

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 25/10/2026.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS JABOTICABAL**



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

**Scaffolds acelulares de poli-ácido láctico (PLA) como
substituto ósseo:
microambientes biorreatores *in vivo* em caprinos**

Inácio Silva Viana

2024

INÁCIO SILVA VIANA

**Scaffolds acelulares de poli-ácido láctico (PLA) como substituto ósseo:
microambientes biorreatores *in vivo* em caprinos**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus Jaboticabal como requisito obrigatório para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias, sob orientação do Prof. Dr. Paulo Alécio Canola e coorientação do Prof. Dr. Luís Gustavo Gosuen Gonçalves Dias.

Área de concentração: Saúde animal.

S586s Silva Viana, Inácio
Scaffolds acelulares de poli-ácido láctico (PLA) como substituto ósseo: microambientes biorreatores in vivo em caprinos / Inácio Silva Viana. -- Jaboticabal, 2024
62 f.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Paulo Aléscio Canola
Coorientador: Luís Gustavo Gosuen Gonçalves Dias

1. Fratura. 2. Polímero. 3. Enxerto. 4. Osteointegração. 5. Ortopedia. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SCAFFOLDS ACELULARES DE ÁCIDO-POLI LÁCTICO (PLA) COMO SUBSTITUTO
ÓSSEO: MICROAMBIENTES BIORREATORES IN VIVO EM CAPRINOS

AUTOR: INÁCIO SILVA VIANA

ORIENTADOR: PAULO ALÉSCIO CANOLA

COORIENTADOR: LUÍS GUSTAVO GOSUEN GONÇALVES DIAS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Veterinárias,
área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO ALÉSCIO CANOLA (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
PAULO ALESCIO CANOLA
Data: 25/10/2024 18:12:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARIA ANGÉLICA MIGLINO (Participação Virtual)
Universidade de Marília (Unimar) / Marília/SP



Documento assinado digitalmente
MARIA ANGELICA MIGLINO
Data: 28/10/2024 15:23:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RODRIGO DA SILVA NUNES BARRETO (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
RODRIGO DA SILVA NUNES BARRETO
Data: 30/10/2024 10:22:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ANDRÉ LUÍS DO VALLE DE ZOPPA (Participação Virtual)
Departamento de Cirurgia / FMVZ USP São Paulo/SP



Documento assinado digitalmente
ANDRE LUIS DO VALLE DE ZOPPA
Data: 25/10/2024 18:44:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
LIZANDRA AMOROSO
Data: 29/10/2024 19:21:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 25 de outubro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Inácio Silva Viana, nascido em 19 de março de 1990 na cidade de Medeiros Neto, no estado da Bahia-BR e filho de Angelita Rodrigues da Silva e Aroldo Viana de Oliveira. No ano de 2006, ingressou na Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa – ES onde concluiu o ensino médio e o curso técnico em Agropecuária com habilitação em Zootecnia em 2009. Graduado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (2018). Na mesma instituição, adquiriu o título de Mestre em Ciência Animal (2020) e doutor pelo programa de pós-graduação e Ciências Veterinárias da Faculdade de Ciências Agrárias de Veterinárias – Unesp.

Por tanto amor
Por tanta emoção
A vida me fez assim
Doce ou atroz
Manso ou feroz
Eu, caçador de mim

Longe se vai
Sonhando demais
Mas onde se chega assim
Vou descobrir o que me faz sentir
Eu, caçador de mim

(Sérgio Magrão e Luiz Carlos Sá)

Uma mesa amarela, um café fresquinho, uma tarde de prosa entre comadres e
uma criança sentada na mureta de frente para a porta.

A mãe diz: comadre, meu sonho é ter um filho doutor.

A criança de seis anos de idade diz: serei o seu primeiro filho doutor.

Então a mãe indaga: será comadre que ele vai ser doutor?

A tia Leda responde: vai sim comadre. Deus irá abençoá-lo e um dia ele
chegará lá.

A criança segue dizendo: a senhora vai ver. Estudarei e um dia serei doutor.

Por fim, risos e olhos brilhantes tomaram conta daquele momento.

O tempo passou, e a partir de então, as palavras da criança foram tidas como
promessa.

A criança cresceu, estudou e o grande dia chegou.

Dedico com todo meu amor à Mainha, Angelita Rodrigues da Silva
(*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me proteger, iluminar e guiar em cada passo do meu caminhar e aos meus pais, Angelita Rodrigues da Silva (*in memoriam*) e Aroldo Viana de Oliveira, por almejarem este sonho hoje realizado junto a mim.

Aos meus irmãos: Renato Silva Viana, Angeli Silva Viana, Alvino José da Silva Neto, Natali Silva Viana e Andreia Rodrigues da Silva. Aos meus sobrinhos: Caíque Ferraz, Artur Araújo, Ana Vitória Ferraz, Maria Isadora Nascimento, Kayla Viana, Rebeca Ferraz, Samir Viana, Ravi Viana e todos os meus demais familiares. A vocês, toda minha gratidão pelo apoio e paciência nesta minha longa caminhada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Aléscio Canola e coorientador, Prof. Dr. Luís Gustavo Gosuen Gonçalves Dias, agradeço pela oportunidade, confiança e ensinamentos.

Agradeço aos companheiros de projeto, Renato Barroco e Mateus Veloso por se juntarem a mim nesta empreitada árdua, trazendo leveza, companheirismo e comprometimento.

Agradeço também a FAPESP (processos 2020/10668-2 e 2021/12198-7) pelo apoio a pesquisa, assim como a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, ao Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, ao Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, e aos servidores da farmácia, da esterilização, do raios-x, do setor de clínica e cirurgia de grandes animais e todos os demais funcionários envolvidos, em especial a Lauro Cesar Alves e a Isilda Alves de Oliveira, a vocês o meu muito obrigado pelo apoio e auxílio na pesquisa.

Ao Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, especialmente a Claudia Nogueira e a Daniela Gomes, pela paciência, carinho e auxílio para comigo durante o período de avaliação laboratorial.

Aos meus amigos Isabela Rabelo, Maria Luiza Favero, Amanda Rodrigues, Glória Beatriz, Gabriel Ramos, Angélica Tittoto, Fernando Petri e João Neto do

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, agradeço pela participação e auxílio pela realização deste estudo.

Aos amigos de sempre; Valmiro do Carmo de Freitas, Renan da Silva Carvalho, Lucas Santos, Lucian Dias, Wesley Pires, Francielli Gobbi, Verônica Terrabuio, Moises Dias, Uilian Ferreira, Fernanda Brasil, André Rocha e Claribel dos Santos. Muito obrigado por se fazerem presentes mesmo frente à distância.

Vocês são mais que especiais.

Na vida fui e sou feliz por ter a quem agradecer, pois este ato nos mostra o quanto somos dependentes e frágeis perante os obstáculos da vida, e por isso, sou grato a todos que passaram e permanecem em minha vida!

Sumário

CAPITULO 1 – Considerações gerais	12
1 Introdução	12
2 Revisão de literatura	13
2.1 Osso, estrutura e composição	13
2.2 Fraturas e cicatrização óssea	15
2.3 Enxertos, biopolímeros e celularização de scaffolds	17
3 Referências	19
CAPITULO 2 - Scaffolds acelulares de poliácido láctico (PLA) como substituto ósseo: microambientes biorreatores in vivo em caprinos	27
Resumo	27
1. Introdução	30
2. Material e métodos	31
2.1 Manufaturamento 3D de scaffolds de ácido-poli lático (PLA)	31
2.2 Animais	32
2.3 Manejo sanitário e nutricional	33
2.4 Avaliação clínica	33
2.5 Pré-cirúrgico	33
2.6 Anestesia	34
2.7 Procedimento cirúrgico	35
2.8 Pós-cirúrgico	36
2.9 Avaliações pós-operatória	36
2.9.1 Avaliação termográfica	36
2.9.2 Avaliação radiográfica	37
2.10 Coleta de amostras	37
2.11 Avaliações pós-coleta das amostras	38
2.11.1 Avaliação histopatológica	38
2.11.2 Mieloperoxidase oxidativa (MPO)	38
2.11.3 N-acetilglicosaminidase (NAG)	39
2.11.4 Hidroxiprolina (HO-Pro)	39
2.11.5 Glicosaminoglicanos (GAG)	40
2.11.6 Avaliação tomográfica (micro-CT) dos scaffolds	40
2.11.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	41
2.12 Análise estatística	41

3 Resultados	42
3.1 Celularização dos scaffolds	42
3.2 Inflamação gerada pela implantação dos scaffolds para formação do enxerto	43
3.3 Características dos scaffolds de PLA pós-implantação	46
3.4 Neoangiogênese	47
3.5 Características dos scaffolds celularizados	48
4. Discussão	53
5. Conclusão	57
6. Referências	58

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Formação óssea autógena em polímero (PLA) alocado internamente no osso ilíaco de caprinos como proposta de substituto ósseo para falhas críticas"**, protocolo n.º 4808/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. PAULO ALESCIO CANOLA, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 12 de julho 2023.

Vigência do Projeto	04/01/2021 a 31/05/2024
Espécie / Linhagem	Caprino
Nº de animais	15
Peso / Idade	40 e 50 kg
Sexo	Fêmeas
Origem	Criatórios da região

Jaboticabal, 12 de julho de 2023.

Prof. Dra. Paola Castro Moraes

Vice-coordenadora em exercício – CEUA FCAV

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcav.unesp.br

CAPITULO 1 – Considerações gerais

1 Introdução

Defeitos ósseos normalmente são um problema ao qual o ortopedista se depara após situações em que se faz necessário a ressecção de tumores ou processos infecciosos, revisão de artroplastia ou em decorrência de traumas (Schulze et al., 2023). O tecido ósseo é continuamente repostado e remodelado de acordo com a tensão aplicada pelos osteoblastos e osteoclastos, sendo capaz de se autorreparar após a estabilização mecânica da fratura. Porém, quando essas fraturas causam grande perda óssea, o mesmo é incapaz de se reparar, necessitando, desta forma, de técnicas coadjuvantes (como o uso de biomaterias, por exemplo) para restabelecimento da anatomia e função do local afetado (Xue et al., 2022).

Os biomateriais são definidos como materiais aplicados na área médica e médica veterinária, com objetivo de promover interação com o tecido receptor, com fins de reparação. Sendo desta forma, uma alternativa efetiva na substituição de tecidos orgânicos, incluindo o osso, por não possuir riscos de transmissão de doenças ou rejeição imunológica (Dobrzyńska-Mizera et al., 2024).

O enxerto ósseo esponjoso autólogo é considerado o padrão ouro, por apresentar vantagens com relação aos demais biomateriais, por sua osteogenicidade e osteocondução. Além disso, induz a formação de células de linhagens ósseas a partir de células mesenquimais dos tecidos adjacentes, por osteoindução (Yonggang et al., 2016). Apesar das características favoráveis, a aplicação desta técnica é inviável, principalmente em pacientes que apresentam politraumatismo nos membros apendiculares ou fraturas críticas (Laubach et al., 2023). Condições estas as quais comprometem a integridade óssea. Além desse biomaterial autólogo, há também a opção do uso de osso esponjoso esterilizado. No entanto, embora apresente osteocondução adequada, possui osteoindutividade limitada, o que acaba restringindo seu uso (Yonggang et al., 2016; Vallittu et al., 2020).

Como consequência, vários polímeros artificiais, para substituição óssea, com base em cerâmica, espumas de polímero, membranas, dentre outros

materiais, estão atualmente sob investigação. Tais matérias, possuem objetivo de promover a estabilização, osteocondução e redução de falhas ósseas, proporcionou nova perspectiva no tratamento de falhas ósseas críticas. Dentre os polímeros mais aplicados na ortopedia está o poliácido láctico (PLA) Sua viabilidade de manufatura em impressoras 3D o torna extremamente atrativo para aplicações biomédicas. Além disso, apresenta biocompatibilidade e resistência, apesar de não apresentar osteoindução.

A formação de enxertos ósseos, com formato tridimensional e compatíveis com a falha óssea, apresentando atividade neoangiogênica e em estágio avançado de deposição de colágeno e de fatores de crescimento, bem como, baixo índice de rejeição, é grandemente almejada. Infelizmente, este material ainda não foi formulado. Deste modo, faz-se necessária a exploração de associação de técnicas e materiais na busca de um enxerto ósseo que apresente tais características.

5. Conclusão

O microambiente intraósteo é uma alternativa viável para celularização de scaffolds para fins de formação de enxerto ósseo, com grande potencial de integração funcional comparados a scaffolds celularizados em subcutâneo. A presença de matriz óssea orientada, células osteoprogenitoras, osso neoformado com presença de células endógenas, pode ser extraído da celularização intraóstea a partir da 6ª semana PI com características osteoindutoras promissoras. Já os scaffolds celularizados em subcutâneo devem

ser removidos até a 4^o semana PI, pois a substituição da MEC pelo tecido fibroso pode afetar a migração celular e, conseqüentemente a celularizados celular no scaffold subcutâneo.

6. Referências

Albaugh VL, Mukherjee K, Barbul A. Proline Precursors and Collagen Synthesis: Biochemical Challenges of Nutrient Supplementation and Wound Healing. **J Nutr**. 2017 Nov;147(11):2011-2017. doi: 10.3945/jn.117.256404.

Alcaide-Ruggiero L, Cugat R, Domínguez JM. Proteoglycans in Articular Cartilage and Their Contribution to Chondral Injury and Repair Mechanisms. **Int J Mol Sci**. 2023 Jun 28;24(13):10824. doi: 10.3390/ijms241310824.

Amini AR, Laurencin CT, Nukavarapu SP. Bone tissue engineering: recent advances and challenges. **Crit Rev Biomed Eng**. 2012;40(5):363-408. doi: 10.1615/critrevbiomedeng.v40.i5.10. PMID: 23339648; PMCID: PMC3766369.

Armentia SL, Real JCD, Paz E, Dunne N. Advances in Biodegradable 3D Printed Scaffolds with Carbon-Based Nanomaterials for Bone Regeneration. **Materials (Basel)**. 2020 Nov 11;13(22):5083. doi: 10.3390/ma13225083. PMID: 33187218; PMCID: PMC7697295.

Ayuk SM, Abrahamse H, Houreld NN. The Role of Matrix Metalloproteinases in Diabetic Wound Healing in relation to Photobiomodulation. **J Diabetes Res**. 2016;2016:2897656. doi: 10.1155/2016/2897656.

Carvalho, J.R.G., Conde, G., Antonioli, M.L. *et al*. Biocompatibility and biodegradation of poly(lactic acid) (PLA) and an immiscible PLA/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) blend compatibilized by poly(ϵ -caprolactone-*b*-tetrahydrofuran) implanted in horses. **Polym J** **52**, 629–643 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41428-020-0308-y>

Cassini-Vieira, P., Moreira, C. F., da Silva, M. F. and Barcelos, L. D. S. Estimation of Wound Tissue Neutrophil and Macrophage Accumulation by Measuring

Myeloperoxidase (MPO) and N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) Activities. **Bio-protocol**. 2015, 5(22): e1662. DOI: [10.21769/BioProtoc.1662](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1662).

Chue WL, Campbell GR, Caplice N, Muhammed A, Berry CL, Thomas AC, Bennett MB, Campbell JH. Dog peritoneal and pleural cavities as bioreactors to grow autologous vascular grafts. **J Vasc Surg**. 2004 Apr;39(4):859-67. doi: 10.1016/j.jvs.2003.03.003.

Corradetti B, Taraballi F, Corbo C, Cabrera F, Pandolfi L, Minardi S, Wang X, Van Eps J, Bauza G, Weiner B, Tasciotti E. Immune tuning scaffold for the local induction of a pro-regenerative environment. **Sci Rep**. 2017 Dec 5;7(1):17030. doi: 10.1038/s41598-017-16895-0.

Correa-Gallegos D, Jiang D, Rinkevich Y. Fibroblasts as confederates of the immune system. **Immunol Rev**. 2021 Jul;302(1):147-162. doi: 10.1111/imr.12972.

DeFrates K, Markiewicz T, Callaway K, Xue Y, Stanton J, Salas-de la Cruz D, Hu X. Structure-property relationships of Thai silk-microcrystalline cellulose biocomposite materials fabricated from ionic liquid. **Int J Biol Macromol**. 2017 Nov;104(Pt A):919-928. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.06.103.

Dwivedi D, Dwivedi M, Malviya S, Singh V. Evaluation of wound healing, anti-microbial and antioxidant potential of *Pongamia pinnata* in wistar rats. **J Tradit Complement Med**. 2016 Apr 4;7(1):79-85. doi: 10.1016/j.jtcme.2015.12.002.

Farndale RW, Buttle DJ, Barrett AJ. Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue. **Biochim Biophys Acta**. 1986 Sep 4;883(2):173-7. doi: 10.1016/0304-4165(86)90306-5.

Ferraz MP. An Overview on the Big Players in Bone Tissue Engineering: Biomaterials, Scaffolds and Cells. **Int J Mol Sci**. 2024 Mar 29;25(7):3836. doi: 10.3390/ijms25073836.

Fridberg M, Bafor A, Iobst CA, Laugesen B, Jepsen JF, Rahbek O, Kold S. The role of thermography in assessment of wounds. A scoping review. **Injury**. 2024 Nov;55(11):111833. doi: 10.1016/j.injury.2024.111833.

Gao C, Deng Y, Feng P, Mao Z, Li P, Yang B, Deng J, Cao Y, Shuai C, Peng S. Current progress in bioactive ceramic scaffolds for bone repair and regeneration. **Int J Mol Sci**. 2014 Mar 18;15(3):4714-32. doi: 10.3390/ijms15034714.

Gerges I, Tamplenizza M, Martello F, Koman S, Chincarini G, Recordati C, Tamplenizza M, Guelcher S, Crestani M, Tocchio A. Conditioning the microenvironment for soft tissue regeneration in a cell free scaffold. **Sci Rep**. 2021 Jun 25;11(1):13310. doi: 10.1038/s41598-021-92732-9.

Hua R, Ni Q, Eliason TD, Han Y, Gu S, Nicolella DP, Wang X, Jiang JX. Biglycan and chondroitin sulfate play pivotal roles in bone toughness via retaining bound water in bone mineral matrix. **Matrix Biol**. 2020 Dec;94:95-109. doi: 10.1016/j.matbio.2020.09.002.

Huang RL, Tremp M, Ho CK, Sun Y, Liu K, Li Q. Prefabrication of a functional bone graft with a pedicled periosteal flap as an in vivo bioreactor. **Sci Rep**. 2017 Dec 21;7(1):18038. doi: 10.1038/s41598-017-17452-5.

Jorge MP, Madjarof C, Gois Ruiz AL, Fernandes AT, Ferreira Rodrigues RA, de Oliveira Sousa IM, Foglio MA, de Carvalho JE. Evaluation of wound healing properties of Arrabidaea chica Verlot extract. **J Ethnopharmacol**. 2008 Aug 13;118(3):361-6. doi: 10.1016/j.jep.2008.04.024.

Karimi F, Farbehi N, Ziaee F, Lau K, Monfared M, Kordanovski M, Joukhdar H, Molly TG, Nordon R, Kilian KA, et al. Photocrosslinked silk fibroin microgel scaffolds for biomedical applications. **Adv Funct Mater**. 2024. <https://doi.org/10.1002/adfm.202313354>.

Klavert J, van der Eerden BCJ. Fibronectin in Fracture Healing: Biological Mechanisms and Regenerative Avenues. **Front Bioeng Biotechnol**. 2021 Apr 16;9:663357. doi: 10.3389/fbioe.2021.663357.

Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. **Expert Rev Mol Med**. 2011;13:e23. doi: 10.1017/S1462399411001943.

Li Y, Xiao Y, Liu C. The Horizon of Materiobiology: A Perspective on Material-Guided Cell Behaviors and Tissue Engineering. **Chem Rev.** 2017 Mar 8;117(5):4376-4421. doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00654.

Mariani E, Lisignoli G, Borzì RM, Pulsatelli L. Biomaterials: Foreign Bodies or Tuners for the Immune Response? **Int J Mol Sci.** 2019 Feb 1;20(3):636. doi: 10.3390/ijms20030636.

Matsiko A, Levingstone TJ, Gleeson JP, O'Brien FJ. Incorporation of TGF-beta 3 within collagen-hyaluronic acid scaffolds improves their chondrogenic potential. **Adv Healthc Mater.** 2015 Jun 3;4(8):1175-9. doi: 10.1002/adhm.201500053.

Nair A, Chuang SC, Lin YS, Chen CH, Fang TC, Chiu HC, Lien CH, Chen SJ. Characterization of collagen response to bone fracture healing using polarization-SHG. **Sci Rep.** 2022 Nov 2;12(1):18453. doi: 10.1038/s41598-022-21876-z.

Nayman A, Seher N, Öztürk M, Özer H, Çelik G. The role of superb microvascular imaging in detecting low-grade inflammation among adults and those with chronic kidney disease: A preliminary study. **Turk J Med Sci.** 2023 Jun;53(3):692-700. doi: 10.55730/1300-0144.5632.

Passias PG, Onafowokan OO, Das A, Mir JM, Yung A and Fisher M (2025) An innovative advance in bone grafting: initial clinical results using a novel integrative bone graft in spinal fusion. **Front. Musculoskelet. Disord.** 2:1459266. doi: 10.3389/fmscd.2024.1459266

S. J. Jiang, M. H. Wang, Z. Y. Wang, H. L. Gao, S. M. Chen, Y. H. Cong, L. Yang, S. M. Wen, D. D. Cheng, J. C. He, S. H. Yu, *Adv. Radially Porous Nanocomposite Scaffolds with Enhanced Capability for Guiding Bone Regeneration In Vivo.* **Funct. Mater.** 2022, **32**, 2110931;

Schiavon G, Capone G, Frize M, Zaffagnini S, Candrian C, Filardo G. Infrared Thermography for the Evaluation of Inflammatory and Degenerative Joint Diseases: A Systematic Review. **Cartilage.** 2021 Dec;13(2_suppl):1790S-1801S. doi: 10.1177/19476035211063862.

Schmidt AH. Autologous bone graft: Is it still the gold standard? **Injury**. 2021 Jun;52 Suppl 2:S18-S22. doi: 10.1016/j.injury.2021.01.043.

Schüttler KF, Bauhofer MW, Ketter V, Giese K, Eschbach DA, Yenigün M, Fuchs-Winkelmann S, Paletta JRJ. Direct incorporation of mesenchymal stem cells into a Nanofiber scaffold - in vitro and in vivo analysis. **Sci Rep**. 2020 Jun 12;10(1):9557. doi: 10.1038/s41598-020-66281-6. PMID: 32533010; PMCID: PMC7293317.

Shi Q, Chen Q, Pugno N, Li ZY. Effect of rehabilitation exercise durations on the dynamic bone repair process by coupling polymer scaffold degradation and bone formation. **Biomech Model Mechan**. 2018 Jun;17(3):763-775. doi: 10.1007/s10237-017-0991-6.

Silva D, Kaduri M, Poley M, Adir O, Krinsky N, Shainsky-Roitman J, Schroeder A. Biocompatibility, biodegradation and excretion of polylactic acid (PLA) in medical implants and theranostic systems. **Chem Eng J**. 2018 May 15;340:9-14. doi: 10.1016/j.cej.2018.01.010.

Singh D, Rai V, Agrawal DK. Regulation of Collagen I and Collagen III in Tissue Injury and Regeneration. **Cardiol Cardiovasc Med**. 2023;7(1):5-16. doi: 10.26502/fccm.92920302. Epub 2023 Jan 20. PMID: 36776717; PMCID: PMC9912297.

Singh S, Nyberg EL, O'Sullivan AN, Farris A, Rindone AN, Zhang N, Whitehead EC, Zhou Y, Mihaly E, Achebe CC, Zbijewski W, Grundy W, Garlick D, Jackson ND, Taguchi T, Takawira C, Lopez J, Lopez MJ, Grant MP, Grayson WL. Point-of-care treatment of geometrically complex midfacial critical-sized bone defects with 3D-Printed scaffolds and autologous stromal vascular fraction. **Biomaterials**. 2022 Mar;282:121392. doi: 10.1016/j.biomaterials.

Stevens MM, Marini RP, Schaefer D, Aronson J, Langer R, Shastri VP. In vivo engineering of organs: the bone bioreactor. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2005 Aug 9;102(32):11450-5. doi: 10.1073/pnas.0504705102.

Sun, Y., Tsui, Yk., Yu, M. *et al*. Integration of a miniaturized DMMB assay with high-throughput screening for identifying regulators of proteoglycan

metabolism. **Sci Rep** 12, 1083 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04805-y>

Szwed-Georgiou A, Płociński P, Kupikowska-Stobba B, Urbaniak MM, Rusek-Wala P, Szustakiewicz K, Piszko P, Krupa A, Biernat M, Gazińska M, Kasprzak M, Nawrotek K, Mira NP, Rudnicka K. Bioactive Materials for Bone Regeneration: Biomolecules and Delivery Systems. **ACS Biomater Sci Eng**. 2023 Sep 11;9(9):5222-5254. doi: 10.1021/acsbiomaterials.3c00609.

Tatara AM, Koons GL, Watson E, Piepergerdes TC, Shah SR, Smith BT, Shum J, Melville JC, Hanna IA, Demian N, Ho T, Ratcliffe A, van den Beucken JJJP, Jansen JA, Wong ME, Mikos AG. Biomaterials-aided mandibular reconstruction using in vivo bioreactors. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2019 Apr 2;116(14):6954-6963. doi: 10.1073/pnas.1819246116.

Trebuňová M, Petroušková P, Balogová AF, Ižaríková G, Horňák P, Bačenkova D, Demeterová J, Živčák J. Evaluation of Biocompatibility of PLA/PHB/TPS Polymer Scaffolds with Different Additives of ATBC and OLA Plasticizers. **J Funct Biomater**. 2023 Aug 4;14(8):412. doi: 10.3390/jfb14080412. PMID: 37

Turnbull G, Clarke J, Picard F, Riches P, Jia L, Han F, Li B, Shu W. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. **Bioact Mater**. 2017 Dec 1;3(3):278-314. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.10.001.

Vallittu PK, Posti JP, Piitulainen JM, Serlo W, Määttä JA, Heino TJ, Pagliari S, Syrjänen SM, Forte G. Biomaterial and implant induced ossification: in vitro and in vivo findings. **J Tissue Eng Regen Med**. 2020 Aug;14(8):1157-1168. doi: 10.1002/term.3056.

Watson E, Pearce HA, Hogan KJ, van Dijk NWM, Smoak MM, Barrios S, Smith BT, Tatara AM, Woernley TC, Shum J, Pearl CB, Melville JC, Ho T, Hanna IA, Demian N, van den Beucken JJJP, Jansen JA, Wong ME, Mikos AG. Repair of complex ovine segmental mandibulectomy utilizing customized tissue engineered bony flaps. **PLoS One**. 2023 Feb 24;18(2):e0280481. doi: 10.1371/journal.pone.0280481.

Watson E, Smith BT, Smoak MM, Tatara AM, Shah SR, Pearce HA, Hogan KJ, Shum J, Melville JC, Hanna IA, Demian N, Wenke JC, Bennett GN, van den Beucken JJJP, Jansen JA, Wong ME, Mikos AG. Localized mandibular infection affects remote in vivo bioreactor bone generation. **Biomaterials**. 2020 Oct;256:120185. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120185.

Wu XS, Wang N. Synthesis, characterization, biodegradation, and drug delivery application of biodegradable lactic/glycolic acid polymers. Part II: biodegradation. **J Biomater Sci Polym** Ed. 2001;12(1):21-34. doi: 10.1163/156856201744425.

Yang P, Lu Y, Gou W, Qin Y, Tan J, Luo G, Zhang Q. Glycosaminoglycans' Ability to Promote Wound Healing: From Native Living Macromolecules to Artificial Biomaterials. **Adv Sci** (Weinh). 2024 Mar;11(9):e2305918. doi: 10.1002/advs.202305918.

Yu L, Cavelier S, Hannon B, Wei M. Recent development in multizonal scaffolds for osteochondral regeneration. **Bioact Mater**. 2023 Feb 2;25:122-159. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.01.012.

Zhang XY, Fang G, Zhou J. Additively Manufactured Scaffolds for Bone Tissue Engineering and the Prediction of their Mechanical Behavior: A Review. **Materials (Basel)**. 2017 Jan 10;10(1):50. doi: 10.3390/ma10010050.

Zhu M, Li W, Dong X, Yuan X, Midgley AC, Chang H, Wang Y, Wang H, Wang K, Ma PX, Wang H, Kong D. In vivo engineered extracellular matrix scaffolds with instructive niches for oriented tissue regeneration. **Nat Commun**. 2019 Oct 11;10(1):4620. doi: 10.1038/s41467-019-12545-3.