and radical oxygen responses against bacterial pathogens in human osteoclasts. *Nanomedicine.* 2018 Feb;14(2):601-607. doi: 10.1016/j.nano.2017.11.006. Epub 2017 Nov 16. PMID: 29155361.
- Bottani E.J, Tascón JMD. Adsorption by Carbons. 2008/01/01. SP. doi: 10.1016/B978-0-08-044464-2.X5001-9
- Bow A, Anderson DE, Dhar M. Commercially available bone graft substitutes: the impact of origin and processing on graft functionality. *Drug Metab Rev.* 2019;51(4):533-544. doi:10.1080/03602532.2019.1671860.
- Buser Z, Brodke DS, Youssef JA, Meisel HJ, Myhre SL, Hashimoto R, Park JB, Tim Yoon S, Wang JC. Synthetic bone graft versus autograft or allograft for spinal fusion: a systematic review. *J Neurosurg Spine.* 2016 Oct;25(4):509-516.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2020 Jan 20]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

doi: 10.3171/2016.1.SPINE151005. Epub 2016 May 27. PMID: 27231812.

Crisan L, Crisan B, Soritau O, Baciut M, Biris AR, Baciut G, Lucaciu O. In vitro study of biocompatibility of a graphene composite with gold nanoparticles and hydroxyapatite on human osteoblasts. *J Appl Toxicol*. 2015 Oct;35(10):1200-10. doi: 10.1002/jat.3152. Epub 2015 Apr 20. PMID: 25900356.

da Silva RA, Leonardo MR, da Silva LA, de Castro LM, Rosa AL, de Oliveira PT. Effects of the association between a calcium hydroxide paste and 0.4% chlorhexidine on the development of the osteogenic phenotype in vitro. *J Endod*. 2008 Dec;34(12):1485-9. doi: 10.1016/j.joen.2008.08.031.

de Oliveira PT, Zalzal SF, Beloti MM, Rosa AL, Nanci A. Enhancement of in vitro osteogenesis on titanium by chemically produced nanotopography. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Mar 1;80(3):554-64. doi: 10.1002/jbm.a.30955. PMID: 17031821.

Deng Z, Han H, Yang J, Li Y, Du S, Ma J. Fabrication and Characterization of Carbon Fiber-Reinforced Nano-Hydroxyapatite/Polyamide46 Biocomposite for Bone Substitute. *Med Sci Monit*. 2017 May 24;23:2479-2487. doi: 10.12659/msm.903768. PMID: 28536416; PMCID: PMC5462530.

Eivazzadeh-Keihan R, Maleki A, de la Guardia M, Bani MS, Chenab KK, Pashazadeh-Panahi P, Baradaran B, Mokhtarzadeh A, Hamblin MR. Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: Building new bone on small black scaffolds: A review. *J Adv Res*. 2019 Mar 28;18:185-201. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.011. PMID: 31032119; PMCID: PMC6479020.

Fong J, Wood F. Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review. *Int J Nanomedicine*. 2006;1(4):441-9. doi: 10.2147/nano.2006.1.4.441. PMID: 17722278; PMCID: PMC2676636.

Islam M, Sadaf A, Gómez MR, Mager D, Korvink JG, Lantada AD. Carbon fiber/microlattice 3D hybrid architecture as multi-scale scaffold for tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021 Jul;126:112140. doi: 10.1016/j.msec.2021.112140. Epub 2021 Apr 30. PMID: 34082951.

Gregory CA, Gunn WG, Peister A, Prockop DJ. An Alizarin red-based assay of mineralization by adherent cells in culture: comparison with cetylpyridinium chloride extraction. *Anal Biochem*. 2004 Jun 1;329(1):77-84. PubMed

PMID:15136169.

Hasan A, Byambaa B, Morshed M, et al. Advances in osteobiologic materials for bone substitutes. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(6):1448-1468. doi:10.1002/term.2677.

Keating JF, Simpson AHRW, Robinson CM. The management of fractures with bone loss. *J Bone Jt Surg - Ser B*. 2005;87(2):142–50. doi: 10.1302/0301-620X.87B2.15874. PMID: 15736731.

Klijn RJ, Meijer GJ, Bronkhorst EM, Jansen JA. A meta-analysis of histomorphometric results and graft healing time of various biomaterials compared to autologous bone used as sinus floor augmentation material in humans. *Tissue Eng - Part B Rev*. 2010;16(5):493–507. doi: 10.1089/ten.teb.2010.0035.

Lazarević T, Rilak A, Bugarčić ŽD. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. *Eur J Med Chem*. 2017 Dec 15;142:8-31. doi: 10.1016/j.ejmech.2017.04.007. Epub 2017 Apr 18.

Lin YH, Lin JH, Wang SH, Ko TH, Tseng GC. Evaluation of silver-containing activated carbon fiber for wound healing study: In vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2012 Nov;100(8):2288-96. doi: 10.1002/jbm.b.32800. Epub 2012 Sep 15. PMID: 22987792.

Lindhe J, Lang NP. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral*. 6° ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA; 2018. p. 42-57.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265-75. PubMed PMID: 14907713.

Loyola M, Ancoski T, Ramires MA, Mello F, Mello AMD. Enxertos ósseos autógenos e xenógenos como alternativa de manutenção do espaço alveolar. *Revista gestão & saúde*. 2018;19(2): 8-18.

Maciel CCM, Torquato LC, Chelin Suárez EA, Pereira KA, Jardini MAN, Borges ALS, de Vasconcellos LMR, Marcuzzo JS, De Marco AC. Carbon fiber: Characterization and evaluation of the inflammatory response and toxicity in rats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2023

Nov;111(11):1956-1965. doi: 10.1002/jbm.b.35298. Epub 2023 Jul 22. PMID: 37482895.

Mahmood M, Li Z, Casciano D, Khodakovskaya MV, Chen T, Karmakar A, Dervishi E, Xu Y, Mustafa T, Watanabe F, Fejleh A, Whitlow M, Al-Adami M, Ghosh A, Biris AS. Nanostructural materials increase mineralization in bone cells and affect gene expression through miRNA regulation. *J Cell Mol Med*. 2011 Nov;15(11):2297-306. doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01234.x. PMID: 21143388; PMCID: PMC3822941.

Marcuzzo JS, Cuña A, Tancredi N, Mendez E, Bernardi HH. Microporus activated carbon fiber felt from Brazilian textile PAN fiber: preparation, characterization and application as super capacitor electrode. *Rev Bras Apl Vácuo*. 2016;35(2):58–63. doi: 10.17563/rbav.v35i2.1022.

Marsh, H. and Rodriguez-Reinoso, F., Eds. *Science of Carbon Materials*. Universidad de Alicante, Secretariado de Publications, Spain, 2000; 673.

Milheiro A, Nozaki K, Kleverlaan CJ, Muris J, Miura H, Feilzer AJ. In vitro cytotoxicity of metallic ions released from dental alloys. *Odontology*. 2016 May;104(2):136-42. doi: 10.1007/s10266-014-0192-z. Epub 2014 Dec 31. PMID: 25549610.

Mochida I, Korai Y, Shirahama M, Kawano S, Hada T, Seo Y, et al. Removal of SO_x and NO_x over activated carbon fibers. *Carbon N Y*. 2000;38(2):227–39.

Montoya C, Du Y, Gianforcaro AL, Orrego S, Yang M, Lelkes PI. On the road to smart biomaterials for bone research: definitions, concepts, advances, and outlook. *Bone Res*. 2021 Feb 11;9(1):12. doi: 10.1038/s41413-020-00131-z. PMID: 33574225; PMCID: PMC7878740.

Nishimura K, Shindo S, Movila A, Kayal R, Abdullah A, Savitri IJ, Ikeda A, Yamaguchi T, Howait M, Al-Dharrab A, Mira A, Han X, Kawai T. TRAP-positive osteoclast precursors mediate ROS/NO-dependent bactericidal activity via TLR4. *Free Radic Biol Med*. 2016 Aug;97:330-341. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.06.021. Epub 2016 Jun 22. PMID: 27343691; PMCID: PMC5654318.

Nunes, Camilla Magnoni Moretto et al. Evaluation of pulsed electromagnetic field protocols in implant osseointegration: in vivo and in vitro study. *Clinical*

Oral Investigations, v. 25, n. 5, p. 2925-2937, 2021. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/208036>>.

Oliveira PT, Nanci A. Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells. *Biomaterials*. 2004;25:403-13.

O'Neill E, Awale G, Daneshmandi L, Umerah O, Lo KW. The roles of ions on bone regeneration. *Drug Discov Today*. 2018 Apr;23(4):879-890. doi: 10.1016/j.drudis.2018.01.049. Epub 2018 Feb 3. PMID: 29407177.

Peng Z, Zhao T, Zhou Y, Li S, Li J, Leblanc RM. Bone Tissue Engineering via Carbon-Based Nanomaterials. *Adv Healthc Mater*. 2020 Mar;9(5):e1901495. doi: 10.1002/adhm.201901495. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31976623.

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2020. 18(7): e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.Pbio.3000410>.

Petersen R. Carbon Fiber Biocompatibility for Implants. *Fibers (Basel)*. 2016;4(1):1. doi: 10.3390/fib4010001. Epub 2016 Jan 8. PMID: 26966555; PMCID: PMC4782804.

Price RL, Waid MC, Haberstroh KM, Webster TJ. Selective bone cell adhesion on formulations containing carbon nanofibers. *Biomaterials*. 2003 May;24(11):1877-87. doi: 10.1016/s0142-9612(02)00609-9. PMID: 12615478.

Qin H, Zhu C, An Z, Jiang Y, Zhao Y, Wang J, Liu X, Hui B, Zhang X, Wang Y. Silver nanoparticles promote osteogenic differentiation of human urine-derived stem cells at noncytotoxic concentrations. *Int J Nanomedicine*. 2014 May 20;9:2469-78. doi: 10.2147/IJN.S59753. eCollection 2014.

Rather HA, Jhala D, Vasita R. Dual functional approaches for osteogenesis coupled angiogenesis in bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Oct;103:109761. doi: 10.1016/j.msec.2019.109761. Epub 2019 May 17. PMID: 31349418.

Redey SA, Nardin M, Bernache-Assolant D, Rey C, Delannoy P, Sedel L, Marie PJ. Behavior of human osteoblastic cells on stoichiometric hydroxyapatite and type A carbonate apatite: role of surface energy. *J Biomed*

Mater Res. 2000 Jun 5;50(3):353-64. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(20000605)50:3<353::aid-jbm9>3.0.co;2-c. PMID: 10737877.

Ribeiro M, Ferraz MP, Monteiro FJ, Fernandes MH, Beppu MM, Mantione D, Sardon H. Antibacterial silk fibroin/nanohydroxyapatite hydrogels with silver and gold nanoparticles for bone regeneration. *Nanomedicine*. 2017 Jan;13(1):231-239. doi: 10.1016/j.nano.2016.08.026. Epub 2016 Aug 31.

Rosa AL, Beloti MM. Rat bone marrow cell response to titanium and titanium alloy with different surface roughness. *Clin. Oral Impl. Res*, 14, 2003; 43–48.

Rosa AL, Crippa GE, de Oliveira PT, Taba M Jr, Lefebvre LP, Beloti MM. Human alveolar bone cell proliferation, expression of osteoblastic phenotype, and matrix mineralization on porous titanium produced by powder metallurgy. *Clin Oral Implants Res*. 2009 May;20(5):472-81. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01662.x.

Ryu S, Lee C, Park J, et al. Three-dimensional scaffolds of carbonized polyacrylonitrile for bone tissue regeneration. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014;53(35):9213-9217. doi:10.1002/anie.201403794.

Sergio, K. Estomatologia - Bases do Diagnóstico para o Clínico Geral. EDITORA SANTOS: Grupo GEN, 2020. 9788527736312. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527736312/>. Acesso em: 2021 set. 02.

Thomas S, McCubbin P. A comparison of the antimicrobial effects of four silver-containing dressings on three organisms. *J Wound Care*. 2003 Mar;12(3):101-7. doi: 10.12968/jowc.2003.12.3.26477. PMID: 12677872.

Thrivikraman G, Athirasala A, Twohig C, Boda SK, Bertassoni LE. Biomaterials for Craniofacial Bone Regeneration. *Dent Clin North Am*. 2017 Oct;61(4):835-856. doi: 10.1016/j.cden.2017.06.003. PMID: 28886771.

Tüz HH, Koç O, Meral SE, El AS. Reconstruction and Implant-Supported Rehabilitation of an Iatrogenically Caused Maxillary Alveolar Defect. *Implant Dent*. 2019;28(5):510–3. doi: 10.1097/ID.0000000000000910.

Uchoa, J.L. C.; José, C. Histologia Básica - Texto & Atlas, 13ª edição. Editora Guanabara Koogan Ltda: Grupo GEN, 2017. 9788527732178. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732178/>. Acesso em:

2021 set. 02

Wang Y, Zhang W, Yao Q. Copper-based biomaterials for bone and cartilage tissue engineering. *J Orthop Translat.* 2021 May 19;29:60-71. doi: 10.1016/j.jot.2021.03.003. eCollection 2021 Jul. PMID: 34094859.

Zhang W, Chang Q, Xu L, Li G, Yang G, Ding X, Wang X, Cui D, Jiang X. Graphene Oxide-Copper Nanocomposite-Coated Porous CaP Scaffold for Vascularized Bone Regeneration via Activation of Hif-1alpha. *Adv Healthc Mater.* 2019 Mar;8(5):e1900067. doi: 10.1002/adhm.201900067.

Zhao M, Zhou J, Li X, et al. Repair of bone defect with vascularized tissue engineered bone graft seeded with mesenchymal stem cells in rabbits. *Microsurgery.* 2011;31(2):130-137. doi:10.1002/micr.20854.