

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta tese/dissertação
será disponibilizado somente a partir de
01/08/2024.

At the author's request, the full text of
this thesis/dissertation will not be
available until Aug 01, 2024.



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

CLARISSA CARVALHO MARTINS MACIEL

**FIBRA DE CARBONO: caracterização e avaliação da resposta
inflamatória e toxicidade em ratos**

2022

CLARISSA CARVALHO MARTINS MACIEL

FIBRA DE CARBONO: caracterização e avaliação da resposta inflamatória e toxicidade em ratos

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

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Estudos sobre Microbiologia, Imunologia e terapia em Periodontia e Implantodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Carvalho De Marco

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2022]. 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).

Maciel, Clarissa Carvalho Martins

Fibra de carbono: caracterização e avaliação da resposta inflamatória e toxicidade em ratos / Clarissa Carvalho Martins Maciel. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.
55 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Andrea Carvalho De Marco.

1. Fibra de carbono . 2. Testes mecânicos. 3. Materiais biocompatíveis. 4. Engenharia tecidual . I. De Marco, Andrea Carvalho, orient. II. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. III. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. IV. Universidade Estadual Paulista (Unesp). V. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Andréa Carvalho de Marco (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dra. Marianne Spalding

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Fábio da Silva Matuda

Universidade do Vale do Paraíba (Univap)

Fundação Valeparaibana de Ensino - FVE

Campus de São José dos Campos

São José dos Campos, 01 de agosto de 2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois Ele cuidou de todos os meus passos até aqui.

A minha família, namorado e amigos, por todo o apoio e amor.

Ao Instituto de Ciência e Tecnologia – Unesp, pela acolhida.

Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Prof. Assoc. Luciane Dias de Oliveira, atual Programa Ciências Aplicadas à Saúde Bucal – CASB, na pessoa do coordenador Prof. Dr. Assoc. Alexandre Luiz Souto Borges.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, Profa. Dra. Andréa Carvalho De Marco, Prof. Dra. Maria Aparecida Neves Jardim, Prof. Dr. Mauro Pedrine Santamaria e o Prof. Dr. Sérgio Lúcio P. de Castro Lopes.

As docentes do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, Prof. Dra Ana Lia Anbinder e Prof. Dra Luana Marotta Reis de Vasconcellos.

Aos técnicos dos laboratórios por toda ajuda na realização de testes, Márcio Marques e Thais Paradella (Materiais Odontológicos e Prótese), Sérgio Alves (Patologia).

Aos meus amigos da Pós-graduação, pelo companheirismo e ajuda diária. Leticia Cavassini Torquato, Kauê Alberto Pereira, Eduardo Chelin e Nátaly Domingues.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado no período de 01/03/2020 – 30/09/2020 (88887.489676/2020-00), de 01/10/2020 a 31/08/2021 (88887.529146/2020-00) e de 01/03/2022 a 31/07/2022 (88887.668150/2022-00).

À minha orientadora Prof. Dra. Andréa Carvalho De Marco pela dedicação, companheirismo, respeito e carinho comigo e com nossa pesquisa.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 PROPOSIÇÃO	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Preparação da fibra de carbono e ativação	14
3.2 Caracterização da Fibra de Carbono	17
3.2.1 Molhabilidade (ângulo de contato)	17
3.2.2 Avaliação das propriedades de tensão da fibra de carbono – Ensaio de tração	18
3.2.3 Ensaio de Intumescimento	19
3.3 Modelo Experimental <i>in vivo</i>	21
3.3.1. Procedimento cirúrgico para a implantação dos corpos de prova no tecido subcutâneo.....	21
3.3.2 Processamento histológico para avaliação do tecido subcutâneo	23
3.3.3 Análises histológica descritiva e histomorfométrica (avaliação da densidade de fibras colágenas).....	24
3.3.4 Processamento histológico para avaliação da toxicidade nos órgãos .	26
3.4 Análise estatística	26
4 RESULTADOS	27
4.1 Teste de molhabilidade.....	27
4.2 Ensaio de tração.....	28
4.3 Ensaio de intumescimento	29
4.4. Análise histológica do implante subcutâneo.....	31
4.5 Análise histomorfométrica (picrosirius)	34
4.6 Avaliação dos sinais clínicos e histológicos de toxicidade	38
5 DISCUSSÃO	44
6 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARRIVE	Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments
BMP	Proteínas morfogênicas ósseas
BTE	Engenharia de Tecidos Ósseos
CONCEA	Conselho Nacional de Experimentação em Animais
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CNT	Nanotubos de Carbono
cPAN	Fibra de Poliacrilonitrila Carbonizada
CPS	Fosfato de Cálcio
FCA	Fibra de Carbono Ativado
FFCA	Feltro de Fibra de Carbono Ativado
FFCAg	Feltro de Fibra de Carbono Ativado com Prata
FFCNA	Feltro Fibra de Carbono não ativado
FGF	Fator de crescimento fibroblástico
HE	Hematoxilina e Eosina
IL-6	Interleucina 6
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
PAN	Fibra de Poliacrilonitrila
PDGF	Fator de Crescimento derivado de plaquetas
TFCA	Tecido Fibra de Carbono Ativado
TGF- β	Fator de Crescimento Transformante Beta
VEGF	Fator de Crescimento endotelial vascular

Maciel CCM. Fibra de carbono: caracterização e avaliação da resposta inflamatória e toxicidade em ratos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a Fibra de Carbono obtida a partir da fibra PAN têxtil e de fibra de algodão, nas suas diferentes formas de apresentação: Feltro Fibra de Carbono Não Ativado (FFCNA), Feltro Fibra de Carbono Ativado (FFCA), Feltro de Fibra de Carbono Ativado com Prata (FFCAAg) e Tecido Fibra de Carbono Ativado (TFCA), com vistas à obtenção de *scaffolds* como potencial material com propriedades relativas à enxerto ósseo sintético. Foram realizados testes de caracterização: molhabilidade de superfície, ensaio de tração, ensaio de intumescimento e testes *in vivo*: avaliação da resposta inflamatória pela implantação dos materiais no tecido subcutâneo de quatorze ratos Wistar, avaliação das fibras colágenas pela coloração *Picrosirius Red* e avaliação da toxicidade nos seguintes órgãos: coração, baço, fígado e rim. No teste de molhabilidade, FFCNA e TFCA se mostraram hidrofóbicos ($\theta 124^\circ$ e 114°), FFCA e FFCAAg hidrofílicos. Para tensão máxima FFCA se apresentou mais resistente (2.983 ± 1.059). No ensaio de intumescimento os grupos FFCAAg e FFCA se mostraram com maior porcentagem de absorção para a solução PBS e água destilada. Os animais não apresentaram sinais clínicos de intoxicação. Os órgãos não apresentaram sinais de toxicidade sistêmica aguda. As regiões dos implantes apresentaram infiltrado inflamatório de leve a moderado em 7 e 21 dias. Apenas o grupo TFCA não apresentou maturação de fibras colágenas tipo I em 21 dias. Por meio das análises realizadas constatou-se que o TFCA se apresentou hidrofóbico, pouco resistente a tração e baixo potencial para maturação de fibras colágenas. Portanto o TFCA mostra-se com pouco potencial para ser indicado como possível scaffold para engenharia tecidual óssea. Conclui-se que FFCNA, FFCA e FFCAAg, possuem potencial para serem consideradas *scaffolds*, devido as seguintes características que foram apresentadas: boa taxa de absorção, hidrofiliidade e atóxicas.

Palavras-chave: Fibra de carbono. Testes mecânicos. Materiais biocompatíveis. Engenharia tecidual.

Maciel CMM. Carbon Fiber from PAN textile fibers: characterization and evaluation of the inflammatory response and toxicity in rats [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the Carbon Fiber obtained from PAN textile fiber and cotton fiber, in its different forms of presentation: Non-Activated Carbon Fiber Felt (FFCNA), Activated Carbon Fiber Felt (FFCA), Activated Carbon Fiber with Silver (FFCAAg) and Activated Carbon Fiber Tissue (TFCA), with a view to obtaining scaffolds as a potential material with properties related to synthetic bone graft. Characterization tests were performed: surface wettability, traction test, swelling test and in vivo tests: evaluation of the inflammatory response by implanting the materials in the subcutaneous tissue of fourteen Wistar rats, evaluation of collagen fibers by Picrosirius Red staining and evaluation of toxicity in the following organs: heart, spleen, liver and kidney. In the wettability test, FFCNA and TFCA were hydrophobic ($\theta 124^\circ$ and 114°), FFCA and FFCAAg were hydrophilic. For maximum stress FFCA was more resistant (2.983 ± 1.059). In the swelling test, the FFCAAg and FFCA groups showed the highest percentage of absorption for the PBS solution and distilled water. The animals did not show clinical signs of intoxication. The organs showed no signs of acute systemic toxicity. The implant regions showed mild to moderate inflammatory infiltrate at 7 and 21 days. Only the TFCA group did not show maturation of type I collagen fibers in 21 days. Through the analyzes carried out, it was found that the TFCA was hydrophobic, with little resistance to traction and low potential for collagen fiber maturation. Therefore, TFCA shows little potential to be indicated as a possible scaffold for bone tissue engineering. It is concluded that FFCNA, FFCA and FFCAAg have the potential to be considered scaffolds, due to the following characteristics that were presented: good absorption rate, hydrophilicity and non-toxic.

Keywords: Carbon fiber. Mechanical tests. Biocompatible materials. Tissue engineering.

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado, composto por diferentes componentes celulares, osteoblastos, osteoclastos, osteócitos, células precursoras osteogênicas e elementos hematopoéticos da medula óssea, além da matriz óssea mineralizada. Os osteoblastos são as principais células do tecido ósseo, responsáveis pela formação óssea através da síntese dos componentes orgânicos da matriz extracelular e no controle da mineralização da mesma. Incorporados a esta matriz, os osteócitos participam da regulação da homeostase do cálcio no sangue, detectam sobrecarga mecânica e transmitem essa informação para outras células, regulando a função de osteoblastos e osteoclastos. Os osteoclastos, por sua vez, são células especializadas multinucleadas que se originam da linhagem hematopoética de monócitos/macrófagos. Responsáveis pela reabsorção óssea, realizam essa função através da secreção de enzimas ácidas e líticas que degradam minerais e componentes orgânicos da matriz. (Junqueira, Carneiro; 2017)

O processo de reparo ósseo quando se trata de um defeito ósseo crítico, se inicia da formação de um coágulo no local da fratura, ele é a principal fonte de mediadores inflamatórios que iniciará o processo de reparo. Osteoclastos removem o tecido necrótico nas extremidades do local agredido. Fatores de crescimento PDGF, TGF- β , FGF, VEGF e BMP estimulam a proliferação e diferenciação de células precursoras existentes no canal medular, no periosteio ou da circulação (células tronco e células endoteliais), que originam vasos sanguíneos, condroblastos e osteoblastos envolvidos no processo de reparador. Na região onde o coágulo se forma os fatores de crescimento induzem a diferenciação de células mesenquimais, dando origem a fibroblastos, vasos sanguíneos e condroblastos que formarão o calo mole, entre a 2^o e 3^o semana após a agressão. No período da 4^o a 17^o semana o calo duro se origina da ossificação do calo mole e da formação do osso membranoso iniciada pelo periosteio (Bogliolo Filho, 2021).

Na fase final de reparo, a matriz óssea e a cartilagem são remodeladas em osso maduro. A vitamina D e Cálcio são essenciais para essa fase. O período de remodelação depende de cada indivíduo, podendo demorar meses.

O processo de reparo é natural e eficaz, mas em alguns casos há necessidade da utilização de enxertos, quando se trata de um defeito de tamanho crítico, por exemplo (Lindhe, Lang; 2018; Amini et al., 2012). O enxerto ósseo autógeno, ainda é considerado o padrão ouro, pois fornece componentes osteocondutores, osteoindutores e osteogênicos (Rather et al., 2019). Porém, esse tipo de enxerto possui algumas desvantagens: a necessidade de dois sítios cirúrgicos, um doador e outro receptor, disponibilidade óssea do sítio doador, tendência à reabsorção parcial, desconforto pós-operatório, morbidade no local doador, risco de parestesia (Loyola et al., 2018; Zhao et al., 2011).

Tendo em vista essas limitações, o desenvolvimento de materiais para enxerto ósseo vem sendo abundantemente estudado. A busca para materiais com características osteo-condutivas, osteo-indutivas e de osteo-integração, são essenciais para promover o crescimento de um novo osso, além da interação com o tecido adjacente (Bow et al., 2019). A utilização de enxertos xenógenos, alógenos e sintéticos aparece como uma opção atraente para suprir as limitações do enxerto autógeno (Hasan et al., 2018).

A Engenharia de Tecido Ósseo (BTE), é uma área estudada por cientistas, engenheiros e cirurgiões, com objetivo de criar enxertos ósseos, através de estruturas nano, micro e macro para a reparação e regeneração óssea. Os pontos-chaves da BTE são: (1) Biocompatibilidade do material que será utilizado como “arcabouço”, deve ser semelhante ao tecido ósseo natural e do nicho da matriz extracelular (2) Necessidade de células osteogênicas para estabelecer a matriz de tecido ósseo. (3) Sinais morfogênicos que auxiliem no direcionamento das células para o fenótipo desejável e (4) vascularização suficiente para atender o tecido em crescimento, suprir necessidades e liberar nutrientes (Amini et al., 2012; Gao et al., 2017).

Esse ramo da engenharia de tecidos, tem voltado sua atenção para os tratamentos de defeitos ósseos considerados de tamanho crítico, aqueles que não apresentam cura espontânea. Materiais tradicionais como cerâmicas e polímeros, vem sendo aplicados como materiais de estruturação na engenharia de tecido ósseo. Entretanto, suas aplicações clínicas têm se mostrado limitadas. Recentemente materiais com estruturas nanométricas a base de carbono vem ganhando espaço por apresentar melhores propriedades como: ótima força

mecânica, grande área de superfície, alta biocompatibilidade, preço acessível e abundância de recursos. Além disso, em comparação aos enxertos ósseos tradicionais, os arcabouços produzidos possuem certas vantagens, como maior vida útil, facilidade de esterilização, baixa chance de infecção e menor custo (Peng et al., 2020; Ryu et al., 2014).

Entre os diferentes tipos de arcabouços temos os de origem metálica, como titânio, magnésio e aço inoxidável. Estes apresentam ótima propriedade mecânica e estabilidade. Porém não são reabsorvíveis e não interagem com as biomoléculas. Além disso ainda existe uma grande preocupação sobre a toxicidade dos íons metálicos, que podem levar a um dano tecidual (Rather et al., 2019; Peng et al., 2020).

As biocerâmicas bioativas, como a cerâmica de fosfato de cálcio, hidroxiapatita e bioglasses são materiais que interagem com os tecidos adjacentes e induzem fortemente a osteocondução promovendo a formação óssea. Os arcabouços de fosfato de cálcio (CPS), conseguem proporcionar uma substituição óssea transitória. O osso fica mais rígido e forte quando amadurece enquanto a CPS fica mais fraca e se biodegrada a ponto de ser totalmente substituída pelo osso recém-formado (Denry, Kuhn, 2016). Porém, sua baixa resistência e alta fragilidade, restringem os seus locais de aplicação (Zhang et al., 2011).

Materiais a base de carbono vem sendo amplamente estudados para cultura de células. As fibras de carbono ativado (FCA) possuem uma estrutura porosa bem definida em sua superfície, o que propicia uma rápida adsorção para componentes específicos. Porém a FCA possui a desvantagem de conter um custo relativamente alto. No intuito de deixar esse material economicamente mais atrativo ela foi incorporada a fibra de poliacrilonitrila (PAN) (Marcuzzo et al., 2016).

A fibra de poliacrilonitrila carbonizada (cPAN) é um isomorfo de carbono que pode ser facilmente processado para a utilização em arcabouços 3D. Suas propriedades biológicas para o uso na engenharia tecidual não estão totalmente elucidadas, mas há estudos otimistas sobre sua ação osteoindutora e sobre sua biocompatibilidade. Comparada a outros materiais, como estruturas nanométricas, a cPAN apresentou melhor biocompatibilidade e viabilidade celular (Ryu et al., 2014).

O feltro de fibra de carbono ativado (FFCA) é derivado da cPAN após o processo de ativação, que compreende sua exposição ao dióxido de carbono a

1000°C por 50 minutos (Marcuzzo et al., 2016). A partir da fibra de algodão, por meio do mesmo processo, é obtido o tecido fibra de carbono ativado (TFCA) (do Amaral Junior et al., 2017).

No estudo de Marcuzzo et al. (2016), foi realizada uma análise da estrutura dos poros pela adsorção de gás nitrogênio a 77K. Além disso, iodo e isotérmica de azul de metileno foram utilizados para determinar a capacidade de adsorção. Os resultados obtidos indicaram que esse material ativado é predominantemente preenchido com microporos com cerca de 3,2 nm de largura máxima. A maioria dos poros são dimensionados em torno de 1,2 nm.

Visando complementar os testes das formas de apresentação da cPAN, este estudo tem como objetivo realizar teste de molhabilidade, para a verificação do ângulo de contato; ensaio de tração para verificar a resistência da fibra; ensaio de intumescimento para verificação da capacidade de absorção e também teste *in vivo*, para avaliação da resposta inflamatória e toxicidade em ratos.

6 CONCLUSÃO

Por meio das análises realizadas constatou-se que o TFCA se apresentou hidrofóbico, pouco resistente a tração e baixo potencial para maturação de fibras colágenas. Portanto o TFCA mostrou-se com pouco potencial para ser indicado como possível scaffold para engenharia tecidual óssea.

Conclui-se que FFCNA, FFCA e FFCAAg, possuem potencial para serem consideradas *scaffolds*, devido às seguintes características apresentadas: boa taxa de absorção, hidrofiliabilidade e atóxicas.

REFERÊNCIAS*

- Amaral RH, Rogero SO, Curz AS, Sacramento RS, Lima Filho AAS, Schor P, et al. Estudo de hidrogéis de poli(vinil pirrolidona) (pvp) para utilização na área oftalmológica. International Nuclear Atlantic Conference; 2005; Santos, Brasil. Available from: repositorio.ipen.br/bitstream/handle/123456789/18275/10574.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 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.
- Aoki K, Usui Y, Narita N, Ogiwara N, Iashigaki N, Nakamura K, et al. A thin carbon-fiber web as a scaffold for bone-tissue regeneration. *Small.* 2009 Jul;5(13):1540-6. doi: 10.1002/sml.200801610. PMID: 19334009.
- Bagheri ZS, Giles E, El Sawi I, Amleh A, Schemitsch EH, Zdero R, et al. Osteogenesis and cytotoxicity of a new Carbon Fiber/Flax/Epoxy composite material for bone fracture plate applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015 Jan;46:435-42. doi: 10.1016/j.msec.2014.10.042. Epub 2014 Oct 22. PMID: 25492008.
- Bogliolo Filho G - Patologia. 10.ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan; 2021.
- Borges LF, Gutierrez PS, Marana HR, Taboga SR. Picrosirius-polarization staining method as an eficiente histopathological tool for collagenolysis detection in vesical prolapse lesions. *Micron.* 2007;38(6):580-3. doi: 10.1016/j.micron.2006.10.005. Epub 2006 Nov 13. PMID: 17126553.
- Bow A, Anderson DE, Dhar M. Commercially available bone graft substitutes: the impact of origin and processing on graft functionality. *Drug Metab Rev.* 2019 Nov;51(4):533-44. doi: 10.1080/03602532.2019.1671860. Epub 2019 Oct 2. PMID: 31577468.
- Bron NJ, Martínez MPA, Ramírez MGL, Tinajero MC, Lagunas ALH, Bramante CM. Inflammatory response of Bioceramic material to dentin tube implantation in rats' subcutaneous tissue. *Rev Odont Mex.* 2016;20(3):174-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rodex.2016.08.004>..
- Camargo SE, Rode Sde M, do Prado RF, Carvalho YR, Camargo CH. Subcutaneous tissue reaction to castor oil bean and calcium hydroxide in rats. *J Appl Oral Sci.* 2010 May-Jun;18(3):273-8. doi: 10.1590/s1678-77572010000300014. PMID: 20857007; PMCID: PMC5349050.
- Chen CC, Hijaz A, Drazba JA, Damaser MS, Daneshgari F. Collagen remodeling and suburethral inflammation might account for preserved anti-incontinence effects of cut polypropylene sling in rat model. *Urology.* 2009 Feb;73 (2):415-20. doi:

10.1016/j.urology.2008.07.033. Epub 2008 Oct 1. PMID: 18829083; PMCID: PMC4160051.

Cuttle L, Nataatmadja M, Fraser JF, Kempf M, Kimble RM, Hayes MT. Collagen in the scarless fetal skin wound: detection with picosirius-polarization. *Wound Repair Regen.* 2005 Mar-Apr;13(2):198-204. doi: 10.1111/j.1067-1927.2005.130211.x. PMID: 15828945.

Denry I, Kuhn LT. Design and characterization of calcium phosphate ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Dent Mater.* 2016 Jan;32(1):43-53. doi: 10.1016/j.dental.2015.09.008. Epub 2015 Sep 28. PMID:26423007; PMCID: PMC4696887.

Deppisch R, Storr M, Buck R, Göhl H. Blood material interactions at the surfaces of membranes in medical applications. *Sep Purif Technol.* 1998;14(1-3):241–54.

do Amaral Junior MA, Matsushima JT, Rezende MC, Gonçalves ES, Marcuzzo JS, Baldan MR. Production and characterization of activated carbon fiber from textile PAN Fiber. *J Aerosp Technol Manag.*2017;9(4):423-30. doi: 10.5028/jatm.v9i4.831.

Fazzalari NL. Bone fracture and bone fracture repair. *Osteoporos Int.* 2011 Jun;22(6):2003-6. doi: 10.1007/s00198-011-1611-4. PMID: 21523400.

Gao C, Peng S, Feng P, Shuai C. Bone biomaterials and interactions with stem cells. *Bone Res.* 2017 Dec 21;5:17059. doi: 10.1038/boneres.2017.59. PMID: 29285402; PMCID: PMC5738879

Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Dec;1092:385-96. doi: 10.1196/annals.1365.035. PMID: 17308163.

Hasan A, Byambaa B, Morshed M, Cheikh MI, Shakoor RA, Mustafy T, et al. Advances in osteobiologic materials for bone substitutes. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018 Jun;12(6):1448-68. doi: 10.1002/term.2677. Epub 2018 May 21. PMID: 29701908.

Junqueira LCU, Carneiro J. *Histologia básica: texto e atlas.* 13.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017.

Kilkenny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2010 Jun 29;8(6):e1000412. doi: 10.1371/journal.pbio.1000412. PMID: 20613859; PMCID: PMC2893951.

Lang NP, Lindhe J. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral.* 6.ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKoogan; 2018.

Lemos MC. *Comparação entre histologia e espectroscopia de fluorescência para avaliação de atrofia cutânea induzida por glicocorticoide em ratos [dissertação].* São

Carlos. Universidade Federal de São Carlos; 2010 [2022/01/18]. Available from: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6970>.

Li Y, Wang D, Qin W, Jia H, Wu Y, Ma J, et al. Mechanical properties, hemocompatibility, cytotoxicity and systemic toxicity of carbon fibers/poly(ether-ether-ketone) composites with different fiber lengths as orthopedic implants. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2019 Dec;30(18):1709-24. doi: 10.1080/09205063.2019.1659711. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31464157.

Liu C, Wong HM, Yeung KWK, Tjong SC. Novel electrospun polylactic acid nanocomposite fiber mats with hybrid graphene oxide and nanohydroxyapatite reinforcements having enhanced biocompatibility. *Polymers (Basel).* 2016 Aug 8;8(8):287. doi: 10.3390/polym8080287. PMID: 30974562; PMCID: PMC6432366.

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.

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

Marques NC, Lourenço Neto N, Fernandes AP, Rodini Cde O, Duarte MA, Oliveira TM. Rat subcutaneoustissue response to MTA Fillapex® and Portland cement. *Braz Dent J.* 2013;24(1):10-4. doi: 10.1590/0103-6440201302120. PMID: 23657406.

Marsi TCO, Ricci R, Toniato TV, Vasconcellos LMR, Elias CMV, Silva ADR, et al. Electrospun nanofibrous poly (lactic acid)/titanium dioxide nanocomposite membranes for cutaneous scar minimization. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019 Dec 20;7:421. doi: 10.3389/fbioe.2019.00421. PMID: 31921824; PMCID: PMC6932955.

Neves JC, Mohallem NDS, Viana MM. Materiais autolimpantes: conceitos, propriedades e aplicações. *Rev Virtual Quim.* 2021;13(2):540-50. doi: 10.21577/1984-6835.20210003.

Oh SH, Kang SG, Kim ES, Cho SH, Lee JH. Fabrication and characterization of hydrophilic poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method. *Biomaterials.* 2003 Oct;24(22):4011-21. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00284-9. PMID: 12834596.

Peng Z, Zhao T, Zhou Y, Li S, Li J, Leblanc RM. Bone tissue engineering via carbon-based nanomaterials. *Adv Healthc Mater.* 2020 Mar;9(5):e1901495. doi: 10.1002/adhm.201901495. Epub 2020 Jan 24. PMID: 31976623.

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol.* 2020 Jul 14;18(7):e3000410. doi: 10.1371/journal.pbio.3000410. PMID: 32663219; PMCID: PMC7360023.

Pinho MAS, Pereira ISSO, Odo MEY, Eça LPM. Estudo histológico comparativo e controlado de fibras colágenas da pele humana após terapia celular com fibroblastos. *Surg Cosmet Dermatol* 2015;7(3):206-10. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.20157302>.

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

Rodrigues AC, da Silva EL, Quirino SF, Cuña A, Marcuzzo JS, Matsushima JT, et al. Ag activated carbon felt composite as electrode for supercapacitors and a study of three different aqueous electrolytes. *Mat Res* 2019;22(1):e20180530. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1980-5373-MR-2018-0530>.

Rosina RC, Baroni S, Cavalcanti OA. Avaliação das propriedades de intumescimento e permeabilidade de filmes isolados de polimetacrilato contendo polissacarídeo da raiz de Lótus (*Nelumbo nucifera*). *Rev Bras Ciênc Farm*.2004;40(3). doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300020>.

Ryu S, Lee C, Park J, Lee JS, Kang S, Seo YD, et al. Three-dimensional scaffolds of carbonized polyacrylonitrile for bone tissue regeneration. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2014 Aug 25;53(35):9213-7. doi: 10.1002/anie.201403794. Epub 2014 Jul 7. PMID: 25044682.

Santiago GS, Vasconcellos LMR. Guia de procedimentos gerais de experimentação – Biotério ICT [Internet]. São Jose dos Campos: SJC/UNESP [cited 2020 abr 16]. Available from: <https://www.ict.unesp.br/Home/sobreoict/departamentosdeensino/biocienciasediagnosticobucal/laboratorios/bioterio-guia-procedimentos.pdf>

Silva EA. Avaliação do processo de intumescimento da montmorilonita na intercalação e liberação do fármaco olanzapina ratos [dissertação]. Recife:Universidade Federal de Pernambuco; 2018 [2020 mar 23]. Available from: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/32965/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Edson%20Alves%20da%20Silva.pdf>

Tzoneva R, Faucheux N, Groth T. Wettability of substrata controls cell-substrate and cell-cell adhesions. *Biochim Biophys Acta*. 2007 Nov;1770(11):1538-47. doi: 10.1016/j.bbagen.2007.07.008. Epub 2007 Jul 24. PMID: 17804166

Zhang J, Tancret F, Bouler JM. Fabrication and mechanical properties of calcium phosphate cements (cpc) for bone substitution *Mater Sci Eng C*. 2011;31(4):740-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2010.10.014>.

Zhang C, Salick MR, Cordie TM, Ellingham T, Dan Y, Turng LS. Incorporation of poly(ethylene glycol) grafted cellulose nanocrystals in poly(lactic acid) electrospun nanocomposite fibers as potential scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci*

Eng C Mater Biol Appl. 2015 Apr;49:463-71. doi: 10.1016/j.msec.2015.01.024. Epub 2015 Jan 8. PMID: 25686973.

Zhao M, Zhou J, Li X, Fang T, Dai W, Yin W, et al. Repair of bone defect with vascularized tissue engineered bone graft seeded with mesenchymal stem cells in rabbits. *Microsurgery*. 2011 Feb;31(2):130-7. doi: 10.1002/micr.20854. Epub 2011 Jan 25. PMID: 21268110.

ANEXO A – Certificado de aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).



CERTIFICAMOS, que o protocolo registrado sob o nº 14/2020, intitulado:- **Fibra de carbono ativado:- Caracterização e avaliação da resposta inflamatória em ratos**, sob a responsabilidade de **ANDREA CARVALHO DE MARCO**, tendo como colaboradores:- Clarissa Carvalho Martins Maciel, Kauê Alberto Pereira, Leticia Cavassini Torquato e Eduardo Antonio Chelin Suárez, e que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009 e com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA – ICT – CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS-UNESP)**, em reunião de 19/11/2020.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	11/12/2020 a 10/12/2021
Espécie/linhagem/raça	Ratos Heterogênico Wistar
Nº de Animais	12 ratos
Peso/Idade	90 dias / 300 grs.
Sexo	Macho
Origem	Biotério Central – Campus de Botucatu-UNESP

COMPROMISSOS:-

Relatório científico	PERÍODO	ENVIO PARA A CEUA
PARCIAL	11/12/2020 a 11/06/2021	28/06/2021
FINAL	12/06/2021 a 10/12/2021	10/01/2022

Obs:- 01) O não cumprimento dos prazos já está implicando na impossibilidade de análise de novos protocolos pela CEUA/ICT_CSJC, caso não haja solicitação de prorrogação do prazo para entrega do relatório, com justificativa.

02) Será enviado via Secretaria da CEUA-ICT-CSJC-UNESP, aviso de alerta para envio do RC

São José dos Campos, 19 de novembro de 2020


Prof. Dra. CRISTIANE YUMI KOGA ITO
Vice-Coordenadora em exercício