

RESSALVA

Atendendo a solicitação do(a) autor(a), o texto completo desse trabalho será disponibilizado no repositório a partir de 11/04/2027.

JULIANI CAROLINE RIBEIRO DE ARAÚJO SOUTO

**Uma abordagem inovadora para o reparo ósseo associado à
osteopenia com o uso de sistema *drug delivery* de hidrogéis injetáveis
incorporados com biovidro funcionalizado com raloxifeno e ranelato
de estrôncio**

JULIANI CAROLINE RIBEIRO DE ARAÚJO SOUTO

Uma abordagem inovadora para o reparo ósseo associado à osteopenia com o uso de sistema *drug delivery* de hidrogéis injetáveis incorporados com biovidro funcionalizado com raloxifeno e ranelato de estrôncio

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

Área: Patologia e diagnóstico bucal. Linha de pesquisa: Inflamação e reparação

Orientadora: Prof^a Tit. Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Coorientador: Prof^a Assoc. Renata Falchete do Prado

São José dos Campos

2025

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2025]. 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).

Souto, Juliani Caroline Ribeiro de Araújo

Uma abordagem inovadora para o reparo ósseo associado à osteopenia com o uso de sistema drug delivery de hidrogéis injetáveis incorporados com biovidro funcionalizado com raloxifeno e ranelato de estrôncio / Juliani Caroline Ribeiro de Araújo Souto. - São José dos Campos : [s.n.], 2025. 106 f. : il.

Tese (Doutorado) - - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2025.

Orientadora: Luana Marotta Reis De Vasconcellos

Coorientadora: Renata Falchete Do Prado

1. Regeneração óssea. 2. Osteoporose. 3. Ranelato de estrôncio. 4. Raloxifeno. 5. Diferenciação celular. I. De Vasconcellos, Luana Marotta Reis, orient. II. Do Prado, Renata Falchete, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - UNESP. V. Universidade Estadual Paulista (UNESP). VI. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Um dos principais desafios da bioengenharia tecidual é a limitação dos materiais atualmente utilizados na regeneração óssea, muitos dos quais não oferecem estímulos biológicos adequados para acelerar e aprimorar o processo de reparo. Essa deficiência resulta em tempo de recuperação prolongados e menor previsibilidade clínica. O problema se agrava na presença de comorbidades osteometabólicas, que podem comprometer a qualidade óssea e apresentar uma resposta tecidual reduzida. Uma abordagem promissora para superar essas limitações é a combinação de materiais osteogênicos e osteocondutores com fármacos que proporcionem efeitos terapêuticos locais, minimizando potenciais efeitos adversos sistêmicos. Nesse contexto, o presente estudo se destaca pelo desenvolvimento de um biomaterial injetável capaz de estimular a osteogênese e liberar fármacos de forma localizada, favorecendo a neoformação óssea. Essa inovação apresenta grande potencial para aplicação biomédica e odontológica, especialmente em pacientes com metabolismo óssea comprometido.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

One of the main challenges in tissue bioengineering is the limitation of materials currently used in bone regeneration, many of which do not provide adequate biological stimuli to accelerate and enhance the repair process. This deficiency leads to prolonged recovery times and reduced clinical predictability. The problem becomes even more critical in the presence of osteometabolic comorbidities, which can compromise bone quality and weaken the tissue response to treatment. A promising approach to overcoming these limitations is the combination of osteogenic and osteoconductive materials with drugs that provide localized therapeutic effects while minimizing potential systemic adverse effects. In this context, the present study stands out for developing an injectable biomaterial capable of stimulating osteogenesis and locally releasing drugs to promote bone neoformation. This innovation holds great potential for biomedical and dental applications, particularly in patients with impaired bone remodeling.

BANCA EXAMINADORA

Profª Tit. Luana Marotta Reis de Vasconcellos (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Prof. Dr. Rodrigo de Oliveira França

University of Manitoba

Faculty of Health Science

Winnipeg

Prof. Assoc. José Benedito de Oliveira Amorim

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Profª Dra Gabriela de Moraes Gouvêa Lima

Universidade de Mogi das Cruzes

Mogi das Cruzes

Profª Assoc. Estela Kaminagakura Tango

Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

São José dos Campos, 11 de abril de 2025.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese ao meu amado filho, Otto Ribeiro Souto.

Esta tese é tanto sua quanto minha, porque cada página escrita foi dedicada ao futuro que desejo construir para nós.

Te amo imensamente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua presença em cada passo e escolha da minha vida.

A minha mãe, Andrea Paula Ribeiro. Nada disso seria possível sem você. Agradeço que sempre tenha me colocado em primeiro lugar em sua vida e acreditado no meu potencial, mesmo quando eu mesma não o fiz.

Ao meu filho, Otto Ribeiro Souto, com a sua presença em minha vida, minha fé e esperança são renovadas a cada dia, você foi o pilar desta grande conquista. Será sempre por você.

A minha amada avó Aurea Martins Ribeiro (*in memorian*) e meu avô Sidnei Ribeiro (*in memorian*), por terem sido minha base, meu suporte e me amado nos meus momentos mais conturbados.

Ao meu marido, Rodrigo Borges Souto, por todo amor e paciência dispendido nesse processo. Você é meu companheiro, parceiro, amigo e maior incentivador. Sendo o primeiro a apoiar a realização do doutorado e do meu intercâmbio. Tenho muita sorte de nossos caminhos se cruzarem e estarmos caminhando juntos nessa vida.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos (UNESP) e ao programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas a Saúde Bucal (CASB), na pessoa do diretor Prof. Tit. Cesar Rogério Pucci, da vice-diretora Prof^a Dra. Symone Cristina Teixeira, e no coordenador do programa de pós-graduação Prof. Tit. Alexandre Luiz Borges Souto.

À FAPESP pelo financiamento deste projeto com bolsa regular no país (processo 2022/03799-9) no período de 03/2022 a 04/2025. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do autor e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

À minha orientadora, Luana Marotta Reis de Vasconcellos, minha gratidão por tantos anos de parceria e aprendizado. Lembro-me das suas aulas de Histologia no meu primeiro ano de faculdade, da sua habilidade no biotério e da confiança que me transmitiu desde o início da minha jornada como pesquisadora e acadêmica. Percorri um caminho bonito e gratificante nessa área, e grande parte do conhecimento que adquiri veio da sua orientação e convivência. Com você, aprendi não apenas a operar, a trabalhar em equipe e a me organizar, mas também a ser uma orientadora humana e comprometida. Sou imensamente grata por sua confiança em mim e no meu trabalho. Levo você como uma inspiração e uma amiga.

À minha coorientadora, Profa. Assoc. Renata Falchete do Prado, minha profunda gratidão por sua constante disponibilidade, pela excelência com que me ensinou os testes laboratoriais e por esclarecer todas as minhas dúvidas com paciência e dedicação. Você se tornou uma grande referência para mim, não apenas pelo conhecimento compartilhado, mas também pelos momentos de leveza e pelas risadas ao longo dessa jornada.

À toda minha família, com um carinho especial para minha irmã Marcela Ribeiro Braga, minha prima Camila Fernanda de Souza, minha tia e madrinha Maria Alice Ribeiro, meus sogros Ana Maria Borges Souto e Márcio Lima Souto, e minha cunhada Renata Borges Souto, minha mais sincera gratidão. Cada mensagem, incentivo e gesto de apoio foram fundamentais para mim. Vocês cuidaram do meu filho na minha ausência, compartilharam fotos, vídeos e chamadas, e dedicaram seu tempo para que eu pudesse seguir em busca do meu sonho.

À University of Manitoba, em especial ao Prof. Dr. Rodrigo de Oliveira França, minha gratidão por me receber em seu laboratório e compartilhar não apenas seu conhecimento na área de materiais, mas também a riqueza da história e cultura canadense. Sua orientação ampliou minhas perspectivas, abriu novas oportunidades e me permitiu enxergar além da “bolha acadêmica” em que eu vivia.

Ao Prof. Dr. Tiago Moreira Bastos Campos, por estar sempre disponível, me auxiliando nas análises e também incentivando nesse árduo caminho da pesquisa.

À Profª Adj. Eliandra de Souza Trinchês, pela parceria e fornecimento do vidro bioativo utilizado nesse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de 9 meses de bolsa (04/2021- 02/2022) - Código 001 e pela bolsa de doutorado sanduíche (PDSE- processo 88881.982250/2024-01) pelo período de 4 meses (09/2024-12/2024).

Aos parceiros de laboratório, Marília Nanni Vieira, Letícia Adrielly Dias Grisante, Fábiana Zampieri D'Antola de Mello, Luis Augusto Almeida da Silva, Juliana dos Santos Lupp, Vinicius de Almeida Lima e Verônica dos Santos Ribeiro, minha sincera gratidão por toda a parceria, troca de conhecimento e apoio ao longo dessa jornada. Cada momento compartilhado tornou o caminho mais leve e enriquecedor.

Aos alunos de iniciação científica, Elisa Freire Sant'Anna de Oliveira, Leonardo Alvares Sobral da Silva, Ana Maria Almeida, Clarissa Merquior Darezzo e Brunna da Silva Nóbrega de Souza. Agradeço pela confiança e ajuda na execução deste trabalho. Vocês foram fundamentais.

Aos amigos do meu intercâmbio no Canadá, Suellen Pedroso, Luciana Gomes, Janaína Guimarães, Léia, Helena, Rebecca Oliveira, Nati, Ravi, Fernanda, Anastasia, em muitos momentos de angústia e saudade vocês foram meu alicerce, com companhia e risadas fáceis. Meu caminho frio e congelante no Canadá se tornou muito mais aquecido com a presença de vocês.

Aos amigos da pós-graduação, Nataly Domingues de Almeida, Marcela, Carina, Camila Moretto, Clarissa, Letícia Torquato, Camila Gobbi, Adriane e Gieisy, minha gratidão por serem, tantas vezes, a luz em meio aos dias nublados.

Às minhas amigas de graduação, Mariana de Sá Alves, Winnie Barbier de Souza, Joyce Rodrigues de Souza, Elisa Camargo Kukulka, Marina de Castro Galvão e Lívia Nakahara. Ter vocês em minha vida, torna tudo mais alegre e mais divertido.

Aos funcionários do ICT- Unesp, Sérgio, Jane, Domingos, Carla, Michelle e Carlos Alberto Guedes por todo o suporte na execução deste trabalho.

Aos professores do departamento de Biociências e Diagnóstico Oral, em especial Prof^a Tit. Luciane Dias de Oliveira, Prof^a Dra. Vanessa Marques Meccatti Domiciano, Prof. Dr. Lúcio Murilo dos Santos, Prof. Adj. José Benedito de Oliveira Amorim, que me permitiram participar do PAADES nas disciplinas de Farmacologia e Terapêutica odontológica e Fisiologia, respectivamente.

Aos membros da banca, minha profunda gratidão por dedicarem seu tempo e conhecimento à leitura desta tese.

À equipe da biblioteca pela ajuda na elaboração deste trabalho, contribuindo com o acesso ao material bibliográfico e na orientação das normas.

A todos os animais utilizados nesta pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

"O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos diariamente."

Robert Collier

RESUMO

Souto JCRA. Uma abordagem inovadora para o reparo ósseo associado à osteopenia com o uso de sistema drug delivery de hidrogéis injetáveis incorporados com biovidro funcionalizado com raloxifeno e ranelato de estrôncio [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2025.

O objetivo deste presente estudo foi avaliar hidrogéis injetáveis incorporados com partículas de vidro bioativo funcionalizadas com os fármacos raloxifeno e ranelato de estrôncio na regeneração óssea com análises *in vitro* e *in vivo*. Foi realizada a síntese e caracterização do vidro bioativo, seguida da sua funcionalização com os fármacos, por meio da rota sonoquímica. A caracterização do vidro bioativo foi realizada antes e após a incorporação dos fármacos e antes e após a incorporação do sistema ao hidrogel. Os testes *in vitro* foram realizados utilizando células mesenquimais isoladas de fêmures de ratas ovariectomizadas e não ovariectomizadas. A atividade e a diferenciação celular foram avaliadas por meio da análise da viabilidade celular, conteúdo de proteína total, atividade de fosfatase alcalina, formação de nódulos de mineralização, genotoxicidade e a expressão de genes para a osteogênese. Os experimentos *in vivo* foram realizados utilizando ratas *Wistar* adultas, fêmeas (n=8) que foram submetidas à ovariectomia bilateral (OVX) ou à cirurgia fictícia de ovariectomia bilateral (Sham). Foi realizada avaliação do ciclo estral dessas ratas por meio de citologia esfoliativa e as alterações clínicas foram monitoradas. Após 9 semanas das cirurgias de OVX e Sham, foram realizados defeitos ósseos nos fêmures bilateralmente, os quais foram preenchidos com coágulo e com os materiais experimentais injetáveis: a) hidrogel (H); b) H incorporado com partículas de vidro bioativo (HB) ; c) H incorporado com partículas de vidro bioativo funcionalizadas com o fármaco raloxifeno (HBRx) d) H incorporado com partículas de vidro bioativo funcionalizadas com o fármaco ranelato de estrôncio (HBSr). A eutanásia dos animais foi realizada 4 semanas após o procedimento cirúrgico, momento no qual foi retirado 5mL de sangue de cada animal para análise de citocinas. Os fragmentos dos fêmures esquerdos foram submetidos as análises de microtomografia computadorizada para a avaliação morfométrica do osso formado na área do defeito ósseo. Enquanto os fêmures direitos foram submetidos ao processamento laboratorial para análise histológica e histomorfométrica. A avaliação de efeitos colaterais sistêmicos foi realizada por meio da avaliação histológica descritiva do coração, fígado e do tecido cutâneo e da avaliação de citocinas. A caracterização das amostras do vidro bioativo indicaram alterações morfológicas e químicas nas partículas após o processo de funcionalização, que corroboram com a incorporação dos fármacos na superfície do material. Os resultados do estudo *in vitro* sugerem que as amostras analisadas não foram tóxicas para a células e propiciaram ambiente adequado para a proliferação e diferenciação celular. No estudo *in vivo*, as ratas embora tenham exibido alteração no ciclo estral, elas não apresentaram variação de peso quando comparados os grupos Sham e OVX (p<0,05). Histologicamente, apresentaram a presença de material residual e áreas de neoformação óssea, sem a presença de alterações sistêmicas evidentes. Na avaliação histomorfométrica houveram diferenças estatisticamente

significativas entre o grupo HBSr sham e os demais grupos analisados com exceção do grupo HBRx sham ($p>0,05$), enquanto na microtomografia não houveram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$). O material apresentou-se promissor na bioengenharia tecidual, demonstrando potencial para aplicações em regeneração óssea.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Osteoporose. Ranelato de estrôncio. Raloxifeno. Diferenciação celular.

ABSTRACT

Souto, JCRA. *An innovative approach to bone repair associated with osteopenia using a drug delivery system of injectable hydrogels incorporated with bioactive glass functionalized with raloxifene and strontium ranelate*. [doctorate thesis]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2025.

The aim of the present study was to evaluate injectable hydrogels incorporated with bioactive glass particles functionalized with the drugs raloxifene and strontium ranelate for bone regeneration using both *in vitro* and *in vivo* analyses. The bioactive glass was synthesized and characterized, followed by its functionalization with the drugs using a sonochemical method. The characterization of the bioactive glass was conducted before and after drug incorporation and before and after integration of the system into the hydrogel. *In vitro* tests were carried out using mesenchymal stem cells isolated from the femurs of ovariectomized and non-ovariectomized rats. Cell activity and differentiation were assessed through analyses of cell viability, total protein content, alkaline phosphatase activity, mineralized nodule formation, genotoxicity, and gene expression related to osteogenesis. *In vivo* experiments were conducted using adult female Wistar rats ($n=8$) that underwent either bilateral ovariectomy (OVX) or sham surgery. Estrous cycle assessment was performed through exfoliative cytology, and clinical changes were monitored. Nine weeks after OVX and sham surgeries, bilateral bone defects were created in the femurs and filled with either a blood clot or the experimental injectable materials: a) hydrogel (H); b) H incorporated with bioactive glass particles (HB); c) H incorporated with bioactive glass particles functionalized with raloxifene (HBRx); and d) H incorporated with bioactive glass particles functionalized with strontium ranelate (HBSr). Euthanasia was performed four weeks after the surgical procedure, at which time 5 mL of blood was collected from each animal for cytokine analysis. The left femur fragments were subjected to micro-computed tomography for morphometric evaluation of bone formation in the defect area, while the right femurs were processed for histological and histomorphometric analysis. The evaluation of systemic side effects was performed through descriptive histological analysis of the heart, liver, and skin tissue. The characterization of the bioactive glass samples indicated morphological and chemical changes in the particles after functionalization, which corroborated the successful incorporation of the drugs onto the material surface. The *in vitro* results suggested that the analyzed samples were non-toxic to the cells and provided a suitable environment for cell proliferation and differentiation. In the *in vivo* study, although the rats exhibited changes in the estrous cycle, no significant weight variation was observed between the Sham and OVX groups ($p < 0.05$). Histological analysis showed the presence of residual material and areas of new bone formation, without any evident systemic alterations. In the histomorphometric analysis, statistically significant differences were found between the HBSr sham group and the other groups, except for the HBRx sham group ($p > 0.05$), whereas micro-CT analysis revealed no statistically significant differences ($p > 0.05$). The material proved to be promising in the field of tissue bioengineering, showing potential for applications in bone regeneration.

Keywords: Bone. Osteoporosis. Strontium ranelate. Raloxifene. Cell Differentiation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 ARTIGO(S).....	20
2.1 Artigo – Souto, JCRA, Vieira, MN, Grisante, LAD, Oliveira, EFS, Campos, TMB, Trinchês, ES, Ribeiro, VS, Vasconcellos, LMR. Síntese e caracterização de um biomaterial inovador associado a liberação de fármacos para regeneração óssea/ <i>Synthesis and characterization of an innovative biomaterial associated with drug delivery for bone regeneration*</i>	20
2.2 Artigo – Souto,JCRA, Vieira, MN, Grisante, LAD, Oliveira, EFS, Prado,RF, Trinchês,ES, Ribeiro, VS, Vasconcellos, LMR. Biomaterial para Regeneração Óssea: Liberação Local de Raloxifeno e Ranelato de Estrôncio Funcionalizados no Vidro Bioativo 45S5 e Incorporados ao Hidrogel / <i>Biomaterial for Bone Regeneration: Local Release of Raloxifene and Strontium Ranelate Functionalized on 45S5 Bioactive Glass and Incorporated into Hydrogel*</i>	45
3 CONSIDERAÇÕES GERAIS	96
REFERÊNCIAS.....	99
ANEXOS	105

1 INTRODUÇÃO

O ciclo da remodelação óssea é dinâmico e resulta na preservação do osso e na homeostasia mineral de cálcio e fósforo. Esse processo é iniciado pelo recrutamento dos precursores de osteoclastos da circulação sanguínea, com a fusão de células mononucleares resultando na formação de pré-osteoclastos multinucleados, que atuarão na degradação da matriz de colágeno da superfície óssea, processo intitulado de reabsorção óssea. Enquanto a formação da matriz do tecido ósseo ocorre por síntese e secreção de colágeno pelos osteoblastos e a deposição de hidroxapatita na matriz determina a mineralização do osso. Já a finalização do processo de remodelação ocorre com a apoptose de osteoblastos ou aprisionamento dessas células na matriz extracelular se diferenciando em osteócitos (Kenkre, Bassett, 2018). Situações corriqueiras na prática clínica, como traumas, infecções, tumores, entre outras etiologias podem ocasionar grandes perdas teciduais impossibilitando a regeneração espontânea. Além disso, há um agravamento nesse processo fisiológico quando alguma alteração nesse ciclo ocorre, podendo resultar em uma deficiência na formação ou reabsorção do osso, levando a doenças que envolvem o sistema musculoesquelético, como a osteoporose. Sabe-se que o diagnóstico dessa doença é especialmente difícil por ser assintomática (Baccaro et al., 2015) e que o aumento da perda óssea nessas situações pode estar relacionado ao envelhecimento da população, elevando o risco de mortalidade de homens e mulheres pós-fraturas osteoporóticas (Bliuc et al., 2015). Também é de conhecimento, que predominantemente, as mulheres são mais acometidas pela doença, uma vez que o estrogênio apresenta efeitos no tecido ósseo e a diminuição desse hormônio no período pós-menopáusico acarreta mudanças moleculares que podem induzir a perda óssea (Pacific, 1996). Esse hormônio estimula a formação do osso através do efeito direto sobre os osteoblastos, atuando na formação de osteoclastos, regulando os níveis de citocinas e fatores de crescimento, modulando a secreção de enzimas lisossômicas, promovendo a apoptose de osteoclastos e inibindo a morte celular programada de osteoblastos e osteócitos, também regula a expressão de hormônios, como paratormônio (PTH) e calcitonina que influenciam no processo do metabolismo ósseo (Li, Wang, 2018) assim a atenuação de estrogênio

no período pós-menopausa apresenta um papel importante no processo de remodelação do osso (Khosla,Hofbauer, 2017). Dentro desse contexto, a falta de estrôgenio, resultante da ovariectomia está relacionada a um reparo mais lento (Chen et al., 2018). Quando se direciona para o campo odontológico, é possível inferir que fatores sistêmicos também podem afetar a renovação óssea alveolar após a extração de um dente (Hsieh et al., 1995; Shimizu et al., 2000).

É neste cenário que o desenvolvimento de biomateriais sintéticos tem suma importância uma vez que podem ser capazes de favorecer a regeneração óssea, especialmente em casos de grandes perdas teciduais. O principal desafio que se impõe atualmente é viabilizar a reparação das perdas ósseas por meio da regeneração tecidual. Em estratégias mais atuais, compósitos são confeccionados a partir da união de dois ou mais materiais (Rizwan et al., 2017). Assim, o principal objetivo da engenharia tecidual óssea é a regeneração do tecido no local do defeito sem complicações cirúrgicas, imunológicas ou angiogênicas (Tang et al., 2021). Os biomateriais ideais tem a função de apoiar o processo de regeneração tecidual localmente, ser biodegradado e substituído por osso neoformado sem apresentar nenhum efeito sistêmico (Bharadwaz,Jayasuriya, 2020). Os hidrogéis se enquadram nesse quesito, pois são redes poliméricas reticuladas que absorvem água e que apresentam diferentes bases, características físicas, químicas e viabilidade técnica em sua utilização (Ahmed, 2015). Pode-se classificar os hidrogéis em poliméricos naturais, que englobam agarose, alginato, gelatina, ácido hialurônico e fibrina; e os poliméricos sintéticos que são o álcool polivinílico e o ácido glicólico (Naranda et al., 2021). Os géis de alginato são materiais versáteis na regeneração de tecido ósseo, pois são biocompatíveis, apresentam a capacidade de se moldar aos ossos de formatos irregulares, fácil manuseio, podendo armazenar e liberar fatores importantes para o processo de regeneração do osso (Bharadwaz,Jayasuriya, 2020). As propriedades físico-químicas dos géis à base de alginato permitem a incorporação de outros materiais a ele, tornando eficiente a produção de compósitos utilizados em estratégias de engenharia tecidual, apresentando tanto adesão, quanto proliferação celular (Turco et al., 2009).

A adição de outros materiais ao hidrogel à base de alginato tem como vantagem diminuir a baixa resistência mecânica desse material (Liu et al., 2022). Nesse sentido, Bains,Verne (2017) descreveram que um revestimento de vidro pode

ajudar a fortalecer mecanicamente a estrutura e regular a reabsorção da matriz polimérica. Ademais, os vidros bioativos formam uma camada de hidroxiapatita carbonatada em sua superfície quando entram em contato com fluidos biológicos, sendo responsável pela ligação química do biomaterial aos tecidos vivos. Essa descoberta, realizada por meio de estudos conduzidos por Larry Hench nas décadas de 1960 e 1970, representou um marco significativo no estudo dos vidros bioativos (Hench, 2006). Dentro desse mesmo escopo, o 45S5 Bioglass®, que também recebe a nomenclatura de biovidro, interfere na secreção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e demonstrou promover um aumento da neovascularização do tecido (Day et al., 2004) assim como a proliferação, diferenciação e aderência celular do biovidro em estudos de linhagens celulares (Detsch et al., 2015). Além disso, a importância da superfície do vidro bioativo nos efeitos desse biomaterial permitiu a evolução da ciência para uma abordagem onde ocorre a incorporação de moléculas e agentes terapêuticos em sua superfície (Lisboa-Filho et al., 2018; Mosqueira et al., 2020; de Oliveira et al., 2019; Rizwan et al., 2017).

As aplicações clínicas dos vidros bioativos e a versatilidade desses materiais para a entrega de várias biomoléculas terapêuticas são revolucionárias na saúde e permitem modernizar a medicina regenerativa baseada em biomateriais (Baino et al., 2018, Kim et al., 2005). Estudos anteriores também retratam uma contribuição significativa para o entendimento da ação biológica do vidro bioativo, demonstrando sua capacidade de formar nódulos mineralizados em culturas celulares primárias (Xynos et al., 2000). Essas descobertas representam um avanço importante na análise desse tipo de biomaterial, ampliando suas possibilidades de aplicação na regeneração óssea e oferecendo novas perspectivas para o desenvolvimento de materiais bioativos com maior eficácia.

Na terapia regenerativa, o desenvolvimento de abordagens complementares tem o objetivo de melhorar e aumentar a abrangência nas aplicações dos vidros bioativos, demonstrando resultados adequados para aplicações biomédicas (Nogueira et al., 2024), aumentando o potencial de aplicação do 45S5 Bioglass® quando associado a materiais de outra composição, como metais, cerâmicas e polímeros (Rizwan et al., 2017). Nesse contexto, a incorporação de fármacos que atuam no metabolismo ósseo a vidros bioativos pode potencializar a osseointegração e a regeneração tecidual, representando um avanço significativo na

redução da morbidade associada à osteoporose (Goldhahn et al., 2012). A funcionalização da superfície de vidros bioativos e sua associação a hidrogéis também permite a liberação gradual dos compostos ativos, viabilizando sua presença em diferentes matrizes e ampliando seu potencial terapêutico (de Araújo et al., 2023; Calori et al., 2020; Lisboa-Filho et al., 2018; Sun et al., 2021a).

Dentro desse cenário, os moduladores seletivos de receptores de estrogênio (SERMS); tendo usualmente como representante desse grupo o fármaco raloxifeno estão sendo investigados (Deal, Draper, 2006; Faverani et al., 2018; Lisboa-Filho et al., 2018; Macedo et al., 2025; Ramalho-Ferreira et al., 2015; Rey et al., 2009; de Souza Santos et al., 2023; Zhang et al., 2017), pois apresentam efeitos benéficos semelhantes ao do estrogênio no sistema esquelético (Rey et al., 2009; Riggs, Hartmann, 2003). A administração oral de raloxifeno, embora amplamente utilizada no tratamento da osteoporose, pode estar associada a efeitos adversos. Ettinger et al. (1999) relataram um aumento na incidência de eventos tromboembólicos venosos em mulheres que utilizaram o fármaco em comparação àquelas que receberam placebo. Esses achados ressaltam a necessidade de estratégias alternativas de administração, como sistemas de liberação local, que possam reduzir os riscos sistêmicos e otimizar os efeitos terapêuticos do medicamento. Assim como os SERMS, os agentes anabolizantes também têm sido alvo de alguns estudos (Alenezi et al., 2019; Bakker et al., 2013; Li et al., 2019, 2010; Loca et al., 2018; Mardas et al., 2021; Marins et al., 2020; Miranda et al., 2020; Silva et al., 2018; Sun et al., 2021b; Vestergaard, 2014), como o ranelato de estrôncio, que demonstra um mecanismo de ação *dual*, sendo anabólico e antirreabsortivo do tecido ósseo (Bonnelye et al., 2008) demonstrando efeitos favoráveis na redução do risco de fraturas (Stepan, 2013) promovendo aumento na densidade mineral óssea e melhoria na microarquitetura do tecido ósseo (Reginster et al., 2015). Por outro lado, um efeito desfavorável da utilização sistêmica desse fármaco é a possibilidade de aumentar o risco de eventos cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio e tromboembolismo em pacientes de alto risco (Khosla, Hofbauer, 2017; Vestergaard, 2014). Assim apesar de promover aumento na neoformação óssea em defeito ósseos tanto em animais saudáveis, quanto em animais com comprometimento sistêmico (Mardas et al., 2021) em situações clínicas, o fármaco deve ser usado com cautela, devido aos riscos de complicações cardiovasculares. Ademais, a liberação local de

anelato de estrôncio apresentou a capacidade de induzir aumento significativo na liberação de fosfatase alcalina, bem como diferenciação e proliferação tanto em células de linhagem quando em células mesenquimais (Silva et al., 2018).

É importante destacar que, em condições de má qualidade óssea ou cicatrização comprometida, os tratamentos ainda representam um grande desafio. Assim, torna-se essencial compreender as particularidades da regeneração tecidual em indivíduos sistemicamente comprometidos, bem como explorar novos biomateriais que apresentem propriedades favoráveis e mimetizem as características do tecido ósseo natural.

Nesse contexto, o biomaterial desenvolvido neste projeto surge como uma abordagem promissora para otimizar o prognóstico e potencializar a regeneração óssea em pacientes saudáveis e com osteoporose, ao mesmo tempo em que minimiza os efeitos adversos associados ao uso convencional desses fármacos.

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Na literatura científica, não há registros de estudos que tenham investigado o uso de hidrogéis injetáveis incorporados com vidro bioativo funcionalizado com fármacos por meio da rota sonoquímica. Essa ausência de investigação em biomateriais similares dificulta a comparação dos resultados obtidos no presente estudo com dados previamente reportados, limitando a possibilidade de estabelecer correlações diretas. Diante desse cenário, os achados deste trabalho representam uma contribuição inédita para a área, fornecendo novas perspectivas sobre a interação entre biomateriais avançados e sistemas de liberação controlada de fármacos na engenharia tecidual óssea.

Um processo importante no campo da bioengenharia tecidual é a compreensão da mineralização do tecido ósseo, processo que é regulado pelos osteoblastos que realizam a formação da matriz óssea, mas requer uma interação equilibrada entre osteoclastos e osteoblastos no ciclo de remodelação óssea. Os osteoclastos desempenham a tarefa de reabsorver o osso velho, enquanto o novo osso é formado, o que é essencial para restaurar a integridade óssea após um defeito ósseo (Kenkre, Bassett, 2018). Ressaltando a importância de uma abordagem multifatorial na reparação óssea, na qual a interação entre o material empregado e os aspectos celulares e moleculares desempenham um papel crucial para a obtenção de um processo de restauração mais eficiente. Ademais, em pacientes com distúrbios osteometabólicos, o processo de cicatrização óssea pode ser comprometido (Manolagas, 2015; Xiao et al., 2024; Xu et al., 2023) tornando o tratamento de defeitos ósseos ou fraturas um desafio em organismos com comprometimento sistêmico. Devido às alterações na remodelação óssea, a implantação de biomateriais frequentemente se torna necessária para auxiliar no tratamento cirúrgico desses pacientes.

Este estudo investigou o uso de um hidrogel incorporado com vidro bioativo funcionalizado com fármacos, visando a liberação localizada de substâncias ativas no tecido ósseo, visando otimizar as condições para a neoformação óssea em defeitos críticos. Para isso, foram avaliadas duas abordagens terapêuticas, buscando identificar qual medicamento promove uma resposta mais eficaz no reparo ósseo. O raloxifeno, um dos fármacos testados, é conhecido por aumentar a

densidade mineral óssea, modular a razão RANKL/OPG e reduzir o número de osteoclastos por meio da inibição de interleucinas pró-inflamatórias, como IL-6 e IL-1 β , além de regular o TGF- β (Rey et al., 2009). Esse fármaco também estimula a formação óssea ao promover a proliferação de osteoblastos (Taranta et al., 2002). Seu uso clínico é amplamente estabelecido no tratamento da osteoporose em mulheres pós-menopausa (Seeman, 2001) e estudos *in vivo* demonstraram efeitos positivos na regeneração óssea (Faverani et al., 2018; Ramalho-Ferreira et al., 2017, 2015; Yogui et al., 2018). Além disso, Lisboa-Filho et al. (2018) evidenciaram que a incorporação de 20% de raloxifeno ao vidro bioativo favoreceu significativamente a formação óssea em defeitos críticos na calvária de ratos.

Já o ranelato de estrôncio tem efeito duplo no *turnover* ósseo, atuando tanto sobre osteoblastos na formação óssea quanto na diminuição da reabsorção pelos osteoclastos, funcionando como um medicamento anabólico e modulador seletivo de receptores de estrógeno, com especificidade para osteoblastos (Bonnelye et al., 2008; Reginster et al., 2015; Stepan, 2013). O ranelato de estrôncio apresenta efeitos adversos sobre a atividade cardiovascular e hemodinâmica dos pacientes quando administrado sistemicamente (Martín-Merino et al., 2018) assim quando utilizado localmente pode evitar esses efeitos adversos.

Surpreendentemente, os resultados deste estudo evidenciaram dificuldades na avaliação da incorporação do raloxifeno, possivelmente devido à sua hidrofobicidade e baixa solubilidade (Seeman, 2001), fatores que dificultaram a detecção do fármaco na composição do biomaterial. Além disso, a presença de grupos funcionais provenientes de outros componentes do vidro bioativo e do hidrogel podem ter contribuído para essa complexidade analítica. Apesar dessas limitações, foram observadas alterações nas características físicas e mecânicas do material após a incorporação do raloxifeno, como mudanças na coloração e aumento da resistência estrutural, indicando de forma indireta o sucesso da incorporação do fármaco ao sistema. Ressalta-se ainda que o raloxifeno é amplamente utilizado no tratamento da osteoporose devido à sua ação seletiva nos receptores de estrogênio, promovendo a preservação da densidade mineral óssea e reduzindo o risco de fraturas. Estudos recentes também demonstram resultados promissores com o uso local de raloxifeno em sistemas de liberação controlada para favorecer a

regeneração óssea (Faverani et al., 2018; Macedo et al., 2025) reforçando seu potencial terapêutico em aplicações odontológicas e ortopédicas.

Outro fator relevante aos resultados obtidos neste presente estudo foi a elevada disponibilidade de cálcio no sistema de todos os hidrogéis, o que pode ter influenciado qualitativamente as interações entre a sílica e a superfície do material. Dessa forma, estudos futuros devem incluir uma análise gradativa da liberação de íons desse biomaterial, além de uma avaliação da citotoxicidade em diferentes períodos, permitindo uma compreensão mais profunda do impacto da dissolução do material e da elevação do pH nos meios analisados.

Em suma, o sistema de liberação controlada desenvolvido neste estudo, baseado em hidrogéis funcionalizados com vidro bioativo, representa uma abordagem inovadora para o tratamento de defeitos ósseos críticos em pacientes saudáveis e com osteoporose, pois não apresentaram influência sistêmica em sua utilização. Essa estratégia busca otimizar a regeneração óssea de forma controlada e eficiente, ao mesmo tempo em que reduz os efeitos colaterais sistêmicos frequentemente associados aos tratamentos convencionais.

REFERÊNCIAS

- Ahmed EM. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J Adv Res.* 2015;6(2):105–21. doi: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- Alenezi A, Galli S, Atefyekta S, Andersson M, Wennerberg A. Osseointegration effects of local release of strontium ranelate from implant surfaces in rats. *J Mater Sci Mater Med.* 2019;30(10). doi: 10.1007/s10856-019-6314-y.
- de Araújo JCR, Sobral Silva LA, de Barros Lima VA, Bastos Campos TM, Lisboa Filho PN, Okamoto R, et al. The Local Release of Teriparatide Incorporated in 45S5 Bioglass Promotes a Beneficial Effect on Osteogenic Cells and Bone Repair in Calvarial Defects in Ovariectomized Rats. *J Funct Biomater.* 2023;14(2). doi: 10.3390/jfb14020093.
- Baccaro LF, Marques Conde D, Costa-Paiva L, Mendes Pinto-Neto A. Clinical Interventions in Aging Dovepress The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: a viewpoint from Brazil. *Clin Interv Aging.* 2015;10:583–91.
- Baino F, Hamzehlou S, Kargozar S. Bioactive glasses: Where are we and where are we going? *J Funct Biomater.* 2018;9(1). doi: 10.3390/jfb9010025.
- Baino F, Verne E. Glass-based coatings on biomedical implants: A state-of-the-art review. *Biomedical Glasses.* 2017;3(1):1–17. doi: 10.1515/bglass-2017-0001.
- Bakker AD, Zandieh-Doulabi B, Klein-Nulend J. Strontium Ranelate affects signaling from mechanically-stimulated osteocytes towards osteoclasts and osteoblasts. *Bone.* 2013;53(1):112–9. doi: 10.1016/j.bone.2012.11.044.
- Bharadwaz A, Jayasuriya AC. Recent trends in the application of widely used natural and synthetic polymer nanocomposites in bone tissue regeneration. *Materials Science and Engineering C.* 2020;110. doi: 10.1016/j.msec.2020.110698.
- Bliuc D, Nguyen ND, Alarkawi D, Nguyen T V., Eisman JA, Center JR. Accelerated bone loss and increased post-fracture mortality in elderly women and men. *Osteoporosis International.* 2015;26(4):1331–9. doi: 10.1007/s00198-014-3014-9.
- Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F, Jurdic P. Dual effect of strontium ranelate: Stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone.* 2008;42(1):129–38. doi: 10.1016/j.bone.2007.08.043.
- Calori IR, Braga G, de Jesus P da CC, Bi H, Tedesco AC. Polymer scaffolds as drug delivery systems. *Eur Polym J.* 2020;129(March):109621. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2020.109621.
- Chen X, Wang Z, Duan N, Zhu G, Schwarz EM, Xie C. Osteoblast–osteoclast

interactions. *Connect Tissue Res.* 2018;59(2):99–107. doi: 10.1080/03008207.2017.1290085.

Day RM, Boccaccini AR, Shurey S, Roether JA, Forbes A, Hench LL, et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* 2004;25(27):5857–66. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.043.

Deal CL, Draper MW. Raloxifene: A Selective Estrogen-Receptor Modulator for Postmenopausal Osteoporosis – a Clinical Update on Efficacy and Safety. *Women's Health.* 2006;2(2):199–210. doi: 10.2217/17455057.2.2.199.

Detsch R, Alles S, Hum J, Westenberger P, Sieker F, Heusinger D, et al. Osteogenic differentiation of umbilical cord and adipose derived stem cells onto highly porous 45S5 Bioglass® -based scaffolds. *J Biomed Mater Res A.* 2015;103(3):1029–37. doi: 10.1002/jbm.a.35238.

Ettinger B, Mitlalc BH, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Zanchetta JR, et al. Reduction of Vertebral Fracture Risk in Postmenopausal Women With Osteoporosis Treated With Raloxifene. *JAMA.* 1999;282(7):637–45.

Faverani LP, Polo TOB, Ramalho-Ferreira G, Momesso GAC, Hassumi JS, Rossi AC, et al. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. *Clin Oral Investig.* 2018;22(1):255–65. doi: 10.1007/s00784-017-2106-2.

Goldhahn J, Féron JM, Kanis J, Papapoulos S, Reginster JY, Rizzoli R, et al. Implications for fracture healing of current and new osteoporosis treatments: An ESCEO consensus paper. *Calcif Tissue Int.* 2012;90(5):343–53. doi: 10.1007/s00223-012-9587-4.

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

Hsieh YD, Devlin H, McCord F. The effect of ovariectomy on the healing tooth socket of the rat. *Arch Oral Biol.* 1995;40(6):529–31. doi: 10.1016/0003-9969(94)00197-J.

Kenkre J, Bassett J. The bone remodelling cycle. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine.* 2018;55(3):308–27. doi: 10.1177/0004563218759371.

Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5(11):898–907. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30188-2.

Kim HW, Lee EJ, Jun IK, Kim HE, Knowles JC. Degradation and drug release of phosphate glass/polycaprolactone biological composites for hard-tissue regeneration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2005;75(1):34–41. doi:

10.1002/jbm.b.30223.

Li and Wang. Ovarian Aging and Osteoporosis. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1086:199–215. doi: 10.1007/978-981-13-1117-8.

Li D, Chen K, Duan L, Fu T, Li J, Mu Z, et al. Strontium Ranelate Incorporated Enzyme-Cross-Linked Gelatin Nanoparticle/Silk Fibroin Aerogel for Osteogenesis in OVX-Induced Osteoporosis. *ACS Biomater Sci Eng.* 2019;5(3):1440–51. doi: 10.1021/acsbiomaterials.8b01298.

Lisboa-Filho PN, Gomes-Ferreira PHS, Batista FRS, Momesso GAC, Faverani LP, Okamoto R. Bone repair with raloxifene and bioglass nanoceramic composite in animal experiment. *Connect Tissue Res.* 2018;59(1):97–101. doi: 10.1080/03008207.2018.1430143.

Liu Z, Xin W, Ji J, Xu J, Zheng L, Qu X, et al. 3D-Printed Hydrogels in Orthopedics: Developments, Limitations, and Perspectives. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10. doi: 10.3389/fbioe.2022.845342.

Li YF, Luo E, Feng G, Zhu SS, Li JH, Hu J. Systemic treatment with strontium ranelate promotes tibial fracture healing in ovariectomized rats. *Osteoporosis International.* 2010;21(11):1889–97. doi: 10.1007/s00198-009-1140-6.

Loca D, Smirnova A, Locs J, Dubnika A, Vecstaudza J, Stipniece L, et al. Development of local strontium ranelate delivery systems and long term in vitro drug release studies in osteogenic medium. *Sci Rep.* 2018;8(1):1–10. doi: 10.1038/s41598-018-35197-7.

Macedo LG, Mulinari-Santos G, Siqueira NB de, Pitol-Palin L, Silva ACE da, Frigério PB, et al. Enhancing Bone Repair: Impact of Raloxifene-Functionalized Cerabone® on Rat Calvarial Defects. *J Funct Biomater.* 2025;16(2). doi: 10.3390/jfb16020059.

Manolagas SC. Birth and Death of Bone Cells : Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis 2015;21(January):115–37.

Mardas N, Dereka X, Stavropoulos A, Patel M, Donos N. The role of strontium ranelate and guided bone regeneration in osteoporotic and healthy conditions. *J Periodontal Res.* 2021;56(2):330–8. doi: 10.1111/jre.12825.

Marins LM, Napimoga MH, Malta F de S, Miranda TS, Nani EP, Franco B da ST, et al. Effects of strontium ranelate on ligature-induced periodontitis in estrogen-deficient and estrogen-sufficient rats. *J Periodontal Res.* 2020;55(1):141–51. doi: 10.1111/jre.12697.

Martín-Merino E, Petersen I, Hawley S, Álvarez-Gutierrez A, Khalid S, Llorente-Garcia A, et al. Risk of venous thromboembolism among users of different anti-osteoporosis drugs: a population-based cohort analysis including over 200,000

participants from Spain and the UK. *Osteoporosis International*. 2018;29(2):467–78. doi: 10.1007/s00198-017-4308-5.

Miranda TS, Napimoga MH, De Franco L, Marins LM, Malta F de S, Pontes LA, et al. Strontium ranelate improves alveolar bone healing in estrogen-deficient rats. *J Periodontol*. 2020;91(11):1465–74. doi: 10.1002/JPER.19-0561.

Mosqueira L, Barrioni BR, Martins T, Ocarino N de M, Serakides R, Pereira M de M. In vitro effects of the co-release of Icarin and Strontium from bioactive glass submicron spheres on the reduced osteogenic potential of rat osteoporotic bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochemical Journal*. 2020;(May):0–14.

Naranda J, Bračić M, Vogrin M, Maver U. Recent Advancements in 3D Printing of Polysaccharide Hydrogels in Cartilage Tissue Engineering. *Materials*. 2021;14(14):3977. doi: 10.3390/ma14143977.

Nogueira DMB, Rosso MP de O, Buchaim DV, Zangrando MSR, Buchaim RL. Update on the use of 45S5 bioactive glass in the treatment of bone defects in regenerative medicine. *World J Orthop*. 2024;15(3):204–14. doi: 10.5312/wjo.v15.i3.204.

de Oliveira D, de Oliveira Puttini I, Silva Gomes-Ferreira PH, Palin LP, Matsumoto MA, Okamoto R. Effect of intermittent teriparatide (PTH 1-34) on the alveolar healing process in orchietomized rats. *Clin Oral Investig*. 2019;23(5):2313–22. doi: 10.1007/s00784-018-2672-y.

Pacific R. Review Estrogen, Cytokines, and Pathogenesis of Postmenopausal Osteoporosis 1996;11(8).

Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Grossi-Oliveira GA, Okamoto T, Okamoto R. Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. *J Biomed Opt*. 2015;20(3):038003. doi: 10.1117/1.jbo.20.3.038003.

Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Momesso GAC, Luvizuto ER, de Oliveira Puttini I, Okamoto R. Effect of antiresorptive drugs in the alveolar bone healing. A histometric and immunohistochemical study in ovariectomized rats. *Clin Oral Investig*. 2017;21(5):1485–94. doi: 10.1007/s00784-016-1909-x.

Reginster JY, Brandi ML, Cannata-Andía J, Cooper C, Cortet B, Feron JM, et al. The position of strontium ranelate in today's management of osteoporosis. *Osteoporosis International*. 2015;26(6):1667–71. doi: 10.1007/s00198-015-3109-y.

Rey JRC, Cervino EV, Rentero ML, Crespo EC, Álvaro AO, Casillas M. Raloxifene: Mechanism of Action, Effects on Bone Tissue, and Applicability in Clinical Traumatology Practice. *Open Orthop J*. 2009;3(1):14–21. doi: 10.2174/1874325000903010014.

Riggs BL, Hartmann LC. 030213 Selective Estrogen-Receptor Modulators —

Mechanisms of Action. *N Engl J Med*. 2003;348(12):618–30.

Rizwan M, Hamdi M, Basirun WJ. Bioglass® 45S5-based composites for bone tissue engineering and functional applications. *J Biomed Mater Res A*. 2017;105(11):3197–223. doi: 10.1002/jbm.a.36156.

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

Shimizu M, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Bone wound healing after maxillary molar extraction in ovariectomized aged rats: Quantitative backscattered electron image analysis. *Anatomical Record*. 2000;259(1):76–85. doi: 10.1002/(SICI)1097-0185(20000501)259:1<76::AID-AR9>3.0.CO;2-0.

Silva GAB, Bertassoli BM, Sousa CA, Albergaria JD, de Paula RS, Jorge EC. Effects of strontium ranelate treatment on osteoblasts cultivated onto scaffolds of trabeculae bovine bone. *J Bone Miner Metab*. 2018;36(1):73–86. doi: 10.1007/s00774-017-0822-y.

de Souza Santos AM, dos Santos Pereira R, Montemezzi P, Mello-Machado RC, Okamoto R, Sacco R, et al. The Interplay of Raloxifene and Sonochemical Bio-Oss in Early Maxillary Sinus Bone Regeneration: A Histological and Immunohistochemical Analysis in Rabbits. *Medicina (B Aires)*. 2023;59(9):1521. doi: 10.3390/medicina59091521.

Stepan JJ. Strontium ranelate: In search for the mechanism of action. *J Bone Miner Metab*. 2013;31(6):606–12. doi: 10.1007/s00774-013-0494-1.

Sun Y, Liu Xingdan, Tan J, Lv D, Song W, Su R, et al. Strontium ranelate incorporated 3D porous sulfonated PEEK simulating MC3T3-E1 cell differentiation. *Regen Biomater*. 2021a;8(1):1–9. doi: 10.1093/rb/rbaa043.

Sun Y, Liu Xingdan, Tan J, Lv D, Song W, Su R, et al. Strontium ranelate incorporated 3D porous sulfonated PEEK simulating MC3T3-E1 cell differentiation. *Regen Biomater*. 2021b;8(1). doi: 10.1093/rb/rbaa043.

Tang G, Liu Z, Liu Y, Yu J, Wang X, Tan Z, et al. Recent Trends in the Development of Bone Regenerative Biomaterials. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9. doi: 10.3389/fcell.2021.665813.

Taranta A, Brama M, Teti A, De luca V, Scandurra R, Spera G, et al. The selective estrogen receptor modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone*. 2002;30(2):368–76. doi: 10.1016/S8756-3282(01)00685-8.

Turco G, Marsich E, Bellomo F, Semeraro S, Donati I, Brun F, et al. Alginate/Hydroxyapatite Biocomposite For Bone Ingrowth: A Trabecular Structure With High And Isotropic Connectivity. *Biomacromolecules*. 2009;10(6):1575–83. doi: 10.1021/bm900154b.

Vestergaard P. New strategies for osteoporosis patients previously managed with strontium ranelate. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2014;6(6):217–25. doi: 10.1177/1759720X14552070.

Xiao C-L, Liu L-L, Tang W, Liu W-Y, Wu L-Y, Zhao K. Reduction of the trans-cortical vessel was associated with bone loss, another underlying mechanism of osteoporosis. *Microvasc Res*. 2024;152:104650. doi: 10.1016/j.mvr.2023.104650.

Xu J, Yu L, Liu F, Wan L, Deng Z. The effect of cytokines on osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling in osteoporosis: a review. *Front Immunol*. 2023;14. doi: 10.3389/fimmu.2023.1222129.

Xynos ID, Hukkanen MVJ, Batten JJ, Buttery LD, Hench LL, Polak JM. Bioglass ®45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation in vitro: Implications and applications for bone tissue engineering. *Calcif Tissue Int*. 2000;67(4):321–9. doi: 10.1007/s002230001134.

Yogui FC, Momesso GAC, Faverani LP, Polo TOB, Ramalho-Ferreira G, Hassumi JS, et al. A SERM increasing the expression of the osteoblastogenesis and mineralization-related proteins and improving quality of bone tissue in an experimental model of osteoporosis. *Journal of Applied Oral Science*. 2018;26(18):1–13. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0329.

Zhang ML, Cheng J, Xiao YC, Yin RF, Feng X. Raloxifene microsphere-embedded collagen/chitosan/ β -tricalcium phosphate scaffold for effective bone tissue engineering. *Int J Pharm*. 2017;518(1–2):80–5. doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.12.031.