

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

THAMIRES CARVALHO TORRES

**ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA: Desafios e perspectivas para a área dos  
biomateriais cerâmicos**

São José dos Campos

2019

THAMIRES CARVALHO TORRES

**ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA: Desafios e perspectivas para a área dos biomateriais cerâmicos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de São Paulo como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Profa. Dra. Mariana Motisuke

Coorientador: Profa. Dra. Luciane Portas Capelo

São José dos Campos

2019

THAMIRES CARVALHO TORRES

**ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA: Desafios e perspectivas para a área dos  
bomateriais cerâmicos**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal de São Paulo como requisito  
parcial para obtenção do grau de Bacharel em  
Engenharia de Materiais.

BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Mariana Motisuke

Universidade Federal de São Paulo

Orientador

Profa. Dra. Luciane Portas Capelo

Universidade Federal de São Paulo

Coorientador

Profa. Dra. Ana Paula F. Albers

Universidade Federal de São Paulo

Na qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei de direitos autorais nº 9610/98, autorizo a publicação livre e gratuita desse trabalho no Repositório Institucional da UNIFESP ou em outro meio eletrônico da instituição, sem qualquer ressarcimento dos direitos autorais para leitura, impressão e/ou download em meio eletrônico para fins de divulgação intelectual, desde que citada a fonte.

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UNIFESP São José dos Campos com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Torres, Thamires C.

ENGENHARIA TECIDUAL ÓSSEA: Desafios e perspectivas para a área dos biomateriais cerâmicos / Thamires Carvalho Torres - 2019.  
41 f.

Trabalho de conclusão de curso graduação em Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Paulo, Instituto de Ciência e Tecnologia, 2019.

Orientador: Mariana Motisuke.

Coorientador: Luciane Portas Capelo.

BONE TISSUE ENGINEERING: Challenges and Prospects for Ceramic Biomaterials.

1. Engenharia Tecidual Óssea. 2. *Scaffolds* 3. Biocerâmicas.  
4. Regeneração Óssea. I. Motisuke, Mariana. II. Trabalho de conclusão de curso em Bacharelado em Engenharia de Materiais – Universidade Federal de São Paulo, Instituto de Ciência e Tecnologia. III. Engenharia Tecidual Óssea: Desafios e perspectivas para a área dos biomateriais cerâmicos.

# Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais, Silvana e Edmilson, que sempre me incentivaram e mostraram o valor dos estudos para mim, mesmo com todas as dificuldades sempre me ajudaram na realização do meu sonho. Obrigado por toda a compreensão em todos os momentos que tive que me ausentar para estudar e me dedicar a faculdade.

Agradeço aos meus tios, Célia e Valter, que me proporcionaram todas as condições para que eu conseguisse ingressar na universidade e me manter nela. Sempre me incentivando, mesmo quando eu mesma não acreditava mais em mim. Obrigado por todo o esforço durante todos esses anos, sem vocês eu jamais teria condições o suficiente para alcançar este sonho sozinha. Sou muito grata a vocês de uma forma que não consigo mensurar!

Aos meus amigos, Victor Ribeiro, Thamyres Rollemberg, Matheus Tavares, Thais Helena e Gerson Goullart que compartilharam a jornada da graduação juntamente a mim. Agradeço por todas as madrugadas de estudo, por todas as risadas que tornaram esta jornada mais leve, pelo apoio durante todos os choros e falhas, pelo companheirismo e parceria, por ninguém ter soltado a mão de ninguém e não terem deixado eu desistir nos momentos de fraqueza, por terem sido minha família dentro da UNIFESP durante todos esses anos. Serei eternamente grata por tudo que vivemos e guardarei cada momento especial no meu coração! Não importa aonde nós estaremos, ou o que estaremos fazendo, vocês foram essenciais para que eu pudesse concluir esta jornada.

Aos meus irmãos, Vinicius, Gabriel e Guilherme e as minhas primas Gyula Sampaio, Larissa Carvalho e Nathalia Carvalho, por compreenderem todos os momentos de estresse, e momentos importantes que tive que me ausentar. Por me escutarem os meus desabafos e reclamações durante todos esses anos.

Gostaria de agradecer as minhas orientadoras Mariana Motisuke e Luciane Portas Capelo, pela confiança ao aceitarem embarcar comigo nessa jornada, por todos os ensinamentos, por todas as correções e pela paciência comigo ao longo da elaboração deste projeto.

Agradeço a professora Ana Paula Albers por aceitar fazer parte da minha banca e assim contribuir para meu enriquecimento pessoal e profissional.

Agradeço a Universidade Federal de São Paulo, por possibilitar a oportunidade de realizar o curso.

Sou grata a todos que estiveram em meu caminho neste percurso em busca da graduação em engenharia de materiais, e contribuíram de alguma forma, seja direta ou indiretamente, para o

meu crescimento pessoal, intelectual e profissional, possibilitando que o meu sonho se tornasse possível.

E por fim, porém não menos importante, eu quero agradecer a mim, por sempre estar de pé e não desistir, apesar de todas as quedas e frustrações, sempre me levantei e me recuperei. Como diria em um trecho de uma música que gosto muito “Eu fiz tudo, eu aproveitei cada segundo que este mundo podia me dar, eu vi tantos lugares, as coisas que eu fiz, com todos os ossos quebrados, eu juro que eu vivi!”

# RESUMO

As cerâmicas bioativas, sendo de origem natural ou sintética, têm sido estudadas como biosubstitutos do tecido ósseo. Estes materiais possuem ótimas propriedades *in vitro* como: biocompatibilidade, osteocondutividade e resistência à corrosão. Possuem uma grande aplicação na engenharia tecidual visto que podem facilitar e promover a proliferação celular e a produção de matriz extracelular durante o processo de regeneração e formação de novos tecidos. Existem propriedades que os biomateriais cerâmicos devem contemplar para que possam ser utilizados para esta aplicação como a taxa de degradação controlada, porosidade e interconectividade dos poros, para que seja possível a adesão e migração celular e a difusão dos nutrientes das células. Nas pesquisas atuais para a engenharia tecidual óssea geralmente são utilizados *scaffolds* cerâmicos, que são materiais que fornecem suporte para o tráfego de células para que o tecido se forme ou se regenere. Para que a regeneração tecidual óssea seja efetiva, acredita-se que seja necessário que a macro e microestrutura sejam adequadas para que seja possível a reprodução do ambiente *in vivo* existente e assim permitindo a vascularização. Recentemente verificou-se que, apesar das propriedades utilizadas para a seleção desses materiais serem lógicas e cientificamente comprovados, atualmente não estão em uso clínico. Este trabalho possui como objetivo a realização de uma revisão integrativa acerca das principais propriedades que os biomateriais cerâmicos para que possa ser feita uma discussão acerca do seu uso na engenharia tecidual, possibilitando uma otimização dos novos materiais que serão produzidos. Na revisão integrativa foi realizado um estudo sobre três questões que irão auxiliar na determinação das propriedades e características faltam para que os *scaffolds* cerâmicos pesquisados atualmente sejam utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos futuramente. Com esse estudo foi possível identificar que futuros estudos devem focar na produção de materiais compósitos e na incorporação de fatores de crescimento e/ou células para os *scaffolds*, pois com através destes os ensaios clínicos estão obtendo sucesso.

**Palavras-chaves:** engenharia tecidual óssea, biomateriais, biocerâmicas, tecido ósseo, regeneração óssea.

# ABSTRACT

Bioactive ceramics, being of natural or synthetic origin, have been studied as biosubstitutes for bone tissue. These materials have excellent in vitro properties such as biocompatibility, osteoconductivity and corrosion resistance. They have a great application in tissue engineering since they can facilitate and promote cell proliferation and the production of extracellular matrix during the process of regeneration and formation of new tissues. There are properties that ceramic biomaterials must contemplate so that they can be used for this application as the rate of controlled degradation, porosity and pore interconnectivity, so that cellular adhesion and migration and the spread of nutrients from cells are possible. In current research for bone tissue engineering ceramic scaffolds are generally used, which are materials that provide support for cell traffic so that the tissue forms or regenerates. In order for the bone tissue regeneration to be effective, it is believed that it is necessary that the macro and microstructure are suitable for the reproduction of the existing in vivo environment and thus allowing the vascularization. It was recently verified that, although the properties used for the selection of these materials are logically and scientifically proven, they are not currently in clinical use. The objective is performing an integrative review about the main properties that the ceramic biomaterials can be made a discussion about their use in tissue engineering, enabling the optimization of the new materials that will be produced. In the integrative review, a study was conducted on three issues that will help in the determination of the properties and characteristics missing so that the ceramic scaffolds researched are currently used for bone regeneration in trials clinics in the future. With this study it was possible to identify which future studies should focus on the production of composite materials and the incorporation of growth factors and/or cells for scaffolds, because through these clinical trials are succeeding.

**Keywords:** bone tissue engineering, biomaterials, bioceramics, bone tissue, bone regeneration.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Requisitos para os <i>Scaffolds</i> .....	23
Figura 2 – Imagem de alta potência onde mostra contato próximo do enxerto de BCP com o osso recém-formado (NB). .....	33
Figura 3 - Visão histológica do enxerto mostrando a formação de tecido fibroso denso (FB) associado às partículas de BCP .....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização dos artigos avaliados na revisão integrativa .....	26
Tabela 2: Materiais utilizados para a produção dos <i>scaffolds</i> . .....	27
Tabela 3: Síntese das principais propriedades identificadas para os materiais na literatura. ....	31
Tabela 4: Caracterização dos artigos avaliados na revisão integrativa .....	32
Tabela 5: Materiais cerâmicos utilizados para a regeneração óssea.....	32
Tabela 6: Síntese das principais propriedades e características identificadas para os materiais cerâmicos na literatura.....	36

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\beta$ bFGF	Fator Básico de Crescimento de Fibroblastos
$\beta$ -TCP	$\beta$ - fosfato tricálcico
BCP	Fosfato de Cálcio Bifásico
BG	Vidro Bioativo
BMP	Proteína Morfogenética Óssea
CTM	Célula Estromal Mesenquimal
EGF	Fator de Crescimento Epidérmico
FDM	Modelagem de deposição por fusão
HA	Hidroxiapatita
HGF	Fator de Crescimento de Hepatócitos
KGF	Fator de Crescimento de Queratinócitos
MSC	Células Estromais Mesenquimais
PCL	Policaprolactona
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PLLA	Poli (ácido L-láctico)
PLGA	Poli (D, L lactido-co-glicólido)
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
rhPDGF-BB	Fator de Crescimento BB recombinante derivado de plaquetas humanas

TCP      Fosfato tricálcico

TGF      Fator de Crescimento Transformador

# LISTA DE SÍMBOLOS

$\beta$       Beta

$\mu$       Micro

# SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
2. Objetivos e Justificativas.....	17
3. Revisão de Literatura .....	18
3.1. Engenharia Tecidual – Evolução.....	18
3.2. Biomateriais em estudo e desenvolvimento voltados ao reparo do tecido ósseo .....	19
3.3. Regeneração Óssea .....	20
3.4. Biocerâmicas .....	22
3.5. <i>Scaffolds</i> para engenharia tecidual .....	22
4. Material e Métodos.....	24
5. Resultados e Discussões.....	26
5.1. Propriedades dos <i>Scaffolds</i> utilizados em ensaios clínicos nos últimos 5 anos.....	26
5.2. Propriedades e Características dos materiais cerâmicos utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos nos últimos 5 anos .....	31
5.3. Propriedades e características que faltam para que os <i>scaffolds</i> cerâmicos pesquisados atualmente sejam utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos futuramente .....	37
6. Conclusões .....	38
7. Referências .....	39

## 1. Introdução

A engenharia tecidual recentemente tornou-se uma alternativa para a regeneração de tecidos lesionados. É uma ciência que permite a utilização dos fundamentos de engenharia para auxiliar na compreensão do funcionamento dos tecidos e, conseqüentemente, permitir que ocorra o desenvolvimento de materiais que restaurem, mantenham ou melhorem estes tecidos. [1]

É uma área promissora que promove, direciona e induz a capacidade de regeneração dos tecidos e auxilia na sua recuperação onde as chances de cura natural não são possíveis. [2]

Com os recentes avanços das pesquisas em biomateriais, células-tronco, crescimento e diferenciação de células e no microambiente tecidual, tornou-se possível a produção de tecidos em laboratório por meio da combinação de matrizes extracelulares, células e moléculas biologicamente ativas. Os tecidos gerados por meio da engenharia tecidual podem ser utilizados para substituir tecidos duros ou moles lesionados, entretanto nesta pesquisa focaremos no estudo da engenharia tecidual para tecidos duros ósseos. [1] [3]

As lesões ósseas são tratadas usualmente através de enxertos alogênicos ou xenogênicos, os enxertos alogênicos consistem em enxertos ósseos entre indivíduos geneticamente diferentes, porém da mesma espécie, já os enxertos xenogênicos consistem em enxertos ósseos entre indivíduos de espécies diferentes. Esses tratamentos apresentam uma variedade de problemas sendo os principais escassez de doadores, transmissão de doenças e alta morbidade. Em virtude destes problemas, a engenharia tecidual surge como uma alternativa promissora para atuar na regeneração desta lesões complexas, reduzindo a necessidade de doadores, evitando morbidade e a transmissão de doenças, que são as limitações encontradas no transplante direto. [1] [4] [5]

Para que o crescimento das células ocorra, geralmente estas são cultivadas em estruturas artificiais chamadas de *scaffolds*, que agem como moldes para a formação de tecidos. Esta estrutura futuramente pode ser implantada contendo células, que podem ser de fontes variadas. Caso sejam usadas células do próprio paciente, seriam minimizadas as respostas imunes do corpo após a implantação. Estudos supõem que o sucesso da regeneração dos tecidos depende da microestrutura do *scaffold* e do biomaterial utilizado, visto que estes precisam reproduzir o ambiente *in vivo* existente e permitir que as células se proliferem e ocorra a vascularização. No entanto, as células podem não se proliferar no *scaffold* caso ocorra uma ausência de sistemas de sinalização, que é constituído por genes que codificam produtos transcricionais quando ativados diferencialmente e

preparam a formação de tecidos, e/ou da matriz extracelular, que suporta a ligação celular e promove a proliferação das células. [1] [4]

Atualmente os biomateriais que estão em estudo para a produção de *scaffolds* visando a aplicação em tecidos ósseos são as cerâmicas bioativas, que podem ser de origem natural ou sintética. De acordo com Pina S. estas cerâmicas são denominadas de bioativas pois formam uma forte ligação com os tecidos vivos após a implantação. [6]

Para que uma cerâmica seja denominada de bioativa, de acordo com a literatura ela deve ter como principais características biocompatibilidade, osteocondutividade e resistência à corrosão. Devido à estas características, costumam ser estudadas para a aplicação na engenharia tecidual pois alguns estudos mostraram que elas auxiliam na estimulação da diferenciação celular e extracelular, além de auxiliar na produção da matriz extracelular durante o processo de regeneração. Entretanto possuem algumas desvantagens como baixa tenacidade à fratura, fragilidade, baixa elasticidade e elevada rigidez, o que resulta em uma limitação em suas aplicações para a engenharia tecidual. [6]

A regeneração do tecido terá êxito se as interações entre células e as interações entre a célula e a estrutura forem efetivas. Um biomaterial ideal para *scaffolds* deve permitir que ocorra a adesão e migração celular, a difusão de nutrientes de células vitais e produtos secretados, vascularização, e o apoio de funções mecânicas e biológicas em situações particulares. [1]

A porosidade total, a distribuição de tamanhos de poro e a interconectividade são parâmetros que devem ser controlados e ajustados para que o *scaffold* seja eficiente. A porosidade, pode afetar a velocidade de regeneração do tecido através da área superficial, o tamanho de poro deve ser suficientemente grande para que tenha espaço o suficiente para o crescimento celular, e a interconexão da porosidade deve ocorrer obrigatoriamente, garantindo que o transporte de materiais e a migração de células ocorra. O processo de degradação-reabsorção do biomaterial também deve ser controlado. [6]

A engenharia tecidual encontra-se em seus estágios iniciais de desenvolvimento, buscando melhorias nas interações entre os *scaffolds* e as células, devido à problemas na vascularização e difusão de nutrientes. [6] [7]

Apesar de ser uma área promissora, ela avança muito lentamente em relação as aplicações clínicas. Os ensaios clínicos encontrados são limitados, apesar de ocorrer uma quantidade enorme de estudos nessa direção. Existem três elementos essenciais para a engenharia tecidual: células, *scaffold*, e fatores de crescimento. Além desses elementos, existem muitos fatores que são críticos

para a engenharia tecidual, como a fonte celular, construção do *scaffold*, o ambiente de cultura, a preparação da matriz, e por fim as características mecânicas. [2]

Existe uma grande variedade de exigências técnicas que devem ser atendidas para que um *scaffold* possa ser aplicado na engenharia tecidual óssea, entretanto o cumprimento dessas exigências é uma tarefa muito complexa, tornando-se um desafio para ser resolvido atualmente. Os principais desafios técnicos atuais incluem: a escolha do conteúdo das células do *scaffold*, visto que o tipo de célula eficaz a ser utilizado permanece incerto; vascularização suficiente no interior do *scaffold*, pois na sua ausência as células irão depender da difusão para sua sobrevivência; controle da degradação do *scaffold*, se a degradação ocorrer rapidamente uma falha poderá ocorrer, assim como se a degradação não for suficientemente rápida, irá gerar uma resposta inflamatória, dificultando a regeneração. [8]

Recentes estudos estão investigando o uso de cerâmicas bioativas como um material para regeneração óssea está sendo eficaz. Esses estudos são importantes para que ocorra otimização do *scaffold*, tornando possível o fornecimento de um ambiente semelhante ao ambiente natural *in vivo* para que as células ósseas possam regenerar, realizando um aumento da osteointegração entre o implante e o osso. [9]

## 2. Objetivos e Justificativas

Os *scaffolds* produzidos com cerâmicas bioativas para que possam ser aplicados na engenharia tecidual óssea ainda se encontram em estágios iniciais de desenvolvimento, visto que para que sejam eficientes é necessário que as interações entre a estrutura e a célula devem ocorrer da melhor forma possível.

No entanto, para que desenvolvimento desse material obtenha êxito é necessária uma pesquisa sobre quais as propriedades e características que estes materiais precisam possuir para que estas interações ocorram de forma apropriada, resultando na regeneração óssea.

Dessa maneira, este trabalho possui como principal objetivo a realização de uma revisão integrativa, onde irá ocorrer um levantamento bibliográfico acerca das principais propriedades e características que os *scaffolds* biocerâmicos devem contemplar para que o reparo e crescimento de novos tecidos na engenharia tecidual sejam realmente efetivos, possibilitando uma otimização dos materiais já existentes e dos que serão produzidos futuramente.

Possuindo como objetivos específicos:

- Determinação das principais propriedades que *os scaffolds* que estão sendo utilizados em ensaios clínicos atualmente possuem;
- Realização do estudo sobre as propriedades e características que as cerâmicas que estão sendo utilizadas em ensaios clínicos para a regeneração óssea possuem;
- Análise comparativa entre as propriedades e características que os *scaffolds* e os materiais cerâmicos que estão sendo utilizados em ensaios clínicos atualmente possuem, visando a determinação das propriedades faltantes para que a regeneração óssea seja efetiva.

### 3. Revisão de Literatura

#### 3.1. Engenharia Tecidual – Evolução

Em 1993 a engenharia de tecidual foi definida por Langer R. e Vancanti J. como um campo interdisciplinar, onde os princípios de engenharia e ciências biológicas são aplicados para que ocorra o desenvolvimento de substitutos biológicos que restaurem, mantenham ou melhorem a função do tecido. Oferecendo a possibilidade da produção de futuros substitutos mais baratos do que realizar transplantes de órgãos, e com o potencial de melhorar a qualidade de vida e aumentar a longevidade. [10]

Nesta época a engenharia tecidual ainda não havia sido muito desenvolvida, sendo necessário aprender mais sobre a biologia celular, sobre como é possível controlar a diferenciação e o crescimento celular, e como os componentes da matriz extracelular afetam a função celular. [10]

O reparo ósseo antes da engenharia tecidual era realizado através de enxertos ósseos autógenos ou alogênicos. Os enxertos alogênicos consistem em enxertos ósseos entre indivíduos geneticamente diferentes, porém da mesma espécie, já os enxertos xenogênicos consistem em enxertos ósseos entre indivíduos de espécies diferentes. Contudo ambos apresentavam problemas ao serem implantados e ainda não eram eficientes. Com a engenharia tecidual foi possível perceber que o crescimento ósseo pode ser induzido se as células forem cultivadas em materiais poliméricos ou cerâmicos, tendo em vista que são materiais bioativos, ou seja, são capazes de formar um vínculo com o tecido circundante após a implantação. [5] [10]

Para que o osso cresça nesses materiais, é necessário que sejam porosos, possibilitando que o crescimento ósseo ocorra através dos poros, o que favoreceria a união entre o implante e osso. Também é desejável que esses materiais sejam reabsorvíveis com o tempo, dado que estes materiais

perdem a força à medida que envelhecem. [10]

Em 1999 foi visto que a engenharia tecidual obteve sucesso na produção de uma grande variedade de tecidos, e esta área acabou recebendo grande atenção. Seu mercado potencial total de produtos em 1998 nos EUA era de US\$ 80 bilhões anuais. [11]

Após 6 anos de pesquisa, ocorreu um progresso nas pesquisas de matrizes, células, sistemas *in-vitro* de biorreatores e na geração de dispositivos com seu próprio suprimento vascular. O maior avanço foi o reconhecimento de que os sistemas tridimensionais mais espessos podem formar tecidos vascularizados *in vivo*. Estes sistemas possuem estruturas com elevada porosidade para que seja possível a transferência de células. [11]

Atualmente a engenharia tecidual pode ser definida como processos que incorporam células, materiais de engenharia e fatores bioquímicos para criar um tecido projetado. Durante esses anos de desenvolvimento a maioria dos tecidos foram estudados, e pesquisas foram realizadas para estudar a possibilidade de substituição destes por estruturas artificiais de tecidos vivos, para que possam ser aplicados clinicamente. [3] [12]

Os produtos que podem ser encontrados atualmente no mercado, são aplicados em ortopedia, aplicações cirúrgicas abdominais e gastrointestinais. É visível o avanço das aplicações desta área, visto que quando a engenharia tecidual teve início, uma das suas aplicações era em curativos biologicamente ativos, que combinava materiais sintéticos e produtos de tecido animal com a finalidade de cobrir temporariamente queimaduras até que os enxertos pudessem ser realizados, porém atualmente já é possível encontrar produtos como pele artificial. [3]

### **3.2. Biomateriais em estudo e desenvolvimento voltados ao reparo do tecido ósseo**

Acredita-se que os biomateriais devem cumprir vários requisitos para que possam ser utilizados na regeneração do tecido ósseo. São eles: [13]

- **Biocompatibilidade:** Pode ser definida como a capacidade do material de executar as funções desejadas sem que ocorra risco de lesão do tecido, toxicidade ou rejeição pelo sistema imunológico do hospedeiro. É um requisito básico para que a regeneração óssea ocorra, visto que a célula deve aderir e migrar através da superfície deste material para que a proliferação ocorra antes de formar uma nova matriz. Se o biomaterial não for biocompatível, ao ser implantado irá causar uma reação inflamatória, toxicidade, teratogenicidade, hemólise e reações de coagulação que comprometem a segurança e a saúde do hospedeiro. [13] [14]

- **Bioreabsorção:** É um processo fisiológico necessário uma vez que os biomateriais devem se degradar gradualmente para que a célula seja capaz de produzir sua própria matriz extracelular e ao mesmo tempo induzir o crescimento nova célula para o biomaterial implantado. A taxa de degradação ideal de um material seria a lenta reabsorção do material enquanto é substituído pelo tecido, mas a obtenção dessa taxa ideal ainda é um grande desafio. [13] [15]
- **Osteoindução e osteocondução:** Com esta propriedade o material irá permitir o crescimento do tecido ósseo, por meio da proliferação das células ósseas ao longo de sua estrutura, através dos poros internos ou na superfície. [13] [14]
- **Porosidade:** O diâmetro e estrutura dos poros são fatores importantes a serem considerados. Para uma estrutura óssea ideal a interconectividade dos poros deve ser superior a 90%, o que gera uma área superficial grande, tornando possível a promoção e adesão do crescimento celular, descarga metabólica, entrada de nutrientes e oxigênio, e por fim o crescimento ósseo do material. O diâmetro dos poros deve próximo do tamanho real dos poros do osso, que varia geralmente entre 200 e 400  $\mu\text{m}$ . [13]
- **Propriedades mecânicas:** Os biomateriais para regeneração óssea devem possuir as propriedades adequadas (rigidez elástica, tenacidade e força) para que a implantação tenha sucesso. A sua rigidez e resistência mecânica devem ser suficientes para resistir a implantação e não falhar quando estiver no hospedeiro. Também deve possuir integridade mecânica o suficiente para que ocorra a formação de tecido ósseo durante todo o tempo de implantação. [13]

### 3.3. Regeneração Óssea

O tecido ósseo é composto principalmente por três tipos de células (osteoblastos, osteócitos, osteoclastos), matriz extracelular mineralizada (65%, hidroxiapatita e fosfato tricálcico) e matriz extracelular orgânica (35%, colágeno I e proteínas não colágenas, como os fatores de crescimento). [12]

A formação óssea ocorre através de dois processos diferentes: a ossificação endocondral e a ossificação intramembranosa. O processo de ossificação endocondral apresenta uma sequência de formação e degradação dos tecidos cartilagosos, enquanto a ossificação intramembranosa ocorre através da diferenciação direta de células precursoras em células maduras de osteoblastos. Durante a regeneração óssea, os dois processos são fundamentais. [16]

A regeneração de fraturas ósseas tem várias características distintas. Primeiramente ocorre uma resposta inflamatória imediata que recruta macrófagos ativados e polimorfonucleares neutrófilos para o local da lesão. As células osteoprogenitoras são então recrutadas, para que se diferenciem em condrócitos e posteriormente os osteoblastos ocupem o calo cartilaginoso juntamente com a neovascularização local para reparar a fratura. Diversos fatores de crescimento e diferenciação solúveis influenciam nesse processo. [16]

No processo de regeneração óssea, a utilização de um biomaterial para auxiliar esse processo influencia tanto nos processos de regeneração iniciais quanto nos tardios. A topografia superficial do biomaterial é uma característica importante a ser considerada uma vez que pode afetar vários fatores essenciais para a regeneração como: a taxa de ativação plaquetária, agregação de hemácias, adesão e atividade macrofágica, adesão e retração do coágulo, vascularização, adesão de células estaminais mesenquimais e osteoblastos, proliferação, atividade sintética e fator local de composição e concentração. [12]

O processo de osteointegração é fundamental para o sucesso da implantação do material, pelo fato de definir como o implante será incorporado. Caso não ocorra a osteointegração entre o biomaterial e o osso, não há regeneração da fratura e estabelece-se um ponto de fragilidade no segmento ósseo em questão. O tamanho dos poros (macroscópicos e microscópicos) devem ter a espessura adequada para permitir o crescimento dos vasos sanguíneos, cercado pelo osso lamelar. Acredita-se que os poros macroscópicos possam atuar na ativação e progresso da regeneração óssea, além de favorecerem a osteointegração do implante. Poros microscópicos permitem a troca de fluidos através do *scaffold*. Entretanto, recentes estudos indicam que o tamanho dos poros não é um parâmetro tão crítico se o material estabilizar a formação de coágulos e facilitar a migração interna de células osteoprogenitoras e células endoteliais à medida que se degradam. [17] [18]

Os biomateriais implantados nos ossos falham principalmente pelos seguintes fatores: alterações das propriedades estruturais e mecânicas do osso, diminuição do número de células estaminais mesenquimais, falta de vascularização, indução de fibrose, aumento no número e atividade de osteoclastos, desequilíbrio entre fatores anabólicos e catabólicos locais que atuam na remodelação óssea (fatores de crescimento e citocinas), reatividade celular anormal na taxa de proliferação e atividade sintética aos estímulos sistêmicos e locais (hormônios, fatores de crescimento e citocinas) e ao estresse mecânico. [12]

### 3.4. Biocerâmicas

As cerâmicas possuem um grande potencial de aplicação na área de engenharia tecidual óssea por possuir propriedades como alta biocompatibilidade, alta resistência à corrosão, alta resistência à compressão, baixas condutividades elétrica e térmica e sua composição se aproxima da composição óssea (minerais). Devido à estas propriedades, são utilizadas como substitutos ósseos ou para promoção da regeneração óssea. [19]

As cerâmicas consistem em materiais inorgânicos ligados por ligações iônicas e covalentes. Quando introduzidas no organismo vivo, é possível perceber que podem se comportar como bioinertes ou bioativas ou reabsorvíveis. As cerâmicas bioativas são definidas de acordo com a literatura como cerâmicas que produzem uma ligação mecanicamente forte com o tecido vivo. As cerâmicas bioinertes são consideradas como biocerâmicas de primeira geração, enquanto as cerâmicas bioativas e reabsorvíveis são conhecidas como biocerâmicas de segunda geração. [20]

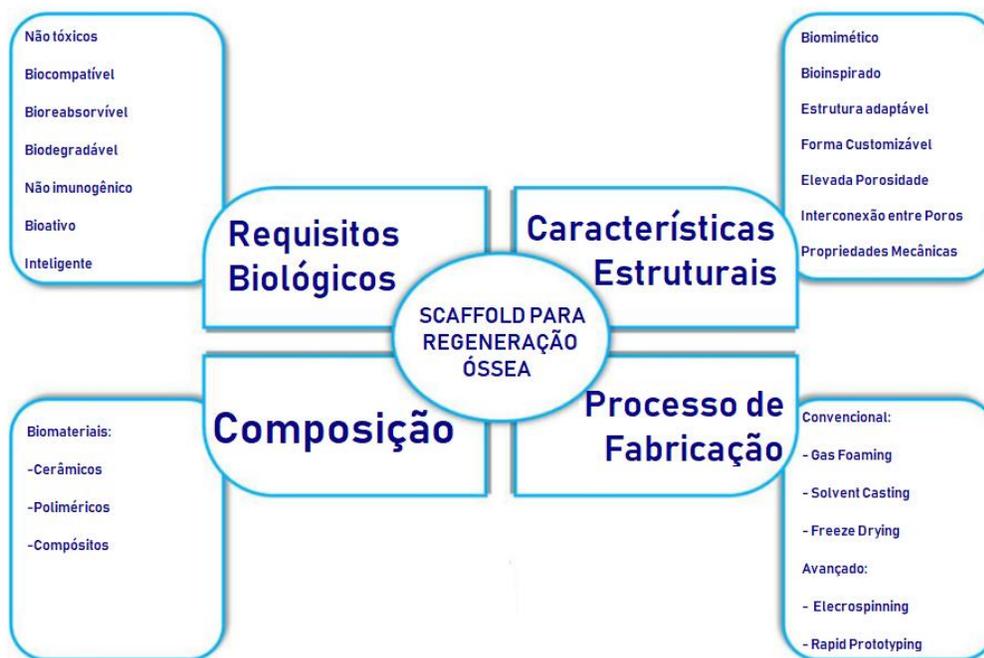
As cerâmicas osteoprodutoras são consideradas como biocerâmicas de terceira geração e são o foco das pesquisas em biomateriais para a estimulação celular. Atualmente, as pesquisas vigentes estão concentradas nas biocerâmicas de segunda e terceira geração. [20]

Na engenharia tecidual óssea, podem ser utilizadas biocerâmicas sintéticas de alumina e zircônia, vidros porosos bioativos e vitrocerâmicos, e materiais à base de fosfato de cálcio (CaP) através da forma de revestimentos e pastas de cimento, e biocerâmicas de origem natural, como corais, nácares e esponjas. [6]

### 3.5. *Scaffolds* para engenharia tecidual

Os *scaffolds* são estruturas tridimensionais que fornecem o suporte necessário para que as células se proliferem e se diferenciem, seu formato irá definir o formato de tecido ósseo que irá crescer. [21]

Um *scaffold* ideal para engenharia tecidual óssea deve permitir a proliferação celular, a diferenciação osteogênica, vascularização, além de ter que se integrar do hospedeiro, deve possuir fácil manuseio e permitir que sua implantação seja minimamente invasiva. Também deve ser esterilizável e reprodutível em grande escala. Para que um *scaffold* seja produzido adequadamente, deve preencher os requisitos dos seguintes critérios: requisitos biológicos, características estruturais, composição do biomaterial e o tipo do processo de fabricação (Figura 1). [22]

Figura 1 – Requisitos para os *Scaffolds*.

Fonte: Adaptado de [22]

- **Requisitos Biológicos:** Os mais importantes requisitos biológicos para o *scaffolds* são biocompatibilidade e não toxicidade, para que as células possam se proliferar e diferenciar no material, produzindo uma nova matriz. Os *scaffolds* também devem ser bio-reabsorvíveis e biodegradáveis, o que permite que o tecido seja formado em conjunto com a degradação. É essencial que os produtos da degradação também não sejam tóxicos e possam ser excretados pelo organismo. É necessário além disso que o *scaffold* seja não imunogênico, evitando que o sistema imunológico do hospedeiro responda a ele. A sua bioatividade por outro lado, é uma característica fundamental, possibilitando a sua interação com os tecidos ou órgãos vivos circundantes. E por fim, devem ser osteoindutores ou biomateriais inteligentes, possibilitando a regeneração óssea. [22]

- **Características Estruturais:** A estrutura do *scaffold* deve ser biomimética e bioinspirada possibilitando a aproximação de uma ou ter múltiplas características do tecido ósseo real. É necessário que a sua estrutura seja adaptável e tenha uma forma customizada, suas propriedades mecânicas tais como módulo de elasticidade, resistência à tração, resistência à fratura, fadiga e porcentagem de alongamento devem ser adaptadas para o local de implantação, evitando assim que a estrutura falhe ao ser implantada. Outra característica importante é a topografia da superfície, já que a superfície do biomaterial é um fator crítico para resposta imune do hospedeiro na implantação. [22] [23]
- **Composição do Biomaterial:** A maioria dos *scaffolds* atualmente utilizados para aplicações na engenharia tecidual óssea são produzidos com polímeros, cerâmicas bioativas e compósitos. A definição de qual biomaterial será utilizado irá depender do uso pretendido. [22]
- **Processo de Fabricação:** O processo de fabricação tridimensional está dividido atualmente em dois tipos: técnicas convencionais e rápidas, produzindo diferentes características no *scaffold*. As técnicas convencionais usam métodos onde parte dos materiais são removidos do bloco inicial para alcançar a conformação desejada. As técnicas rápidas surgiram com o objetivo de superar limitações das técnicas convencionais, sendo processos de fabricação aditivos, onde a fabricação o objeto 3D ocorre via deposição de camadas sobrepostas. [22]

#### 4. Material e Métodos

O presente trabalho irá realizar uma revisão integrativa, por meio da síntese de conhecimento de resultados de estudos significativos na prática a partir de um levantamento das produções científicas publicadas no período de 2015 a 2020 e localizadas no PubMed, plataforma de pesquisa que é oferecida pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados, permitindo encontrar artigos de investigação em biomedicina, e também comporta a base de dados Medline.

Com a revisão integrativa será possível analisar as pesquisas relevantes sobre o tema, que possibilitarão a síntese do conhecimento atual sobre o assunto e a identificação de lacunas de conhecimento que precisam ser preenchidas, mostrando assim onde deverão ser realizados novos estudos.

A produção da presente revisão integrativa dividiu-se nas seguintes etapas: A primeira etapa consistiu na seleção das hipóteses de pesquisa, seguido da segunda etapa em que ocorreu o estabelecimento de critérios de inclusão e exclusão dos artigos que serão encontrados na literatura.

Na terceira etapa foram definidas as informações extraídas dos artigos selecionados, e na quarta e quinta etapa foi feita uma avaliação dos artigos selecionados e a discussão e interpretação dos resultados e, por fim a última etapa consiste na apresentação dos resultados da síntese do conhecimento.

Para a realização da primeira etapa, formulou-se as seguintes questões:

- 1- Quais são as propriedades dos *scaffolds* que têm sido utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos nos últimos 5 anos?
- 2- Quais são as propriedades e características dos materiais cerâmicos que têm sido utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos nos últimos 5 anos?
- 3- Quais propriedades e características faltam para que os *scaffolds* cerâmicos pesquisados atualmente sejam utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos futuramente?

O método utilizado para obtenção das pesquisas sobre o tema foi a utilização na plataforma de pesquisa citada acima com as seguintes palavras chaves em inglês “*scaffold AND bone healing*” e “*ceramic AND bone regeneration*”. Os critérios de inclusão dos artigos encontrados foram: artigos disponíveis on-line e publicados em português, inglês e espanhol disponíveis na base de dados selecionada, no período 2015 a 2020 com acesso pela plataforma Periódicos Capes, em que esses artigos publicados se referiam a ensaios clínicos em humanos.

Os critérios de exclusão dos artigos encontrados foram: artigos que não se referiam a ensaios clínicos em humanos como: revisões bibliográficas, biografias, estudos comparativos, entre outros. Artigos que não possuíam informações sobre as questões, artigos fora do período definido, artigos de ensaios clínicos em animais e artigos que não possuíam acesso pela plataforma Periódicos Capes. A amostra final desta revisão integrativa foi constituída de 7 artigos para a primeira palavra chave e 4 artigos para a segunda palavra-chave respectivamente. Em seguida, realizou-se a leitura dos artigos de forma criteriosa para a obtenção das informações que devem ser extraídas.

Para a análise e discussão dos artigos selecionados que corresponderam aos critérios de inclusão e exclusão será construída uma tabela com os aspectos considerados pertinentes.

A apresentação dos resultados será feita de forma descritiva, possibilitando que o leitor consiga analisar a aplicabilidade da revisão integrativa elaborada.

## 5. Resultados e Discussões

### 5.1. Propriedades dos *Scaffolds* utilizados em ensaios clínicos nos últimos 5 anos

Para esta questão a palavra-chave escolhida para a obtenção das pesquisas sobre esse tema foi “*scaffold* AND bone healing”. Com esta palavra chave foi possível encontrar estudos que relacionassem o uso de *scaffolds* com a cicatrização óssea. Foram localizados 914 estudos sobre esse tema na base de dados utilizada. Ao aplicar os critérios de inclusão e exclusão, foram rejeitados 907 artigos, sendo a amostra final para esta questão 7 estudos potencialmente relevantes. Todos os artigos encontram-se no idioma inglês.

Os artigos potencialmente relevantes foram analisados e apresenta-se a seguir na tabela 1, uma caracterização dos artigos que foram avaliados.

Tabela 1: Caracterização dos artigos avaliados na revisão integrativa

	<b>Título do Artigo</b>	<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Revista</b>
<b>A1</b>	Utilizing Autologous Multipotent Mesenchymal Stromal Cells and $\beta$ -Tricalcium Phosphate Scaffold in Human Bone Defects: A Prospective, Controlled Feasibility Trial	Šponer P, Filip S, Kučera T, Brtková J, Urban K, Palička V, Kočí Z, Syka M, Bezrouk A, Syková E.	2016	BioMed Research International
<b>A2</b>	Ridge Preservation After Maxillary Third Molar Extraction Using 30% Porosity PLGA/HA/ $\beta$ -TCP Scaffolds With and Without Simvastatin: A Pilot Randomized Controlled Clinical Trial.	Noronha Oliveira M, Rau LH, Marodin A, Corrêa M, Corrêa LR, Aragonés A, Magini RS.	2017	Implant Dentistry
<b>A3</b>	Novel 3D polycaprolactone scaffold for ridge preservation--a pilot randomised controlled clinical trial.	Goh BT, Teh LY, Tan DB, Zhang Z, Teoh SH.	2015	Clinical Oral Implants Research
<b>A4</b>	Use of autologous epithelium transplantation on various scaffolds to cover tissue loss in oral cavity: long-term observation.	Orzechowska-Wylęgała B, Dobrowolski D, Puzzolo D, Wowra B, Niemiec W, Wylęgała A, Szczubiałka K.	2017	Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials
<b>A5</b>	Prospective randomized feasibility trial to assess the use of rhPDGF-BB in treatment of distal radius fractures.	Christersson A, Sandén B, Larsson S.	2015	Journal of Orthopaedic Surgery and Research
<b>A6</b>	To evaluate the role of platelet-rich plasma in healing of acute diaphyseal fractures of the femur.	Singh R, Rohilla R, Gawande J, Kumar Sehgal P.	2017	Chinese Journal of Traumatology
<b>A7</b>	Cranial reconstruction using allogeneic mesenchymal stromal cells: A phase 1 first-in-human 0/trial.	Morrison DA, Kop AM, Nilasaroya A, Sturm M, Shaw K, Honeybul S.	2018	Tissue Engineering and Regenerative Medicine

Fonte: Elaboração própria.

Nos artigos selecionados, identificou-se diferentes materiais utilizados para a produção dos *scaffolds*. Os materiais encontrados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Materiais utilizados para a produção dos *scaffolds*.

<b>Artigo</b>	<b>Material Utilizado</b>
<b>A1</b>	Fosfato tricálcico e células estromais mesenquimais autólogas expandidas
<b>A2</b>	Poli(D, L-lactido-co-glicólido) / Hidroxiapatita/ $\beta$ - fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e 2,0% de sinvastatina
<b>A3</b>	Policaprolactona (PCL)
<b>A4</b>	Poli (ácido L-láctico) (PLLA) Purasorb PL38 e culturas de queratinócitos da membrana mucosa.
<b>A5</b>	$\beta$ - fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e rhPDGF-BB
<b>A6</b>	Fibrina e plasma rico em plaquetas (PRP)
<b>A7</b>	Poli (L-lactido-co-glicolido), $\beta$ - fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e células estromais mesenquimais alogênicas (MSC)

Fonte: Elaboração própria.

No A1, foram produzidos 2 tipos de *scaffolds*, um possuindo somente fosfato tricálcico e outro com a adição de células estromais mesenquimais autólogas expandidas para que fosse possível comparar a qualidade da cicatrização após o implante. No estudo, os autores justificam o uso do fosfato tricálcico para a produção dos *scaffolds* por possuírem suas excelentes propriedades osteocondutoras. [24]

Nesse estudo os autores decidiram utilizar células estromais mesenquimais autólogas expandidas (CTMs expandidas) pois verificaram que existem alguns relatórios clínicos iniciais promissores para as CTMs expandidas no reparo de defeitos ósseos longos. Contudo a utilização das CTMs expandidas ainda possui grandes desafios como a otimização das técnicas utilizadas para cultivo celular e caracterização do *scaffold* utilizado como portador de célula. [24]

Notou-se durante o estudo uma diferença na presença de radiolucência e trabeculação óssea entre os defeitos que foram preenchidos pelas CTM combinadas com fosfato tricálcico e aqueles preenchidos apenas com fosfato tricálcico. Os resultados mostraram que o uso de CTMs expandidas em combinação com um *scaffold* de fosfato tricálcico é viável, seguro e eficaz para o tratamento de defeitos ósseos com um microambiente comprometido. No *scaffold* contendo apenas fosfato tricálcico não ocorreu eventos adversos graves e em nenhum dos implantes foi necessária uma revisão. [24]

No A2 também foram produzidos 2 tipos de *scaffolds*, um possuindo somente poli (D, L-lactido-co-glicólido) / hidroxiapatita (PLGA /HA) e outro PLGA /HA em combinação com 2,0%

de sinvastatina para verificar se a inserção da sinvastatina na composição do *scaffold* aumentaria a formação óssea. Os autores descrevem que o PLGA /HA possui excelentes propriedades físicas, químicas e propriedades clínicas e biológicas, biocompatíveis, além de possuir flexibilidade, ser possível controlar a macroestrutura e microestrutura e o material aceita a incorporação e liberação de proteínas. [25]

Devido à estas características os autores definiram o poli (D, L-lactido-co-glicólido) (PLGA) como um bom bioma osteocondutor e identificaram que quando ocorre a associação entre o PLGA e a hidroxiapatita(HA), formando o PLGA/HA, ocasiona em um maior crescimento de osteoblastos e adesão celular quando comparado com o uso apenas do PLGA. [25]

Nesse estudo foi escolhido realizar o teste com a sinvastatina pois encontrou-se ensaios *in vitro* e *in vivo* realizados em ratos que demonstraram uma capacidade de aumentar a expressão nível de proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) nas células ósseas, estimulando assim a formação óssea e também devido a sua fácil produção e preço. Porém não foi verificado nenhum efeito eficaz da sinvastatina. [25]

No A3 é produzido um *scaffold* a partir da policaprolactona (PCL) para a aplicação em soquetes visando a preservação dos cumes. Os autores definem o PCL como um material não tóxico e compatível com tecidos. Este material tem sido aprovado como enchimento ósseo para aplicações craniofaciais. [26]

O *scaffold* de PCL foi processado por modelagem de deposição por fusão (FDM), processo que possui os parâmetros patenteados por um grupo interdisciplinar da Universidade Nacional de Cingapura, em colaboração com a Temasek Polytechnic. Os *scaffolds* processados por FDM possuem camadas de três ângulos (0/60/120 °), o que resulta em uma rede de poros interconectados que fornece a máxima ancoragem para fixação celular, gerando no *scaffold* propriedades mecânicas semelhantes ao osso, exibindo degradação cinética lenta, tornando então o *scaffold* osteocondutor. Considerou-se no estudo que a estabilidade mecânica e degradação lenta do *scaffold* permitiria uma melhor manutenção do volume ósseo. [26]

O estudo confirmou que a inserção de um *scaffold* de PCL bioreabsorvível permitiu a cura óssea normal, e propõe para que futuramente ocorra um teste clínico com o uso de um *scaffold* composto de PCL e fosfato tricálcico (PCL-TCP). [26]

No estudo A4 ocorreu a aplicação de culturas de queratinócitos da membrana mucosa em *scaffolds* de poli (ácido L-láctico) (PLLA) Purasorb PL38 para cobrir a perda de tecido na cavidade

oral. Utilizou-se culturas de queratinócitos da membrana mucosa pois esta possui vários fatores de crescimento, como fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de queratinócitos (KGF), crescimento de hepatócitos (HGF) e fator básico de crescimento de fibroblastos ( $\beta$ FGF), que estão presentes no epitélio. [27]

Os *scaffolds* de PLLA foram utilizados para substituir a perca óssea na cavidade oral e os epitélios foram utilizados para ativar e apoiar o crescimento das membranas mucosas do próprio paciente, visto que as camadas epiteliais são frágeis e delicadas, portanto os *scaffolds* são necessários para apoiar a cultura de tecidos e ajudar no transplante para a área do destinatário. No artigo os autores não justificaram de maneira adequada a escolha do material para a produção do *scaffold*. [27]

No estudo A5 o material escolhido para a produção do *scaffold* foi o  $\beta$ -TCP em combinação com o fator de crescimento BB recombinante derivado de plaquetas humanas (rhPDGF-BB) devido ao fato de que a combinação destes materiais tem demonstrado um aumento da formação óssea. Foram utilizados para avaliar a segurança e seu uso potencial em medicamentos administrados localmente em fraturas agudas do punho. [28]

No texto os autores relatam que o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) promove a angiogênese e cicatrização de feridas, e que pré-estudos clínicos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que o rhPDGF-BB estimula a formação óssea. Um destes estudos mostraram que a aplicação deste deu um ganho significativo em formação óssea em defeitos ósseos periodontais avançados. [28]

No estudo A6, é citado que o foco das novas pesquisas está no uso de fatores de crescimento autólogos para aumentar o efeito na cicatrização das fraturas ósseas, e diminuir o tempo de cicatrização do paciente. Considerando este fato o estudo avaliou o papel do plasma rico em plaquetas (PRP) na cicatrização de fraturas agudas do fêmur radiologicamente. As plaquetas foram utilizadas no estudo uma vez que demonstraram possuir vários fatores de crescimento e citocinas que promovem a coagulação no sangue, reparo tecidual e processo de mineralização óssea. [29]

O plasma rico em plaquetas (PRP) possui os seguintes fatores de crescimento: o fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento semelhante à insulina e fator de crescimento transformador (TGF). Porém no texto é afirmado que os dados clínicos e experimentais da literatura sobre o potencial osteogênico do PRP são controversos. Alguns estudos relatam que ocorre uma influência positiva do PRP na regeneração óssea, enquanto outros estudos demonstram nenhum efeito do PRP na cicatrização de defeitos ósseos. [29]

O texto supõe que a razão para falha do PRP em outros estudos pode ser devido ao fato de que a potência dos fatores de crescimento liberados pelo PRP é fraca demais para induzir a formação óssea em defeitos com baixa capacidade regenerativa. Utilizou-se também uma matriz de fibrina para a produção de *scaffold* em combinação com o PRP, e foi possível visualizar que se a degradação do *scaffold* não se alinha com a taxa de regeneração óssea, a cura pode ser prejudicada pela falta de material ou por um volume excessivo de material intacto. A fibrina foi escolhida pois suporta a angiogênese, fornecendo uma matriz para o *scaffold* que suporta a migração celular. [29]

Com estes dados, concluíram que o PRP sozinho não consegue induzir a formação óssea, mas pode servir como apoio para a osteogênese na presença de células precursoras. No entanto, o PRP e o *scaffold* com a matriz de fibrina podem fornecer um hematoma artificial gerando um efeito inicialmente de pregagem intramedular fechada ou com falha. O efeito do PRP desaparece nos meses seguintes, sem diferença na união de fraturas aos seis meses. [29]

No estudo A7 foi avaliado a eficácia do tratamento de defeitos cranianos com uma combinação de células estromais mesenquimais alogênicas (MSC) em um suporte de cerâmica e um *scaffold* de polímero, para produzir um osso viável para cicatrização de um defeito craniano. É apontado através da literatura que nenhum material aloplástico, ou seja, um material capaz de ser inserido em um organismo vivo comportando-se da mesma forma em que o organismo, possui as propriedades biológicas do osso autólogo, que é o material comumente utilizado para este tratamento, e com isso o uso de cerâmica semeada com células estromais mesenquimais pode fornecer uma solução potencial. [30]

As principais propriedades apontadas no estudo das MSC são: biocompatibilidade e a capacidade de se diferenciar em uma variedade de estruturas de tecido conjuntivo, dependendo do seu ambiente. Em relação a regeneração óssea, as MSC possuem a capacidade de se diferenciar para a linhagem osteogênica e também têm a capacidade de liberar fatores tróficos que podem auxiliar na regeneração tecidual, sendo um caminho viável para a regeneração óssea. [30]

O suporte de cerâmica foi produzido com grânulos de ChronOS, que são cerâmicas sintéticas, porosas, reabsorvíveis e biocompatíveis feitas de  $\beta$ - fosfato tricálcico com uma estrutura de poros uniforme e definida, o fosfato de cálcio possui um potencial osteoindutor e é reabsorvível, conforme o tempo passa, possui um maior potencial para ser substituído à medida que um novo osso é formado. [30]

O *scaffold* foi produzido com o Poli (L-lactido-co-glicolido), porém a falta de rigidez do *scaffold* em um ambiente com pulsação dural impediu a formação do osso, resultando na falha do estudo. [30]

Após a análise e síntese de todas as informações relevantes que puderam ser extraídas dos artigos vemos que os materiais mais utilizados nos estudos são: o Poli (D, L-lactido-co-glicólido),  $\beta$ - fosfato tricálcico e células estromais mesenquimais. Na tabela 3 está apresentado a síntese das principais propriedades identificadas para estes materiais.

Tabela 3: Síntese das principais propriedades identificadas para os materiais na literatura.

<b>Material</b>	<b>Principais Propriedades</b>
<b>PLGA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Excelentes propriedades físicas, químicas, clínicas e biológicas.</li> <li>• Biocompatibilidade.</li> <li>• Flexibilidade.</li> <li>• Controle da macroestrutura e microestrutura.</li> <li>• Possibilidade de incorporação e liberação de proteínas.</li> <li>• Crescimento de osteoblastos e adesão celular.</li> <li>• Osteocondutor.</li> </ul>
<b><math>\beta</math>-TCP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Osteocondutor.</li> <li>• Porosidade uniforme e definida.</li> <li>• Reabsorvível.</li> <li>• Biocompatível.</li> </ul>
<b>MSC</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biocompatibilidade.</li> <li>• Capacidade de diferenciação em tecidos.</li> <li>• Capacidade de liberar fatores tróficos.</li> </ul>

Fonte: Elaboração própria.

É possível identificar também na análise da literatura que a maioria dos estudos utiliza o material do *scaffold* em combinação com outro componente, seja este um fator de crescimento ou células para potencializar a regeneração óssea. Podendo então ser um requisito para os materiais que serão produzidos futuramente para a regeneração óssea, dado que de forma geral os estudos que utilizaram estes componentes visavam a aceleração e potencialização da regeneração óssea.

## **5.2. Propriedades e Características dos materiais cerâmicos utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos nos últimos 5 anos**

Para esta questão a palavra-chave escolhida para a obtenção das pesquisas sobre esse tema foi “ceramic AND bone regeneration”. Com esta palavra chave foi possível encontrar estudos que relacionassem o uso de materiais cerâmicos com a regeneração óssea (termo sinônimo de cicatrização óssea) e através desta palavra-chave foram localizados 2242 estudos na base de dados

utilizada. Ao aplicar os critérios de inclusão e exclusão, foram rejeitados 2238 artigos, onde a amostra final para esta questão foram 4 estudos potencialmente relevantes. Todos os artigos encontram-se no idioma inglês.

Os artigos potencialmente relevantes foram analisados e caracterizados, e a caracterização será apresentada a seguir na tabela 4.

Tabela 4: Caracterização dos artigos avaliados na revisão integrativa

	<b>Título do Artigo</b>	<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Revista</b>
<b>A1</b>	Maxillary Sinus Grafting With Biphasic Bone Ceramic or Autogenous Bone: Clinical, Hist [24]ologic, and Histomorphometric Results From a Randomized Controlled Clinical Trial.	Danesh-Sani SA, Wallace SS, Movahed A, El Chaar ES, Cho SC, Khouly I, Tes-tori T.	2016	Implant Dentistry
<b>A2</b>	Bone Regeneration Using the Freshly Isolated Autologous Stromal Vascular Fraction of Adipose Tissue in Combination With Calcium Phosphate Ceramics.	Prins HJ, Schulten EA, Ten Bruggenkate CM, Klein-Nulend J, Helder MN.	2016	Stem Cells Translational Medicine
<b>A3</b>	A clinical comparison of guided bone regeneration with platelet-derived growth factor-enhanced bone ceramic versus autogenous bone block grafting.	Santana RB, Santana CM.	2015	Tissue Engineering and Regenerative Medicine
<b>A4</b>	Clinical Outcome of Hydroxyapatite Coated, Bioactive Glass Coated, and Machined Ti6Al4V Threaded Dental Implant in Human Jaws: A Short-Term Comparative Study.	Mistry S, Roy R, Kundu B, Datta S, Kumar M, Chanda A, Kundu D.	2016	Implant Dentistry

Fonte: Elaboração própria.

Nestes artigos selecionados, notou-se que diferentes materiais cerâmicos foram utilizados para a regeneração óssea. Os materiais encontrados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 5: Materiais cerâmicos utilizados para a regeneração óssea.

<b>Artigo</b>	<b>Material Utilizado</b>
<b>A1</b>	Fosfato de cálcio bifásico (BCP)
<b>A2</b>	$\beta$ -fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) ou Fosfato cálcio bifásico (BCP)
<b>A3</b>	$\beta$ -fosfato tricálcico ( $\beta$ - TCP) / hidroxiapatita (HA)
<b>A4</b>	Hidroxiapatita e Vidro bioativo

Fonte: Elaboração própria.

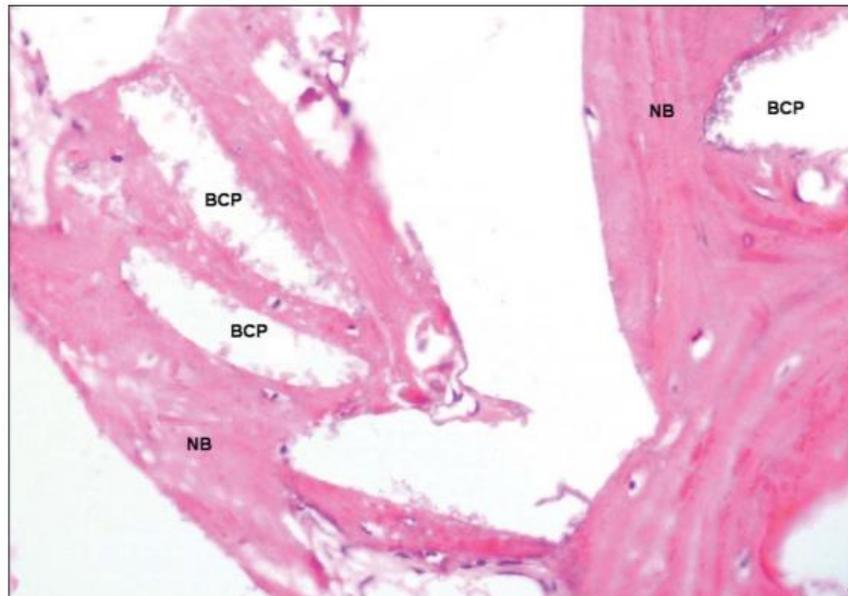
No artigo 1, foi realizado um ensaio clínico controlado utilizando-se o fosfato de cálcio bifásico (BCP) que é um material cerâmico composto de 60% de hidroxiapatita e 40% de  $\beta$  - fosfato tricálcico como material de enxerto. O fosfato de cálcio bifásico (BCP) é um biomaterial sintético compatível que vem sendo utilizado como enxerto ósseo aloplástico na medicina e na odontologia.

[31]

A estrutura microscópica deste material é de grânulos com 90% de porosidade e estes poros estão interconectados com o tamanho de 100 a 500  $\mu\text{m}$ . De acordo com o estudo, o BCP possui a propriedade de osteocondução, atuando semelhante a um *scaffold*, permitindo a formação óssea durante o período de maturação do enxerto. [31]

O estudo mostra que as partículas do BCP que foram enxertadas foram cercadas por um osso recém-formado e tecido macio. Foi realizado um exame histológico durante o estudo, que mostrou que as partículas de BCP estavam sendo interligadas por pontes de osso recém-formado, o que pode ser visualizado na Figura 2. [31]

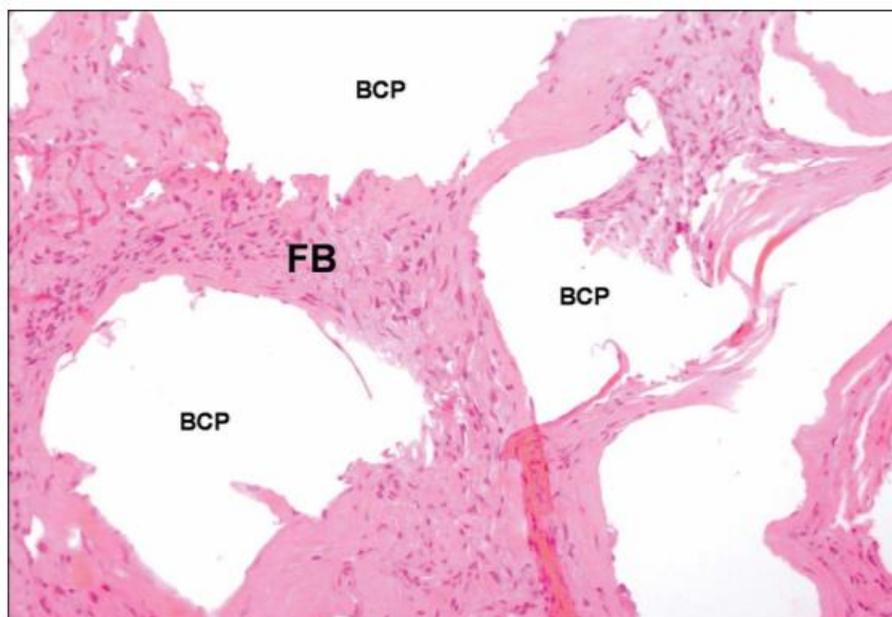
Figura 2 – Imagem de alta potência onde mostra contato próximo do enxerto de BCP com o osso recém-formado (NB).



Fonte: [31]

Logo após esta formação óssea ocorreu a proliferação de células osteogênicas e angiogênese nos poros das partículas. Porém, o formato do osso recém-formado não foi semelhante ao lamelar que é esperado do osso e não apresentava uma matriz óssea organizada. O espaço medular foi preenchido com um tecido conjuntivo fibroso e osteócitos foram observados na matriz óssea recém-formada, como podemos visualizar na Figura 3. [31]

Figura 3 - Visão histológica do enxerto mostrando a formação de tecido fibroso denso (FB) associado às partículas de BCP



Fonte: [31]

No estudo verificou-se que para o BCP ocorreu a formação de 28,2% de osso recém-formado, que é um valor bem menor comparado ao do osso autógeno (36,8%), que é o material que costuma ser utilizado em enxertos. Em relação aos tecidos moles, ocorreu a formação de 38,9% para o BCP e 58,4% para o osso autógeno. [31]

Com os resultados dos exames histológicos, foi possível confirmar a característica de osteocondução do BCP mostrando que este material está em conformidade com outros estudos encontrados na literatura. [31]

Com a porcentagem de formação de tecidos moles do BCP (38,9%), conclui-se que o BCP pode aumentar os níveis osteogênicos do material, mantendo as células de remodelação óssea no lugar visto que nestes tecidos são encontradas partes integrais do osso como o tecido conjuntivo e medula. O tecido mole que está relacionado a partículas BCP consiste em osteoblastos e alguns osteoclastos, o que pode gerar um efeito benéfico na maturação e cicatrização área do enxerto. [31]

Com isso o estudo concluiu o BCP é um material osteocondutor e promove a formação óssea. Apesar da quantidade da formação óssea ser significativamente maior para osso autógeno do que para BCP, não é possível afirmar ainda se essas diferenças geram alguma relevância clínica, sendo necessários novos estudos avaliar enxertos de BCP durante um maior período de tempo. [31]

De acordo com o artigo 2, o  $\beta$ - fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) pode ser utilizado como material de enxerto, e este forma um maior volume ósseo total quando comparado com outros materiais de enxerto, porém esse volume ainda é inferior ao osso autólogo, dado semelhante ao que foi comprovado no artigo 1. O  $\beta$ -TCP é consiste em um material reabsorvível que pode ser substituído por osso, entretanto a sua taxa de degradação pode ser muito alta em comparação com a taxa crescimento ósseo que é baixa. Portanto, o fosfato de cálcio bifásico (BCP), que é um material que consiste no  $\beta$ -TCP com a hidroxiapatita menos solúvel (HA), pode ser um material mais eficaz em relação ao equilíbrio entre as taxas de degradação do fosfato de cálcio e o crescimento ósseo. [32]

O estudo utilizou o  $\beta$ -TCP com 60% porosidade e granulometria entre 0,7-1,4 mm e o BCP, composto de 60% de hidroxiapatita e 40% de  $\beta$ -TCP com 90% de porosidade e tamanho de grânulo entre 0,5–1,0 mm. O fosfato de cálcio ao ser utilizado como material para enxerto apresentou baixas taxas de crescimento ósseo em comparação com enxertos ósseos autólogos, outro dado que foi comprovado no artigo 1. [32]

Esse baixo crescimento ósseo demonstra que ocorre falta de potencial osteoindutor neste material, mostrando que o fosfato de cálcio tem apenas propriedades osteocondutivas, que dependem do crescimento ósseo do pré-existente no osso. Se este material for alinhado com células mesenquimais (MSC) pode resultar em uma regeneração óssea suficiente dentro de um período mais curto do que é necessário usar o fosfato de cálcio. [32]

No estudo A3 avaliou a eficácia da regeneração óssea guiada (GBR) utilizando um  $\beta$ - fosfato tricálcico ( $\beta$ - TCP) com hidroxiapatita (HA) como material de enxerto, com a incorporação de um fator de crescimento BB recombinante derivado de plaquetas humanas (rhPDGF-BB). [33]

Com este estudo, concluiu-se que um fator de crescimento bifásico sintético em conjunto com a cerâmica composta de  $\beta$ -fosfato tricálcico / hidroxiapatita empregado com regeneração óssea guiada alcançou uma capacidade regenerativa óssea semelhante a capacidade que um enxerto de osso autógeno é capaz de produzir em defeitos ósseos horizontais em humanos. [33]

No artigo 4 foi avaliada a osteointegração da hidroxiapatita (HA) e vidro bioativo como revestimento de implantes dentários no osso maxilar humano após a implantação. Estes materiais consistem em materiais bioativos e podem desenvolver substâncias químicas que se ligam com tecido ósseo através da formação de camada de apatita que é mais forte que a ligação somente osso com a cerâmica sozinho. No texto é dito que o revestimento com HA nos implantes possui algumas

limitações, como a reabsorção do revestimento e a taxa de integração que põe em risco a estabilidade a longo prazo dos implantes. [34]

Já o vidro bioativo (BG), possui boas propriedades mecânicas e uma maior bioatividade em comparação com HA. Sendo a composição química do BG utilizado em porcentagem em peso é de: sílica (59.1%), óxido de cálcio (19.2%), pentóxido de fósforo (5.46%), óxido de boro (9.4%), óxido de sódio (22.24%) e óxido de titânio (1.0%). [34]

Foram realizados testes *in vitro* de citotoxicidade que indicaram que ambos os utilizados foram biocompatíveis, não tóxicos e não provocaram nenhuma reação adversa nos tecidos em torno do implante. Por fim, concluiu-se que o vidro bioativo utilizados como revestimento são seguros e eficazes, assim como a hidroxiapatita, realizando osteointegração e ambos os materiais podem ser usados como revestimento alternativo para implantes dentários. [34]

Com a análise e síntese das informações relevantes que puderam ser extraídas dos artigos vemos que os materiais cerâmicos mais utilizados atualmente em ensaios clínicos são: Fosfato de cálcio bifásico (BCP) e o  $\beta$  - fosfato tricálcico seguido da hidroxiapatita. Na tabela 6 estão apresentadas as principais propriedades e características identificadas para estes materiais.

Tabela 6: Síntese das principais propriedades e características identificadas para os materiais cerâmicos na literatura.

Material	Principais Propriedades e Características
<b>BCP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grânulos com 90% de porosidade.</li> <li>• Poros interconectados.</li> <li>• Osteocondutor.</li> <li>• Proliferação de células osteogênicas e angiogênese nos poros.</li> <li>• Promoção da formação óssea.</li> <li>• Taxas de degradação/crescimento ósseo equilibrada.</li> <li>• Potencial osteoindutor baixo.</li> </ul>
<b><math>\beta</math>-TCP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grânulos com 60% de porosidade.</li> <li>• Osteocondutor.</li> <li>• Promoção da formação óssea.</li> <li>• Biodegradável</li> </ul>
<b>HÁ</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Osteointegração.</li> <li>• Bioatividade.</li> <li>• Limitação na taxa de reabsorção.</li> <li>• Biocompatibilidade.</li> <li>• Não-tóxico.</li> </ul>

Fonte: Elaboração própria.

Na literatura é possível visualizar que alguns estudos utilizaram ou sugeriram a utilização do material cerâmico em combinação com fatores de crescimento ou células para potencializar a regeneração óssea, com estes materiais pode ser possível melhorar e talvez diminuir o tempo da regeneração.

### **5.3. Propriedades e características que faltam para que os *scaffolds* cerâmicos pesquisados atualmente sejam utilizados para regeneração óssea em ensaios clínicos futuramente**

Comparando as tabelas 3 e 6 vemos que o  $\beta$ -TCP é o material que é encontrado em ambas as questões. Sendo então o material cerâmico mais completo para ser utilizado em futuros estudos para o desenvolvimento de *scaffolds* cerâmicos para regeneração óssea. Em suma, as suas propriedades e características de acordo com os estudos são: Grânulos com 60% de porosidade, osteocondutividade, promoção da formação óssea, é reabsorvível, e possui porosidade uniforme e definida.

Nas tabelas 2 e 3 vemos que há uma grande utilização de polímeros para a produção de *scaffolds* para a regeneração óssea. Vemos que estes polímeros possuem as seguintes propriedades e características que atualmente não foram encontradas nas cerâmicas estudadas como: flexibilidade, um elevado controle da macroestrutura e microestrutura, e a possibilidade de incorporação e liberação de proteínas. Podendo estas serem as propriedades que impedem que os *scaffolds* cerâmicos produzidos atualmente não sejam tão utilizados em ensaios clínicos.

A flexibilidade é uma propriedade que não é característica dos materiais cerâmicos, já que as cerâmicas tradicionalmente são materiais duros e quebradiços, mas a incorporação desta propriedade pode permitir que o *scaffold* se adapte melhor durante a regeneração óssea. Sabendo disso, os estudos futuros poderão focar na combinação entre polímeros e cerâmicas, formando assim um material compósito para a produção de *scaffolds*, que poderá obter uma melhor regeneração óssea.

Durante a análise dos estudos vemos que muitos estão em combinação ou sugeriram a utilização dos materiais (cerâmicas e polímeros) em combinação com fatores de crescimento ou células para a regeneração óssea. As propriedades das MSC vistas na tabela 3 como a capacidade de se diferenciar em tecidos e liberar fatores tróficos podem ser as propriedades que fazem com que a porcentagem de formação de tecidos ósseos seja baixa e o tempo para a formação dos tecidos seja muito longo. Verificou-se durante a análise dos artigos que os fatores de crescimento promovem a

angiogênese e cicatrização de feridas, além de estimular a formação óssea. O estudo que utilizou um fator de crescimento combinado com o material cerâmico alcançou uma capacidade regenerativa óssea semelhante à do osso autógeno, portanto com a adição de fatores de crescimento podemos aumentar a porcentagem de formação de tecidos ósseos e auxiliar na osteoindução. Os materiais combinados fatores de crescimento e/ou células deverão ser analisados mais profundamente, podendo ser um outro foco para os estudos futuros.

## 6. Conclusões

Baseada em todas as análises que esta revisão integrativa trouxe, é possível perceber que a área da engenharia tecidual óssea ainda precisa enfrentar vários desafios para que os materiais estudados e em desenvolvimento para a produção de *scaffolds* possam ser utilizados cada vez mais em ensaios clínicos.

Dentre todos os materiais apresentados para a produção de *scaffolds*, vemos que o  $\beta$ - fosfato tricálcico foi o mais utilizado nos ensaios clínicos. Este material é osteocondutor, promove a formação óssea, é reabsorvível com a porosidade uniforme e definida. Também é possível perceber através dos materiais apresentados que o material ideal para que um *scaffold* consiga êxito na regeneração óssea o material deve apresentar as seguintes características: ser osteocondutor e osteoindutor, permitir a proliferação de células osteogênicas e angiogênese nos poros, permitir a formação óssea, as taxas de reabsorção e crescimento ósseo devem ser equilibradas, ser biocompatível, permitir a possibilidade de incorporação e liberação de proteínas, e por fim permitir o crescimento de osteoblastos e adesão celular.

Os principais obstáculos identificados que os *scaffolds* cerâmicos passam são a falta de flexibilidade, o que impede que o *scaffold* se adapte melhor durante a implantação, e a baixa osteoindução, conclui-se que este fator pode ser melhorado através da combinação com os fatores de crescimento e/ou células.

Com esse estudo foi possível perceber novos caminhos para as pesquisas futuras, através dos materiais compósitos e a incorporação de fatores de crescimento e/ou células, onde foi identificado vários exemplos de implantações clinicamente bem-sucedidas.

É necessário um estudo equilibrado e crítico para esses novos caminhos, incluindo novos estudos *in vitro* e ensaios clínicos, para que ocorra uma consideração realista e promoção de possíveis aplicações comerciais.

## 7. Referências

1. Madrid A. P., Vrech S., Sanchez M., Rodriguez A. Advances in additive manufacturing for bone tissue engineering scaffolds. *Materials Science and Engineering*, (2019).
2. Sharma P, Kumar P, Sharma R, Bhatt VD, Dhot PS. Tissue Engineering; Current Status & Futuristic Scope. *Journal of Medicine and Life* (2019).
3. Yartzoff, M. *Defining Tissue Engineering*. (2018).
4. Khambete H., Keservani R., Kesharwani R., Jain N., Jain C. Chapter 3 - Emerging trends of nanobiomaterials in hard tissue engineering. (2016).
5. Macedo, G. *Imunologia dos Transplantes*. 2019.
6. Pina S., Reis R.L., Oliveira J.M. *Ceramic biomaterials for tissue engineering. Fundamental Biomaterials: Ceramics* - Woodhead Publishing (2018).
7. Golebiowska A., Kim H., Camci-Unal G., Nukavarapu S. *Integration of Technologies for Bone Tissue Engineering. Reference Module in Biomedical Sciences* - Elsevier (2019).
8. Turnbull G., Clarke J., Picard F., Riches P., Jia L., Han F., Li B., Shu W. 3D bioactive composite scaffolds for bone tissue engineering. *Bioactive Materials*, v.3 (2018).
9. Ho-Shui-Ling A., Bolander J., Rustom L., Johnson A., Luyten F., Picart C. Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. *Biomaterials*, v.180 (2018).
10. Langer R., Vancanti J. *Tissue Engineering. Science, New Series*, v.160, (1993).
11. J., Langer. R. Vacanti. Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. *Molecular Medicine - The Lancet* (1999).
12. Fini M., Giavaresi G., Torricelli P., Borsari V., Giardino R., Nicolini A., Carpi A. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 58 (2004).
13. Zaroog O., Satgunam M, Wei L. *Biomaterials for Bone Tissue Engineering: Properties and Applications. Materials Science and Materials Engineering* (2019).
14. Ghasemi-Mobarakeh L., Kolahreez D., Ramakrishna S., Williams D. Key terminology in

- biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. v.10 (2019).
15. Love B. *Ceramic Biomaterials*. Biomaterials - Academic Press (2017).
  16. Kunal J., Peter X. Chapter 48 - Biomineralization and Bone Regeneration. *Principles of Regenerative Medicine*, v. 3 (2019).
  17. Boyan B., Cohen D., Schwartz Z. *Bone Tissue Grafting and Tissue Engineering Concepts*. *Comprehensive Biomaterials II* - Elsevier (2017).
  18. Fricia M., Passanisi M., Salamanna F., Parrilli A., Giavaresi G., Fini M. Osteointegration in Custom-made Porous Hydroxyapatite Cranial Implants: From Reconstructive Surgery to Regenerative Medicine. *World Neurosurgery*, v. 84 (2015).
  19. Saenz A., Brostow W., Rivera-Muñoz E., Castaño V. Ceramic biomaterials: An introductory overview. *Journal of Materials Education* (1999).
  20. Vallet-Regí M., Salinas A. Ceramics as bone repair materials. *Bone Repair Biomaterials* (2019).
  21. Hutmacher D. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, v. 21 (2000).
  22. Roseti L., Parisi V., Petretta M., Cavallo C., Desando G., Bartolotti I., Grigolo B. Scaffolds for Bone Tissue Engineering: State of the art and new perspectives. *Materials Science and Engineering: C*, v.78 (2017).
  23. Ma P. Biomimetic materials for tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v.60 (2008).
  24. Šponer P, Filip S, Kučera T, Brtková J, Urban K, Palička V, Kočí Z, Syka M, Bezrouk A, Syková E. Utilizing Autologous Multipotent Mesenchymal Stromal Cells and  $\beta$ -Tricalcium Phosphate Scaffold in Human Bone Defects: A Prospective, Controlled Feasibility Trial. *BioMed Research International* (2016).
  25. Noronha Oliveira M, Rau LH, Marodin A, Corrêa M, Corrêa LR, Aragonés A, Magini RS. Ridge Preservation After Maxillary Third Molar Extraction Using 30% Porosity PLGA/HA/ $\beta$ -TCP Scaffolds With and Without Simvastatin: A Pilot Randomized Controlled Clinical Trial. *Implant Dentistry* (2017).
  26. Goh BT, Teh LY, Tan DB, Zhang Z, Teoh SH. Novel 3D polycaprolactone scaffold for ridge preservation--a pilot randomised controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*

- (2015).
27. Orzechowska-Wylęgała B, Dobrowolski D, Puzzolo D, Wowra B, Niemiec W, Wylęgała A, Szczubiałka K. Use of autologous epithelium transplantation on various scaffolds to cover tissue loss in oral cavity: long-term observation. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials* (2017).
  28. Christersson A., Sandén B., Larsson S. Prospective randomized feasibility trial to assess the use of rhPDGF-BB in treatment of distal radius fractures. (2015).
  29. Singh R, Rohilla R, Gawande J, Kumar Sehgal P. To evaluate the role of platelet-rich plasma in healing of acute diaphyseal fractures of the femur. (2017).
  30. Morrison DA, Kop AM, Nilasaroya A, Sturm M, Shaw K, Honeybul S. Cranial reconstruction using allogeneic mesenchymal stromal cells: A phase 1 first-in- human trial. (2018).
  31. Danesh-Sani SA, Wallace SS, Movahed A, El Chaar ES, Cho SC, Khouly I, Testori T. Maxillary Sinus Grafting With Biphasic Bone Ceramic or Autogenous Bone: Clinical, Histologic, and Histomorphometric Results From a Randomized Controlled Clinical Trial. (2016).
  32. Prins HJ, Schulten EA, Ten Bruggenkate CM, Klein-Nulend J, Helder MN. Bone Regeneration Using the Freshly Isolated Autologous Stromal Vascular Fraction of Adipose Tissue in Combination With Calcium Phosphate Ceramics. (2016).
  33. Santana RB, Santana CM. A clinical comparison of guided bone regeneration with platelet-derived growth factor-enhanced bone ceramic versus autogenous bone block grafting. (2015).
  34. Mistry S, Roy R, Kundu B, Datta S, Kumar M, Chanda A, Kundu D. Clinical Outcome of Hydroxyapatite Coated, Bioactive Glass Coated, and Machined Ti6Al4V Threaded Dental Implant in Human Jaws: A Short- Term Comparative Study. (2016).
  35. Khambete H., Keservani R., Kesharwani R., Jain N., Jain C. Chapter 3 - Emerging trends of nanobiomaterials in hard tissue engineering. *Nanobiomaterials in Hard Tissue Engineering*.