

## RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 28/02/2024.



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

**MARINA SANTOS FERNANDES**

**ANÁLISE COMPARATIVA DE NOVOS COMPÓSITOS A BASE  
DE POLÍMERO ASSOCIADO A DIFERENTES VIDROS  
BIOATIVOS: estudo *in vitro* e *in vivo***

2023

**MARINA SANTOS FERNANDES**

**ANÁLISE COMPARATIVA DE NOVOS COMPÓSITOS A BASE DE  
POLÍMERO ASSOCIADO A DIFERENTES VIDROS BIOATIVOS:  
*estudo in vitro e in vivo***

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 MESTRA pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

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

Orientadora: Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. 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).

Fernandes, Marina Santos

Análise comparativa de novos compósitos a base de polímero associado a diferentes vidros bioativos: estudo in vitro e in vivo / Marina Santos Fernandes. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.

93 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, 2023.

Orientadora: Luana Marotta Reis De Vasconcellos.

1. Engenharia tecidual. 2. Osteogênese. 3. Regeneração óssea. 4. Pcl. 5. Vidro bioativo. I. De Vasconcellos, Luana Marotta Reis, 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.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

A regeneração óssea é um desafio clínico em casos de lesões ou doenças ósseas, e com o avanço da tecnologia e dos tratamentos existentes, os biomateriais vêm se mostrando um aliado no tratamento destas injúrias, oferecendo suporte estrutural e melhores condições para a regeneração do tecido acometido. Nesta pesquisa, foi avaliada a produção de novos compósitos, bem como seu comportamento *in vitro* e *in vivo* visando a otimização do reparo ósseo. A metodologia segue o Nível de Maturidade Tecnológica (TRL/MRL) e os resultados obtidos evidenciam o sucesso na produção desses novos biomateriais, bem como informações relevantes quanto à biocompatibilidade e potencial osteogênico/reparador desses *scaffolds*. Esta investigação contribui para a expansão do conhecimento científico, e permite futuras investigações a nível clínico dos biomateriais estudados.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

*Bone regeneration poses a clinical challenge in cases of bone injuries or diseases. With advancements in technology and existing treatments, biomaterials have emerged as allies in the treatment of these injuries by providing structural support and improving conditions for tissue regeneration. This research aimed to evaluate the production of new composites and their behavior in vitro and in vivo to optimize bone repair. The methodology follows the Technology Readiness Level (TRL/MRL), and the results obtained demonstrate the successful production of these new scaffolds, as well as relevant information regarding their biocompatibility and osteogenic/repair potential. This investigation contributes to the expansion of scientific knowledge and enables future clinical investigations of the studied biomaterials.*

## **BANCA EXAMINADORA**

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

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

**Profa. Assoc. Roberta Okamoto**

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Faculdade de Odontologia de Araçatuba/UNESP

Araçatuba

**Profa. Assoc. Andrea Carvalho de Marco**

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

São José dos Campos, 28 de agosto de 2023.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me sustentar a todo momento, iluminar minha jornada e sempre guiar meu caminho.

À minha família, por todo apoio e incentivo à minha educação, essa é a herança mais preciosa que podemos deixar.

Ao meu irmão, Carlos, que sempre cuidou de mim com muito carinho, mas que durante esse período não mediu esforços para me ver bem. Você é minha maior inspiração!

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Luana, você sempre foi muito mais que uma orientadora. Obrigada por acompanhar meu crescimento profissional e pessoal ao longo desses anos, e sempre torcer por mim.

À Prof<sup>a</sup> Andrea Carvalho de Marco e Prof<sup>a</sup> Roberta Okamoto, pelo aceite na banca de defesa, e por tirarem esse momento para contribuir na minha formação.

Ao meu namorado, Luccas, que com muita paciência e amor, me motiva e me incentiva a correr atrás dos meus sonhos. A caminhada fica mais leve ao seu lado.

Às minhas amigas Beatriz e Elisa. O tempo passa, a distância muda, a vida muda, e a nossa amizade só se fortalece. Obrigada por tanto!

Às minhas amigas da vida: Mariana, Tainá, Jacqueline e Rafaela. Eu amo compartilhar a vida com vocês!

À Gabriele, Isabela e Isadora, por transformar nossa casa em um lar, e trazer riso até nos dias mais cinzas.

Às amigas que o mestrado me deu, Gabriela, Letícia e Sarah. Vocês foram meu braço direito e trouxeram leveza quando tudo estava dando errado. Sou muito grata pela amizade que construímos.

Aos meus colegas de laboratório e biotério: Hugo, Ju Lupp, Juliani, Leo, Mari, Vini, Thays, Bia, Júlia, Elisa e Joyce, pela ótima convivência, parceria e responsabilidade durante todos os momentos, torço muito por todos vocês!

Ao Prof. Tiago Campos e Prof. Gilmar Thim, por abrir as portas do ITA e pela imensa parceria ao desenvolver esse trabalho.

Aos docentes do ICT UNESP, em especial ao Prof. Alexandre Borges, pela parceria nesse trabalho, por acreditar no meu potencial e ter plantado a semente do intercâmbio em mim. E à Profa. Renata Falchete, que conseguiu simplificar

conceitos e compartilhou comigo sua maneira de ver a ciência, admiro muito sua paixão pela pesquisa!

À Lais Morandini, Prof. Rene e todo o grupo do Olivares-Navarrete Lab por me receberem de braços abertos em outro laboratório e outro país, vocês não mediram esforços para que eu aprendesse. Essa experiência foi extremamente enriquecedora para o meu crescimento.

Aos funcionários do ICT UNESP, e ao programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB) que me acompanharam e me auxiliaram durante todo esse período. Especialmente à Carla, Carlos Guedes, Carol, Sandra, Sérgio, Domingos, Valéria e Rafa, obrigada pelo suporte durante o desenvolvimento da minha pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP), pela concessão das bolsas de Mestrado Acadêmico e Estágio de Pesquisa no Exterior (Processo 2021/09544-0 e 2022/09045-6).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa durante o período de abril/2021 - abril/2022 (Processo: 130596/2021-3).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos animais que foram utilizados nesta pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

“Uma criança, um professor, um livro e uma caneta podem mudar o mundo.”

Malala Yousafzai

## RESUMO

Fernandes MS. Análise comparativa de novos compósitos a base de polímero associado a diferentes vidros bioativos: estudo *in vitro* e *in vivo* [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

O avanço no campo da engenharia tecidual e biomateriais conduz ao aprimoramento dos tratamentos e tecnologias já existentes, visando otimizar a resolução de injúrias e permitir tratamentos cada vez mais eficientes para a população. Desta maneira, o objetivo deste estudo foi produzir e caracterizar *scaffolds* de policaprolactona (PCL) incorporadas com três formulações diferentes de vidro bioativo, bem como avaliar a influência destas na osteogênese *in vitro* e na neoformação óssea *in vivo*. Para isso, foram obtidos quatro grupos experimentais: PCL (P), PCL incorporado com o vidro bioativo 45S5 (P45), PCL incorporado com o vidro bioativo S53P4 (P53) e PCL incorporado com o vidro bioativo 58S (P58). A síntese de todos os vidros foi realizada pela rota Sol-Gel, os quais foram incorporados à solução de PCL previamente à produção dos *scaffolds* por meio do processo de eletrofiação. Posteriormente à caracterização morfológica e físico-química, os *scaffolds* foram submetidas aos testes biológicos *in vitro* e *in vivo*. Na etapa *in vitro*, células da medula óssea obtidas de fêmures de ratos foram isoladas e plaqueadas com os *scaffolds*, visando avaliar a influência destas na atividade e diferenciação celular na osteogênese. Para o ensaio *in vivo*, 30 ratos Wistar foram submetidos ao procedimento cirúrgico para confecção de um defeito crítico de 3,0 mm nas tíbias direita e esquerda para avaliação dos *scaffolds*. A eutanásia dos animais foi realizada após 4 semanas do procedimento cirúrgico, e as peças foram submetidas à análise histológica, imuno-histoquímica (IHC), histomorfométrica e ao teste biomecânico de flexão de três pontos. Os dados obtidos foram estatisticamente analisados pelo teste ANOVA um fator, com nível de significância adotado de 5%. A caracterização morfológica e físico-química evidenciou o sucesso da referida metodologia em confeccionar o novo biomaterial. Na análise *in vitro*, observou-se que os *scaffolds* não foram citotóxicos, e permitiram atividade e diferenciação celular, sendo que o grupo P exibiu maior conteúdo de proteína total ( $p < 0,05$ ) em ambos os períodos analisados, e os grupos P53 e P58 exibiram maior atividade de fosfatase alcalina (ALP), não diferindo entre si ( $p > 0,0001$ ) enquanto P exibiu menor atividade, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Todos os grupos permitiram a formação de nódulos de mineralização, e foi observado maior quantificação de Alizarina nos grupos P45, P53 e P58 quando comparados ao grupo P ( $p < 0,05$ ). Na análise histológica foi observada a presença de neoformação óssea na região do defeito crítico em todos os grupos. A IHC evidenciou a imunomarcagem por osteocalcina (OC) e TRAP. Na análise histomorfométrica foi observada maior formação nos grupos P45 e P53, os quais não diferiram entre si ( $p > 0,0001$ ). O teste

biomecânico evidenciou que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p>0,05$ ) ao avaliar a força de ruptura das tíbias. Os resultados evidenciaram o sucesso na produção do novo compósito, sendo que os grupos contendo vidro bioativo, em especial o grupo P53, se mostraram mais osteoativos e osteocondutores quando comparado ao grupo P, e evidenciam o potencial uso na engenharia tecidual.

Palavras-chave: biomateriais; engenharia tecidual; nanofibras; osteogênese; regeneração óssea; vidro bioativo.

## ABSTRACT

Fernandes MS. Comparative analysis of novel polymer-based composites associated with different bioactive glasses: *in vitro* and *in vivo* study [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

Advancements in the field of tissue engineering and biomaterials lead to the enhancement of existing treatments and technologies, aiming to optimize injury resolution and enable increasingly efficient treatments for the population. Thus, the objective of this study was to produce and characterize polycaprolactone (PCL) scaffolds incorporated with three different formulations of bioactive glass, as well as to evaluate their influence on *in vitro* osteogenesis and *in vivo* bone neoformation. To achieve this, four experimental groups were established: PCL (P), PCL incorporated with 45S5 bioactive glass (P45), PCL incorporated with S53P4 bioactive glass (P53), and PCL incorporated with 58S bioactive glass (P58). The synthesis of all glasses was carried out via the Sol-Gel route, and they were subsequently integrated into the PCL solution prior to scaffold production through the electrospinning process. Following morphological and physicochemical characterization, the scaffolds underwent *in vitro* and *in vivo* biological testing. In the *in vitro* phase, bone marrow cells obtained from rat femurs were isolated and plated with the scaffolds to assess their influence on cellular activity and differentiation in osteogenesis. For the *in vivo* assay, 30 Wistar rats underwent a surgical procedure to create a 3.0 mm critical defect in the right and left tibias for the evaluation of the scaffolds. Euthanasia of the animals was performed after 4 weeks of the surgical procedure, and the specimens were subjected to histological analysis, immunohistochemistry (IHC), histomorphometric analysis, and a three-point bending biomechanical test. The data obtained were statistically analyzed using a one-way ANOVA with a significance level set at 5%. Morphological and physicochemical characterization confirmed the success of the aforementioned methodology in fabricating the new biomaterial. In the *in vitro* analysis, it was observed that the scaffolds were not cytotoxic and allowed for cellular activity and differentiation. Group P exhibited a higher total protein content ( $p < 0.05$ ) in both analyzed periods, and groups P53 and P58 displayed greater alkaline phosphatase (ALP) activity, with no significant difference between them ( $p > 0.0001$ ), while P exhibited lower activity, differing statistically ( $p < 0.05$ ). All groups supported the formation of mineralization nodules, with a higher quantification of Alizarin observed in the P45, P53, and P58 groups compared to the P group ( $p < 0.05$ ). Histological analysis revealed the presence of bone neoformation in the critical defect region in all groups. IHC showed immunolabeling for osteocalcin (OC) and TRAP. Histomorphometric analysis revealed greater formation in the P45 and P53 groups, which did not differ from each other ( $p > 0.0001$ ). The biomechanical test indicated no statistically significant difference between the groups ( $p > 0.05$ ) when evaluating tibial rupture strength. The results demonstrated the success in producing the new composite, with the bioactive glass-containing groups, especially the P53 group, showing greater osteoactivity and osteoconductivity compared to the P group, highlighting their potential for use in tissue engineering.

*Keywords: biomaterials; bioactive glass; bone regeneration; nanofibers; osteogenesis; tissue engineering.*

## SUMÁRIO

|                                                                               |           |
|-------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                                     | <b>14</b> |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>                                           | <b>18</b> |
| <b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>                                                     | <b>23</b> |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                              | <b>24</b> |
| 4.1 Aspectos éticos .....                                                     | 24        |
| 4.2 Síntese dos compósitos .....                                              | 24        |
| 4.2.1 Síntese dos vidros bioativos 45S5, S53P4 e 58S.....                     | 24        |
| 4.2.2 Síntese da solução de PCL.....                                          | 25        |
| 4.2.3 Síntese da solução de PCL com os vidros bioativos .....                 | 25        |
| 4.2.4 Eletrofiação das mantas .....                                           | 26        |
| 4.3 Caracterização morfológica das amostras.....                              | 28        |
| 4.3.1 Análise da topografia superficial das amostras (MEV-FEG).....           | 28        |
| 4.3.2 Análise do diâmetro médio das fibras poliméricas .....                  | 29        |
| 4.3.3 Análise da molhabilidade.....                                           | 30        |
| 4.4 Caracterização físico-química.....                                        | 31        |
| 4.4.1 Espectroscopia Raman .....                                              | 31        |
| 4.4.2 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....                         | 31        |
| 4.4.3 Análise termogravimétrica (TGA).....                                    | 31        |
| 4.5 Ensaios biológicos <i>in vitro</i> .....                                  | 32        |
| 4.5.1 Isolamento e cultura celular .....                                      | 32        |
| 4.5.2 Determinação da viabilidade celular .....                               | 35        |
| 4.5.3 Análise do conteúdo de proteína total.....                              | 35        |
| 4.5.4 Atividade de Fosfatase Alcalina (ALP) .....                             | 35        |
| 4.5.5 Formação e quantificação de Alizarina nos nódulos de mineralização .... | 36        |
| 4.5.6 Análise da morfologia celular por imunofluorescência .....              | 36        |
| 4.5.7 Interação celular .....                                                 | 37        |
| 4.6 Ensaios <i>in vivo</i> .....                                              | 37        |
| 4.6.1 Procedimento cirúrgico .....                                            | 38        |
| 4.6.2 Teste de flexão de três pontos .....                                    | 40        |
| 4.6.3 Análise histológica e histomorfométrica.....                            | 42        |

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.6.4 Análise imuno-histoquímica (IHC) .....                                 | 43 |
| 5 RESULTADO .....                                                            | 45 |
| 5.1 Caracterização morfológica das amostras.....                             | 45 |
| 5.1.1 Análise da topografia superficial das amostras .....                   | 45 |
| 5.1.2 Análise do diâmetro médio das fibras .....                             | 47 |
| 5.1.3 Análise da molhabilidade.....                                          | 48 |
| 5.2 Caracterização físico-química das amostras .....                         | 50 |
| 5.2.1 Espectroscopia Raman .....                                             | 50 |
| 5.2.2 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....                        | 51 |
| 5.2.3 Análise Termogravimétrica (TGA).....                                   | 54 |
| 5.3 Ensaios biológicos <i>in vitro</i> .....                                 | 55 |
| 5.3.1 Determinação da viabilidade celular.....                               | 55 |
| 5.3.2 Análise do conteúdo de proteína total.....                             | 56 |
| 5.3.3 Atividade de fosfatase alcalina (ALP) .....                            | 57 |
| 5.3.4 Formação e quantificação de Alizarina nos nódulos de mineralização.... | 58 |
| 5.3.5 Análise da morfologia celular por imunofluorescência .....             | 60 |
| 5.3.6 Interação celular .....                                                | 61 |
| 5.4 Ensaios <i>in vivo</i> .....                                             | 63 |
| 5.4.1 Avaliação biomecânica .....                                            | 63 |
| 5.4.2 Análise histológica.....                                               | 64 |
| 5.4.3 Análise histomorfométrica .....                                        | 67 |
| 5.4.4 Análise imuno-histoquímica.....                                        | 68 |
| 6 DISCUSSÃO .....                                                            | 74 |
| 7 CONCLUSÃO .....                                                            | 80 |
| REFERÊNCIAS.....                                                             | 81 |
| ANEXO A .....                                                                | 92 |

## 7 CONCLUSÃO

Por meio da metodologia e testes desenvolvidos, é possível afirmar que a hipótese foi bem formulada e respondida.

Em relação à síntese do biomaterial, foi observado o sucesso na produção dos *scaffolds* formado por um compósito de nanofibras de PCL com vidros bioativos, 45S5, S53P4 e 58S, pela técnica de eletrofiação, confirmado pela metodologia físico-química e morfológica.

Os resultados *in vitro* e *in vivo* revelaram que a incorporação dos vidros bioativos foi capaz de aumentar a biocompatibilidade e bioatividade do polímero base utilizado (PCL). Estes resultados revelaram ainda que os *scaffolds* não foram citotóxicos, e permitiram a atividade e diferenciação celular, bem como indicaram maior tendência a neoformação óssea, confirmada estatisticamente no grupo P53.

Sendo assim, os *scaffolds* de PCL incorporadas aos vidros bioativos 45S5, S53P4 e 58S se mostraram promissoras para a bioengenharia óssea, visando seu uso para regeneração tecidual.

## REFERÊNCIAS

- Agarwal R, García AJ. Biomaterial strategies for engineering implants for enhanced osseointegration and bone repair. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015 Nov 1;94:53-62. doi: 10.1016/j.addr.2015.03.013. Epub 2015 Apr 8. PMID: 25861724; PMCID: PMC4598264.
- Allan I, Newman H, Wilson M. Antibacterial activity of particulate bioglass against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials.* 2001 Jun;22(12):1683-7. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00330-6. PMID: 11374470.
- Ali S, Farooq I, Iqbal K. A review of the effect of various ions on the properties and the clinical applications of novel bioactive glasses in medicine and dentistry. *Saudi Dent J.* 2014 Jan;26(1):1-5. doi: 10.1016/j.sdentj.2013.12.001. Epub 2013 Dec 15. PMID: 24526822; PMCID: PMC3923171.
- 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.
- Anindyajati A, Boughton P, Ruys AJ. Mechanical and Cytocompatibility Evaluation of UHMWPE/PCL/Bioglass® Fibrous Composite for Acetabular Labrum Implant. *Materials (Basel).* 2019 Mar 19;12(6):916. doi: 10.3390/ma12060916. PMID: 30893909; PMCID: PMC6470684.
- Ardeshirylajimi A, Farhadian S, Adegani FJ, Mirzaei S, Zomorrod MS, Langroudi L, et al. Enhanced osteoconductivity of polyethersulphone nanofibres loaded with bioactive glass nanoparticles in in vitro and in vivo models. *Cell Prolif.* 2015 Aug;48(4):455-64. doi: 10.1111/cpr.12198. Epub 2015 Jun 29. PMID: 26121911; PMCID: PMC6496773.
- Aurégan JC, Bégué T. Bioactive glass for long bone infection: a systematic review. *Injury.* 2015 Dec;46 Suppl 8:S3-7. doi: 10.1016/S0020-1383(15)30048-6. PMID: 26747915.
- Aurégan JC, Villain B, Glombitza M, Blokhuis T, Heinänen M, Bégué T. Utilization of bioactive glass S53P4 inside an induced membrane for severe bone defect with high risk of infection: a multi-center preliminary experience. *Injury.* 2022 Oct;53 Suppl 2:S13-S19. doi: 10.1016/j.injury.2022.07.027. Epub 2022 Jul 17. PMID: 35871084.
- Baino F, Fiorilli S, Vitale-Brovarone C. Bioactive glass-based materials with hierarchical porosity for medical applications: Review of recent advances. *Acta Biomater.* 2016 Sep 15;42:18-32. doi: 10.1016/j.actbio.2016.06.033. Epub 2016 Jun 28. PMID: 27370907.
- Banfi G, Lombardi G, Colombini A, Lippi G. Bone metabolism markers in sports medicine. *Sports Med.* 2010 Aug 1;40(8):697-714. doi: 10.2165/11533090-000000000-00000. PMID: 20632739.

Banimohamad-Shotorbani B, Rahmani Del Bakhshayesh A, Mehdipour A, Jarolmasjed S, Shafaei H. The efficiency of PCL/HAp electrospun nanofibers in bone regeneration: a review. *J Med Eng Technol*. 2021 Oct;45(7):511-531. doi: 10.1080/03091902.2021.1893396. Epub 2021 Jul 12. PMID: 34251971.

Basal O, Ozmen O, Deliormanlı AM. Bone Healing in Rat Segmental Femur Defects with Graphene-PCL-Coated Borate-Based Bioactive Glass Scaffolds. *Polymers (Basel)*. 2022 Sep 18;14(18):3898. doi: 10.3390/polym14183898. PMID: 36146043; PMCID: PMC9500610.

Bellucci D, Chiellini F, Ciardelli G, Gazzarri M, Gentile P, Sola A, et al. Processing and characterization of innovative scaffolds for bone tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med*. 2012 Jun;23(6):1397-409. doi: 10.1007/s10856-012-4622-6. Epub 2012 Mar 23. PMID: 22441671.

Brauer DS. Bioactive glasses—structure and properties. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2015 Mar 27;54(14):4160-81. doi: 10.1002/anie.201405310. Epub 2015 Mar 12. PMID: 25765017.

Calori IR, Braga G, Carvalho de Jesus PC, Bi H, Tedesco AC. Polymer Scaffolds as Drug Delivery Systems. *Eur Polymer J*. 2020 March 19;109621. doi:10.1016/j.eurpolymj.2020.109621

Chen X, Karpukhina N, Brauer DS, Hill RG. High chloride content calcium silicate glasses. *Phys Chem Chem Phys*. 2017 Mar 8;19(10):7078-7085. doi: 10.1039/c6cp07905a. PMID: 28225127.

Chen X, Karpukhina N, Brauer DS, Hill RG. Novel highly degradable chloride containing bioactive glasses. *Biomed Glas*. 2015;1:108-118. doi:10.1515/bglass-2015-001012.

Cannio M, Bellucci D, Roether JA, Boccaccini DN, Cannillo V. Bioactive Glass Applications: A Literature Review of Human Clinical Trials. *Materials (Basel)*. 2021 Sep 20;14(18):5440. doi: 10.3390/ma14185440. PMID: 34576662; PMCID: PMC8470635.

Cohen J. Biomaterials in orthopedic surgery. *Am J Surg*. 1967 Jul;114(1):31-41. doi: 10.1016/0002-9610(67)90037-2. PMID: 5338210.

Codrea CI, Croitoru AM, Baciuc CC, Melinescu A, Ficai D, Fruth V, et al. Advances in Osteoporotic Bone Tissue Engineering. *J Clin Med*. 2021 Jan 12;10(2):253. doi: 10.3390/jcm10020253. PMID: 33445513; PMCID: PMC7827332.

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. Epub 2020 Apr 21. PMID: 32331941.

Davari A, Ataei E, Assarzadeh H. Dentin hypersensitivity: etiology, diagnosis and treatment; a literature review. *J Dent (Shiraz)*. 2013 Sep;14(3):136-45. PMID: 24724135; PMCID: PMC3927677.

da Fonseca GF, Avelino SOM, Mello DCR, do Prado RF, Campos TMB, de Vasconcellos LMR, et al. Scaffolds of PCL combined to bioglass: synthesis, characterization and biological performance. *J Mater Sci Mater Med*. 2020 Apr 29;31(5):41. doi: 10.1007/s10856-020-06382-w. PMID: 32350625.

de Andrade DP, de Vasconcellos LM, Carvalho IC, Forte LF, de Souza Santos EL, Prado RF, et al. Titanium-35niobium alloy as a potential material for biomedical implants: In vitro study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015 Nov 1;56:538-44. doi: 10.1016/j.msec.2015.07.026. Epub 2015 Jul 16. PMID: 26249625.

do Prado RF, Esteves GC, Santos ELS, Bueno DAG, Cairo CAA, Vasconcellos LGO, et al. In vitro and in vivo biological performance of porous Ti alloys prepared by powder metallurgy. *PLoS One*. 2018 May 17;13(5):e0196169. doi: 10.1371/journal.pone.0196169. PMID: 29771925; PMCID: PMC5957353.

Ding H, Cheng Y, Niu X, Hu Y. Application of electrospun nanofibers in bone, cartilage and osteochondral tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2021 Mar;32(4):536-561. doi: 10.1080/09205063.2020.1849922. Epub 2020 Dec 6. PMID: 33175667.

Ding Y, Liu X, Zhang J, Lv Z, Meng X, Yuan Z, Long T, Wang Y. 3D printing polylactic acid polymer-bioactive glass loaded with bone cement for bone defect in weight-bearing area. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022 Jul 25;10:947521. doi: 10.3389/fbioe.2022.947521. PMID: 35957643; PMCID: PMC9358041.

Drago L, Romanò D, De Vecchi E, Vassena C, Logoluso N, Mattina R, et al. Bioactive glass BAG-S53P4 for the adjunctive treatment of chronic osteomyelitis of the long bones: an in vitro and prospective clinical study. *BMC Infect Dis*. 2013 Dec 10;13:584. doi: 10.1186/1471-2334-13-584. PMID: 24325278; PMCID: PMC3878882.

Drago L, Toscano M, Bottagisio M. Recent Evidence on Bioactive Glass Antimicrobial and Antibiofilm Activity: A Mini-Review. *Materials (Basel)*. 2018 Feb 24;11(2):326. doi: 10.3390/ma11020326. PMID: 29495292; PMCID: PMC5849023.

Dziemidowicz K, Sang Q, Wu J, Zhang Z, Zhou F, Lagaron JM, et al. Electrospinning for healthcare: recent advancements. *J Mater Chem B*. 2021 Jan 28;9(4):939-951. doi: 10.1039/d0tb02124e. Epub 2020 Dec 24. PMID: 33367446.

Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*. 2006 Aug 25;126(4):677-89. doi: 10.1016/j.cell.2006.06.044. PMID: 16923388.

Eriksson E, Björkenheim R, Strömberg G, Ainola M, Uppstu P, Aalto-Setälä L, et al. S53P4 bioactive glass scaffolds induce BMP expression and integrative bone

formation in a critical-sized diaphysis defect treated with a single-staged induced membrane technique. *Acta Biomater.* 2021 May;126:463-476. doi: 10.1016/j.actbio.2021.03.035. Epub 2021 Mar 25. PMID: 33774197.

Fedchenko N, Reifenrath J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagn Pathol.* 2014 Nov 29;9:221. doi: 10.1186/s13000-014-0221-9. PMID: 25432701; PMCID: PMC4260254.

Fiume E, Barberi J, Verné E, Baino F. Bioactive Glasses: From Parent 45S5 Composition to Scaffold-Assisted Tissue-Healing Therapies. *J Funct Biomater.* 2018 Mar 16;9(1):24. doi: 10.3390/jfb9010024. PMID: 29547544; PMCID: PMC5872110.

Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746. doi: 10.1155/2015/421746. Epub 2015 Jul 13. PMID: 26247020; PMCID: PMC4515490.

Forsback AP, Areva S, Salonen JI. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2004 Feb;62(1):14-20. doi: 10.1080/00016350310008012. PMID: 15124778.

Francis L, Venugopal J, Prabhakaran MP, Thavasi V, Marsano E, Ramakrishna S. Simultaneous electrospin-electrosprayed biocomposite nanofibrous scaffolds for bone tissue regeneration. *Acta Biomater.* 2010 Oct;6(10):4100-9. doi: 10.1016/j.actbio.2010.05.001. Epub 2010 May 11. PMID: 20466085.

Gao W , Jin W , Li Y , Wan L , Wang C , Lin C , et al. A highly bioactive bone extracellular matrix-biomimetic nanofibrous system with rapid angiogenesis promotes diabetic wound healing. *J Mater Chem B.* 2017 Sep 21;5(35):7285-7296. doi: 10.1039/c7tb01484h. Epub 2017 Aug 7. PMID: 32264178.

Godoy-Santos AL, Rosemberg LA, de Cesar-Netto C, Armstrong DG. The use of bioactive glass S53P4 in the treatment of an infected Charcot foot: a case report. *J Wound Care.* 2019 Jan 1;28(Sup1):S14-S17. doi: 10.12968/jowc.2019.28.Sup1.S14. PMID: 30724119.

Gomes SR, Rodrigues G, Martins GG, Roberto MA, Mafra M, Henriques CM, et al. Invitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: a comparative study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015 Jan;46:348-58. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.051. Epub 2014 Oct 23. PMID: 25491997.

Gómez-Cerezo N, Casarrubios L, Saiz-Pardo M, Ortega L, de Pablo D, Díaz-Güemes I, et al. Mesoporous bioactive glass/*l*-polycaprolactone scaffolds promote bone regeneration in osteoporotic sheep. *Acta Biomater.* 2019 May;90:393-402. doi: 10.1016/j.actbio.2019.04.019. Epub 2019 Apr 6. PMID: 30965142; PMCID: PMC6726488.

Gomez-Vega JM, Saiz E, Tomsia AP, Marshall GW, Marshall SJ. Bioactive glass coatings with hydroxyapatite and Bioglass particles on Ti-based implants. 1. Processing. *Biomaterials*. 2000 Jan;21(2):105-11. doi: 10.1016/s0142-9612(99)00131-3. PMID: 10632392.

Gong WY, Dong YM, Chen XF, Karabucak B. Nano-sized 58S bioactive glass enhances proliferation and osteogenic genes expression of osteoblast-like cells. *Chin J Dent Res*. 2012;15(2):145-52. PMID: 23509836.

González P, Serra J, Liste S, Chiussi S, León B, Pérez-Amor M. Raman spectroscopic study of bioactive silica based glasses. *J of Non-Crystalline Solids*. 2003; 320(1-3), 92–99. doi:10.1016/s0022-3093(03)00013-9

Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Monitoring of Metabolic Bone Disease. *Clin Chem*. 2017 Feb;63(2):464-474. doi: 10.1373/clinchem.2016.259085. Epub 2016 Dec 9. PMID: 27940448; PMCID: PMC5549920.

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. doi: 10.1016/j.ab.2004.02.002. PMID: 15136169.

Gubler M, Brunner TJ, Zehnder M, Waltimo T, Sener B, Stark WJ. Do bioactive glasses convey a disinfecting mechanism beyond a mere increase in pH? *Int Endod J*. 2008 Aug;41(8):670-8. doi: 10.1111/j.1365-2591.2008.01413.x. Epub 2008 Jun 28. PMID: 18554188.

Guimarães CCL, de Souza JR, Campos TMB, Marques TO, Kito LT, Kukulka EC, et al. Chlorinated-based bioceramics incorporated in polycaprolactone membranes. *J Biomed Mater Res*. 2023; 1-11. doi:10.1002/jbm.b.35315

Hench LL, Clarck Jr AE, Schaafe HF. *Int Int. J. Non-Cryst. Sol.* 8–10 (1972) 837

Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):967-978. doi:10.1007/s10856-006-0432-z

Hench LL, West JK. Biological Applications of Bioactive Glasses. *Life Chemistry Reports*. 1996;13, 187-241

Henkel J, Woodruff MA, Epari DR, Steck R, Glatt V, Dickinson IC, et al. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions - A 21st Century Perspective. *Bone Res*. 2013 Sep 25;1(3):216-48. doi: 10.4248/BR201303002. PMID: 26273505; PMCID: PMC4472104.

Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*. 2011

Apr;32(11):2757-74. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.004. Epub 2011 Feb 2. PMID: 21292319.

Hutmacher DW. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*. 2000 Dec;21(24):2529-43. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00121-6. PMID: 11071603.

Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater*. 2013 Jan;9(1):4457-86. doi: 10.1016/j.actbio.2012.08.023. Epub 2012 Aug 21. PMID: 22922331.

Jones JR, Brauer DS, Hupa L, Greenspan DC. Bioglass and Bioactive Glasses and Their Impact on Healthcare. *Int J Appl Glas Sci*. 2016;7(4):423–34. doi: 10.1111/ijag.12252

Joughehdoust S, Manafi S. Synthesis and in vitro investigation of sol-gel derived bioglass-58S nanopowders. *Materials Science-Poland*. 2012; 30(1), 45–52. doi:10.2478/s13536-012-0007-2

Iaquinta MR, Mazzoni E, Manfrini M, D'Agostino A, Trevisiol L, Nocini R, et al. Innovative Biomaterials for Bone Regrowth. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan 31;20(3):618. doi: 10.3390/ijms20030618. PMID: 30709008; PMCID: PMC6387157.

Kastrin M, Urbančič Rovar V, Frangež I. Possible Advantages of S53P4 Bioactive Glass in the Treatment of Septic Osteoarthritis of the First Metatarsophalangeal Joint in the Diabetic Foot. *J Clin Med*. 2021 Mar 15;10(6):1208. doi: 10.3390/jcm10061208. PMID: 33803930; PMCID: PMC8000728.

Kaur G, Pickrell G, Sriranganathan N, Kumar V, Homa D. Review and the state of the art: Sol-gel and melt quenched bioactive glasses for tissue engineering. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016 Aug;104(6):1248-75. doi: 10.1002/jbm.b.33443. Epub 2015 Jun 9. PMID: 26060931.

Kiyoi T. Histological Analysis of Arthritic Joints. *Methods Mol Biol*. 2018;1868:29-39. doi: 10.1007/978-1-4939-8802-0\_5. PMID: 30244452.

Knabe C, Kraska B, Koch C, Gross U, Zreiqat H, Stiller M. A method for immunohistochemical detection of osteogenic markers in undecalcified bone sections. *Biotech Histochem*. 2006 Jan-Feb;81(1):31-9. doi: 10.1080/10520290600725474. PMID: 16760125.

Koblenzer M, Weiler M, Fragoulis A, Rütten S, Pufe T, Jahr H. Physiological Mineralization during In Vitro Osteogenesis in a Biomimetic Spheroid Culture Model. *Cells*. 2022 Aug 30;11(17):2702. doi: 10.3390/cells11172702. PMID: 36078105; PMCID: PMC9454617.

Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res*. 2013 Apr;4(2):78-83. doi: 10.4103/2231-4040.111523. PMID: 23833747; PMCID: PMC3696226.

Langer R, Vacanti J. Advances in tissue engineering. *J Pediatr Surg*. 2016 Jan;51(1):8-12. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022. Epub 2015 Nov 10. PMID: 26711689; PMCID: PMC4733916.

Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*. 1993 May 14;260(5110):920-6. doi: 10.1126/science.8493529. PMID: 8493529.

La Vars SM, Johnston MR, Hayles J, Gascooke JR, Brown MH, Leterme SC, et al.  $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$  CP-MAS NMR comparison and ATR-FTIR spectroscopic analysis of the diatoms *Chaetoceros muelleri* and *Thalassiosira pseudonana* grown at different salinities. *Anal Bioanal Chem*. 2013 Apr;405(10):3359-65. doi: 10.1007/s00216-013-6746-z. Epub 2013 Jan 31. PMID: 23371532.

Li H, Chen S, Wu Y, Jiang J, Ge Y, Gao K, et al. Enhancement of the osseointegration of a polyethylene terephthalate artificial ligament graft in a bone tunnel using 58S bioglass. *Int Orthop*. 2012 Jan;36(1):191-7. doi: 10.1007/s00264-011-1275-x. Epub 2011 May 17. PMID: 21584642; PMCID: PMC3251679.

Liang W, Wu X, Dong Y, Shao R, Chen X, Zhou P, et al. In vivo behavior of bioactive glass-based composites in animal models for bone regeneration. *Biomater Sci*. 2021 Mar 21;9(6):1924-1944. doi: 10.1039/d0bm01663b. Epub 2021 Jan 28. PMID: 33506819.

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

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

Luo H, Zhang Y, Li G, Tu J, Yang Z, Xiong G, et al. Sacrificial template method for the synthesis of three-dimensional nanofibrous 58S bioglass scaffold and its in vitro bioactivity and cell responses. *J Biomater Appl*. 2017 Aug;32(2):265-275. doi: 10.1177/0885328217715784. Epub 2017 Jun 15. PMID: 28618977.

Marra KG, Szem JW, Kumta PN, DiMilla PA, Weiss LE. In vitro analysis of biodegradable polymer blend/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering. *J Biomed Mater Res*. 1999 Dec 5;47(3):324-35. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(19991205)47:3<324::aid-jbm6>3.0.co;2-y. PMID: 10487883.

Marin E, Boschetto F, Pezzotti G. Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. *J Biomed Mater Res A*. 2020 Aug 1;108(8):1617-1633. doi: 10.1002/jbm.a.36930. Epub 2020 Mar 31. PMID: 32196949.

Maquet V, Boccaccini AR, Pravata L, Notingher I, Jérôme R. Preparation, characterization, and in vitro degradation of bioresorbable and bioactive composites based on Bioglass-filled polylactide foams. *J Biomed Mater Res A*. 2003 Aug 1;66(2):335-46. doi: 10.1002/jbm.a.10587. PMID: 12889004.

Martin V, Bettencourt A. Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018 Jan 1;82:363-371. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.038. Epub 2017 Apr 11. PMID: 29025670.

Miguez-Pacheco V, Hench LL, Boccaccini AR. Bioactive glasses beyond bone and teeth: emerging applications in contact with soft tissues. *Acta Biomater*. 2015 Feb;13:1-15. doi: 10.1016/j.actbio.2014.11.004. Epub 2014 Nov 11. PMID: 25462853.

Misra SK, Ansari T, Mohn D, Valappil SP, Brunner TJ, Stark WJ, et al. Effect of nanoparticulate bioactive glass particles on bioactivity and cytocompatibility of poly(3-hydroxybutyrate) composites. *J R Soc Interface*. 2010 Mar 6;7(44):453-65. doi: 10.1098/rsif.2009.0255. Epub 2009 Jul 29. PMID: 19640877; PMCID: PMC2842795.

Murphy R, Turcott A, Banuelos L, Dowe E, Goodwin B, Cardinal KO. SIMPoly: A Matlab-Based Image Analysis Tool to Measure Electrospun Polymer Scaffold Fiber Diameter. *Tissue Eng Part C Methods*. 2020 Dec;26(12):628-636. doi: 10.1089/ten.TEC.2020.0304. PMID: 33256558; PMCID: PMC7768983.

Obukuro M, Takahashi Y, Shimizu H. Effect of diameter of glass fibers on flexural properties of fiber-reinforced composites. *Dent Mater J*. 2008 Jul;27(4):541-8. doi: 10.4012/dmj.27.541. PMID: 18833767.

Oonishi H, Kushitani S, Yasukawa E, Iwaki H, Hench LL, Wilson J, et al. Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as a bone graft substitute. *Clin Orthop Relat Res*. 1997 Jan;(334):316-25. PMID: 9005929.

Park H, Collignon AM, Lepry WC, Ramirez-GarciaLuna JL, Rosenzweig DH, Chaussain C, et al. Acellular dense collagen-S53P4 bioactive glass hybrid gel scaffolds form more bone than stem cell delivered constructs. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2021 Jan;120:111743. doi: 10.1016/j.msec.2020.111743. Epub 2020 Nov 21. PMID: 33545885.

Park YJ, Cha JH, Bang SI, Kim SY. Clinical Application of Three-Dimensionally Printed Biomaterial Polycaprolactone (PCL) in Augmentation Rhinoplasty. *Aesthetic Plast Surg*. 2019 Apr;43(2):437-446. doi: 10.1007/s00266-018-1280-1. Epub 2018 Nov 29. PMID: 30498936.

Pelipenko J, Kocbek P, Kristl J. Nanofiber diameter as a critical parameter affecting skin cell response. *Eur J Pharm Sci*. 2015 Jan 23;66:29-35. doi: 10.1016/j.ejps.2014.09.022. Epub 2014 Oct 6. PMID: 25301202.

Polymeris GS, Giannoulatou V, Kyriakidou A, Sfampa IK, Theodorou GS, Şahiner E, et al. Bioactivity characterization of 45S5 bioglass using TL, OSL and EPR: Comparison with the case of 58S sol-gel bioactive glass. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017 Jan 1;70(Pt 1):673-680. doi: 10.1016/j.msec.2016.09.051. Epub 2016 Sep 25. PMID: 27770941.

Profeta AC, Prucher GM. Bioactive-glass in periodontal surgery and implant dentistry. *Dent Mater J*. 2015;34(5):559-71. doi: 10.4012/dmj.2014-233. PMID: 26438980.

Rahaman MN, Day DE, Bal BS, Fu Q, Jung SB, Bonewald LF, Tomsia AP. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater*. 2011 Jun;7(6):2355-73. doi: 10.1016/j.actbio.2011.03.016. Epub 2011 Mar 21. PMID: 21421084; PMCID: PMC3085647.

Rajzer I, Dziadek M, Kurowska A, Cholewa-Kowalska K, Ziabka M, Menaszek E, et al. Electrospun polycaprolactone membranes with Zn-doped bioglass for nasal tissues treatment. *J Mater Sci Mater Med*. 2019 Jun 26;30(7):80. doi: 10.1007/s10856-019-6280-4. PMID: 31243558; PMCID: PMC6594984.

Recker RR, Kimmel DB, Dempster D, Weinstein RS, Wronski TJ, Burr DB. Issues in modern bone histomorphometry. *Bone*. 2011 Nov;49(5):955-64. doi: 10.1016/j.bone.2011.07.017. Epub 2011 Jul 23. PMID: 21810491; PMCID: PMC3274956.

Ren J, Blackwood KA, Doustgani A, Poh PP, Steck R, Stevens MM, et al. Melt-electrospun 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

Ren L, Zhang Z, Deng C, Zhang N, Li D. Antibacterial and pro-osteogenic effects of  $\beta$ -Defensin-2-loaded mesoporous bioglass. *Dent Mater J*. 2021 Mar 31;40(2):464-471. doi: 10.4012/dmj.2020-105. Epub 2020 Dec 24. PMID: 33361660.

Ribas RG, Campos TMB, Schatkoski VM, Menezes BRC, Montanheiro TL, Thim GP.  $\alpha$ -Wollastonite crystallization at low temperature. *Ceram Int*. 2020;46(5):6575-80. doi: 10.1016/j.ceramint.2019.11.143

Rosa AL, Beloti MM, van Noort R. Osteoblastic differentiation of cultured rat bone marrow cells on hydroxyapatite with different surface topography. *Dent Mater*. 2003 Dec;19(8):768-72. doi: 10.1016/s0109-5641(03)00024-1. PMID: 14511735.

Roseti L, Parisi V, Petretta M, Cavallo C, Desando G, Bartolotti I, et al. Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *MaterSci Eng C Mater Biol Appl*. 2017 Sep 1;78:1246-1262. doi: 10.1016/j.msec.2017.05.017. Epub 2017 May 5. PMID: 28575964.

Santocildes-Romero M, Goodchild R, Hatton P, Crawford A, Reaney I, Miller CA. Preparation of Composite Electrospun Membranes Containing Strontium-Substituted Bioactive Glasses for Bone Tissue Regeneration. *Macromol Mater Eng*. 2016; 301: 972-981. doi:10.1002/mame.201600018

Sepulveda P, Jones JR, Hench LL. Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses. *J Biomed Mater Res*. 2001;58(6):734-40. doi: 10.1002/jbm.10026. PMID: 11745528.

Sohrabi K, Saraiya V, Laage TA, Harris M, Blieden M, Karimbux N. An evaluation of bioactive glass in the treatment of periodontal defects: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *J Periodontol*. 2012 Apr;83(4):453-64. doi: 10.1902/jop.2011.110347. Epub 2011 Aug 23. PMID: 21861641.

Spirandeli BR, Campos TMB, Ribas RG, Thim GP, Trichês ES. Evaluation of colloidal and polymeric routes in sol-gel synthesis of a bioactive glass-ceramic derived from 45S5 bioglass. *Ceram Int*. 2020;46(12):20264–71. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.05.108>.

Steinhausen E, Lefering R, Glombitza M, Brinkmann N, Vogel C, Mester B, et al. Bioactive glass S53P4 vs. autologous bone graft for filling defects in patients with chronic osteomyelitis and infected non-unions - a single center experience. *J Bone Jt Infect*. 2021 Jan 12;6(4):73-83. doi: 10.5194/jbji-6-73-2021. PMID: 34084694; PMCID: PMC8132459.

Sun JY, Yang YS, Zhong J, Greenspan DC. The effect of the ionic products of Bioglass dissolution on human osteoblasts growth cycle in vitro. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007 Jul-Aug;1(4):281-6. doi: 10.1002/term.34. PMID: 18038418.

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

Turnbull G, Clarke J, Picard F, Riches P, Jia L, Han F, et al. 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. PMID: 29744467; PMCID: PMC5935790.

Vogel M, Voigt C, Gross UM, Müller-Mai CM. In vivo comparison of bioactive glass particles in rabbits. *Biomaterials*. 2001 Feb;22(4):357-62. doi: 10.1016/s0142-9612(00)00191-5. PMID: 11205439.

Vukajlovic D, Parker J, Bretcanu O, Novakovic K. Chitosan based polymer/bioglass composites for tissue engineering applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 Mar;96:955-967. doi: 10.1016/j.msec.2018.12.026. Epub 2018 Dec 11. PMID: 30606607.

Wang W, Yeung KWK. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioact Mater*. 2017 Jun 7;2(4):224-247. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007. PMID: 29744432; PMCID: PMC5935655.

Wheeler DL, Eschbach EJ, Hoellrich RG, Montfort MJ, Chamberland DL. Assessment of resorbable bioactive material for grafting of critical-size cancellous defects. *J Orthop Res*. 2000 Jan;18(1):140-8. doi: 10.1002/jor.1100180120. PMID: 10716290.

Xue R, Qian Y, Li L, Yao G, Yang L, Sun Y. Polycaprolactone nanofiber scaffold enhances the osteogenic differentiation potency of various human tissue-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Jun 24;8(1):148. doi: 10.1186/s13287-017-0588-0. PMID: 28646917; PMCID: PMC5482966.

Yarin A, Koombhongse S, Reneker, D. Bending instability in electrospinning of nanofibers. *J. Appl. Phys*. 2001; 89, 3018–3026

Yin HM, Li X, Wang P, Ren Y, Liu W, Xu JZ, et al. Role of HA and BG in engineering poly( $\epsilon$ -caprolactone) porous scaffolds for accelerating cranial bone regeneration. *J Biomed Mater Res A*. 2019 Mar;107(3):654-662. doi: 10.1002/jbm.a.36584. Epub 2018 Dec 9. PMID: 30474348.

Yu F, Fan X, Wu H, Ou Y, Zhao X, Chen T, et al. Mastoid obliteration and external auditory canal reconstruction using 3D printed bioactive glass S53P4 /polycaprolactone scaffold loaded with bone morphogenetic protein-2: A simulation clinical study in rabbits. *Regen Ther*. 2022 Oct 20;21:469-476. doi: 10.1016/j.reth.2022.09.010. PMID: 36313396; PMCID: PMC9588957.

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)58:3<270::aid-jbm1016>3.0.co;2-2. PMID: 11319740.

Zhang LY, Bi Q, Zhao C, Chen JY, Cai MH, Chen XY. Recent Advances in Biomaterials for the Treatment of Bone Defects. *Organogenesis*. 2020 Oct 1;16(4):113-125. doi: 10.1080/15476278.2020.1808428. Epub 2020 Aug 16. PMID: 32799735; PMCID: PMC7714479.

Zhang X, Meng Y, Gong B, Wang T, Lu Y, Zhang L, Xue J. Electrospun nanofibers for manipulating soft tissue regeneration. *J Mater Chem B*. 2022 Sep 28;10(37):7281-7308. doi: 10.1039/d2tb00609j. PMID: 35688128.

Zonderland J, Rezzola S, Wieringa P, Moroni L. Fiber diameter, porosity and functional group gradients in electrospun scaffolds. *Biomed Mater*. 2020 Jun 26;15(4):045020. doi: 10.1088/1748-605X/ab7b3c. PMID: 32109896.