



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Mecânica

LUCIA HELENA PEREIRA MENDONÇA

**Produção e Caracterização de *Scaffolds*
Osteocondutores para Aplicações
Odontológicas**

CAMPINAS

2021

LUCIA HELENA PEREIRA MENDONÇA

Produção e Caracterização de *Scaffolds* Osteocondutores para Aplicações Odontológicas

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestra em Engenharia Mecânica, na Área de MATERIAIS E PROCESSOS DE FABRICAÇÃO.

Orientador: Prof. Dr. Éder Socrátes Najar Lopes

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Laís Pellizzer Gabriel

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA LUCIA HELENA PEREIRA MENDONÇA, E ORIENTADA PELO PROF. DR ÉDER SOCRÁTES NAJAR LOPES

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

M523p Mendonça, Lucia Helena Pereira, 1992-
Produção e caracterização de scaffolds osteocondutores para aplicações
odontológicas / Lúcia Helena Pereira Mendonça. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Éder Socrátes Najar Lopes.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade
de Engenharia Mecânica.

1. Compositos poliméricos. 2. Copolímeros. 3. Polímeros na medicina. I.
Lopes, Éder Socrátes Najar, 1982-. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Engenharia Mecânica. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Production and characterization os osteoconductive scaffolds for
dental applications

Palavras-chave em inglês:

Polymeric compounds

Copolymers

Polymers in Medicine

Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação

Titulação: Mestra em Engenharia Mecânica

Banca examinadora:

Éder Socrátes Najar Lopes Renato Sawasaki

Lonetá Lauro Lima

Laís Pellizzer Gabriel

Data de defesa: 28-10-2021

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Mecânica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-3860-600>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/9473447632367289>

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO

**Produção e Caracterização de *Scaffolds*
Osteocondutores para Aplicações
Odontológicas**

Autora: Lucia Helena Pereira Mendonça

Orientador: Prof. Dr. Éder Socrátes Najar Lopes

Coorientador: Prof^a. Dr^a: Laís Pellizzer Gabriel

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:

Prof. Dr. Éder Socrátes Najar Lopes

**Engenharia de Manufatura e Materiais / Faculdade de Engenharia Mecânica da
Universidade Estadual de Campinas – FEM / UNICAMP**

Prof. Dr. Renato Sawazaki

Cirurgia Buco-Maxilo-Facial / Faculdade de Odontologia / IMED

Prof^a. Dr^a. Lonetá Lauro Lima

**Divisão de Tecnologias para Produção e Saúde / Núcleo de Tecnologias Tridimensionais /
Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer**

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Campinas, 28 de Outubro de 2021.

Dedico este trabalho aos meus pais Carlos e Gleida os quais foram grandes colaboradores e incentivadores. Aos meus pacientes que encontro valores que os livros não me ensinaram.

Agradecimentos

A Deus, que é meu orientador espiritual e referencial em minha vida. Pelas oportunidades que me foram dadas na vida, principalmente por ter feito a escolha certa da minha profissão, onde vivi fases difíceis que foram matérias-primas de aprendizado.

O sucesso não se alcança sozinho, agradeço a todos que tiveram comigo nessa jornada, em especial:

Ao meu orientador Prof. Dr. Éder Socrátes Najar Lopes pela orientação e aprendizado.

A minha co-orientadora Prof^a Dra. Laís Pellizzer Gabriel que me auxiliou com ótimas indagações e com quem aprendi sobre engenharia de materiais. Sou muito grata a oportunidade de crescer junto com uma profissional e mulher de princípios singulares.

Aos meus pais Carlos e Gleida, pelo amor e pelas conversas longas que nos afastavam pela distância física, pelas orações, confiança e principalmente por me ensinarem que com esforço e dedicação tudo se torna possível.

Ao meu amigo Luis Fernando Bernardes que me apoiou e me mostrou desde o início dessa caminhada que a pesquisa na área odontológica traria frutos para a ciência.

Aos meus colegas do laboratório LPol, em especial Isabella Rodrigues pela ajuda, orientação, auxílio das análises e interpretações de resultados.

Aos professores da banca Prof^a Dra. Lonetá Lauro Lima e Prof. Dr. Renato Sawazaki pela discussão e colaboração no presente trabalho.

Resumo

Para reparar o tecido ósseo lesionado, a engenharia de tecidos (ET) é considerada uma estratégia viável e promissora. Os polímeros policaprolactona (PCL), poliácido láctico (PLLA), e poliuretano (PU) são bioabsorvíveis e biocompatíveis. A hidroxiapatita (HA) é uma cerâmica com propriedades osteocondutoras. O objetivo principal desse estudo é produzir e caracterizar *scaffolds* poliméricos rotofiados a base de PCL, PLLA e PU incorporados com HA para futuras aplicações odontológicas. Os *scaffolds* foram caracterizados quanto a sua morfologia e rugosidade por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM) observando-se morfologia de fibras homogênea com rugosidade superficial. Os *scaffolds* foram ainda caracterizados quanto a composição química por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), estabilidade térmica por termogravimetria (TGA), cristalinidade por difração de raio-X (DRX), avaliação de formação de apatita por fluido corporal simulado (SBF) e caráter hidrofílico por ângulo de contato, e degradação. O (FT-IR) confirmou a presença da HA nas fibras dos *scaffolds* e ausência de solvente residual, por análise termogravimétrica (TGA) foi possível observar que a adição de HA acarretou uma maior estabilidade térmica dos *scaffolds*. O DRX confirmou que não foram detectados picos de difração correspondentes a quaisquer impurezas, apresentando somente picos dos polímeros e da hidroxiapatita. Após a imersão na solução de SBF no período de 30 dias, ocorreram deposição de estruturas do tipo apatita nos *scaffolds*. O ensaio de ângulo de contato mostrou que a adição de HA melhorou a hidrofiliabilidade. A adesão e a proliferação celular foi analisada por ensaios biológicos *in vitro* com células de osteoblastos, e foi possível observar viabilidade celular e biocompatibilidade das células com os *scaffolds*. Além disso, foi observada que as nanopartículas de HA favorecem a osteocondução. Portanto, através dos resultados obtidos conclui-se que os *scaffolds* porosos apresentam propriedades adequadas para o uso em aplicações odontológicas.

Palavras-chave: Compostos poliméricos; Copolímeros; Polímero na medicina.

Abstract

To repair damaged bone tissue, tissue engineering (TE) is considered a viable and promising strategy. Polymers such as polycaprolactone (PCL), polylactic acid (PLLA), and polyurethane (PU) are bioabsorbable and biocompatible. Hydroxyapatite (HA) is a ceramic with osteoconductive properties. The main objective of this study is to produce and characterize rotary jet spun polymeric scaffolds based on PCL, PLLA and PU incorporated with HA for future dental applications. The scaffolds were characterized for their morphology and roughness by scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM) observing homogeneous fiber morphology with surface roughness. The scaffolds were further characterized for chemical composition by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), thermal stability by thermogravimetry (TGA), crystallinity by X-ray diffraction (XRD), evaluation of apatite formation by simulated body fluid (SBF) and hydrophilic character by contact angle, and degradation. The (FT-IR) confirmed the presence of HA in the scaffolds fibers and the absence of residual solvent, by thermogravimetric analysis (TGA) it was possible to observe that the addition of HA resulted in greater thermal stability of the scaffolds. XRD confirmed that no diffraction peaks corresponding to any impurities were detected, meaning the single crystalline phase of the polymers and hydroxyapatite. After immersion in the SBF solution for a period of 30 days, the scaffolds had deposition of apatite-like structures. The contact angle test showed that the addition of HA improved the hydrophilicity. Cell adhesion and proliferation was analyzed by *in vitro* assays with osteoblast cells, and it was possible to observe cell viability and biocompatibility of cells with scaffolds. Furthermore, it was observed that HA nanoparticles promoted osteoconduction. Therefore, through the results obtained, it is concluded that porous scaffolds had suitable properties for use in dental applications.

Keywords: Polymeric compounds; Copolymers; Polymers in medicine.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Processamento de fibras por RJS.....	35
Figura 2: Morfologia da fibra e distribuição do diâmetro da amostra de PLLA a 8% em peso em diferentes velocidades de rotação (a) 4000 rpm (b) 8000 rpm e (c) 12000 rpm.....	36
Figura 3: Fluxograma dos métodos utilizados para caracterizar o material e o <i>scaffold</i> polimérico.....	39
Figura 4: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PCL rotofiado a 12.000 rpm.....	43
Figura 5: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PCL / HA rotofiado a 12.000 rpm.....	44
Figura 6: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PLLA rotofiado a 18.000 rpm.....	45
Figura 7: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PLLA / HA rotofiado a 18.000 rpm.....	46
Figura 8: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PU rotofiado a 18.000 rpm.....	47
Figura 9: Imagens de MEV e histograma do <i>scaffold</i> de PU / HA rotofiado a 18.000 rpm.....	48
Figura 10: Topografia de superfície de nanofibras de A) PCL puro; B) PCL / HA.....	49
Figura 11: Topografia de superfície de nanofibras de C) PLLA puro; D) PLLA / HA.....	50
Figura 12: Topografia de superfície de nanofibras de E) PU puro; F) PU / HA.....	50
Figura 13: Espectro de FTIR na forma de pó de HA.....	52
Figura 14: Espectro FTIR do <i>scaffold</i> fibroso de PCL / HA.....	53

Figura 15: Comparação dos espectro de FTIR do pellet de PCL e dos <i>scaffolds</i> de PCL, HA e PCL / HA.....	56
Figura 16: Espectro FTIR do <i>scaffold</i> fibroso de PLLA / HA.....	57
Figura 17: Espectro FTIR do pellet de PLLA e dos <i>scaffolds</i> de PLLA, HA e PLLA / HA.....	59
Figura 18: Espectro FTIR do <i>scaffold</i> fibroso de PU / HA.....	60
Figura 19: Espectro FTIR do pellet de PU e dos <i>scaffolds</i> de PU, HA e PU / HA.....	62
Figura 20: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PCL.....	63
Figura 21: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PCL / HA.....	64
Figura 22: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PLLA.....	65
Figura 23: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PLLA / HA.....	66
Figura 24: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PU.....	67
Figura 25: Curva de TGA e DTG do <i>scaffold</i> de PU / HA.....	68
Figura26: Padrão de DRX de PCL e PCL / HA.....	70
Figura 27: Padrão de DRX de PLLA e PLLA / HA.....	71
Figura 28: Padrão de DRX de PU e PU / HA.....	72
Figura 29: Imagens de MEV <i>scaffold</i> de PCL (A) e PCL / HA (B) após a imersão em SBF por 30 dias.....	73
Figura 30: Padrão de DRX de PCL e PCL / HA após a imersão em SBF por 30 dias.....	74
Figura 31: Imagens de MEV <i>scaffold</i> de PLLA (C) e PLLA / HA (D) após a imersão em SBF por 30 dias.....	75
Figura 32: Padrão de DRX de PLLA e PLLA / HA após a imersão em SBF por 30 dias.....	76

Figura 33: Imagens de MEV <i>scaffold</i> de PU (E) e PU / HA (F) após a imersão em SBF por 30 dias.....	77
Figura 34: Padrão de DRX de PU e PU / HA após a imersão em SBF por 30 dias.....	78
Figura 35: Análise de ângulo de contato do <i>scaffold</i> PCL (A) e PCL / HA (B).....	79
Figura 36: Análise de ângulo de contato do <i>scaffold</i> PLLA (C) e PLLA / HA (D).....	79
Figura 37: Análise de ângulo de contato do <i>scaffold</i> PU (E) e PU / HA (F).....	80
Figura 38 Análise de degradação <i>in vitro</i> dos <i>scaffolds</i> de PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU, PU / HA em 30, 60, 90 e 120 dias:.....	82
Figura 39: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 24 horas.....	85
Figura 40: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 48 horas.....	86
Figura 41: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 72 horas.....	87

Lista de Tabelas

Tabela 1. Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho de HA.....	52
Tabela 2. Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do <i>scaffold</i> fibroso de PCL/HA.....	54
Tabela 3. Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do <i>scaffold</i> fibroso de PLLA / HA.....	57
Tabela 4. Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do <i>scaffold</i> fibroso de PU / HA.....	60
Tabela 5. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PCL para degradação térmica.....	63
Tabela 6. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PCL / HA	64
Tabela 7. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PLLA.....	65
Tabela 8. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PLLA / HA.....	66
Tabela 9. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PU.....	67
Tabela 10. Características térmicas do <i>scaffold</i> de PU / HA.....	68
Tabela 11: Média e desvio padrão dos dados obtidos do teste de degradação <i>in vitro</i> dos <i>scaffolds</i> de PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU, PU / HA em 30, 60, 90 e 120 dias.....	82

Lista de Abreviaturas

AFM Microscopia de força atômica

DRX Difração de raios-X

ET Engenharia de Tecidos

FTIR Espectroscopia no infra-vermelho por transformada de Fourier

HA Hidroxiapatita

MEC Matriz extracelular

MEV Microscopia eletrônica de varredura

MTT Ensaio de viabilidade e proliferação celular por 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio

PCL Policaprolactona

PRP Plasma rico em plaquetas

PLLA Políácido láctico

PU Poliuretano

RJS Processo de rotofiação

ROG Regeneração óssea guiada

SBF Fluido corporal simulado

TGA Análise termogravimétrica

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1.	Anatomia e fisiologia óssea	22
2.2.	Osteocondução, osteoindução e osteogênese.....	23
2.3.	Enxertos ósseos e produtos biológicos.....	24
2.4.	Reparo de lesões ósseas em aplicações odontológicas.....	27
2.5.	Engenharia de tecidos na substituição de tecido ósseo.....	28
2.6.	Polímeros para aplicações na ET.....	30
2.7.	Incorporação de hidroxiapatita em polímeros sintéticos.....	32
2.8.	Produção de <i>scaffolds</i> fibrosos.....	34
3	OBJETIVOS.....	38
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1.	Materiais.....	39
4.2.	Métodos.....	39
4.2.1.	Produção das fibras poliméricas pelo método de RJS.....	39
4.3.	CARACTERIZAÇÃO.....	40
4.3.1.	Caracterização morfológica por MEV.....	41
4.3.2.	Caracterização morfológica por AFM.....	40
4.3.3.	Caracterizações químicas e térmicas.....	41
4.3.4.	Caracterização de cristalinidade por DRX.....	41
4.2.5.	Análise de deposição de estruturas do tipo apatita- SBF.....	41
4.2.6.	Determinação do ângulo de contato.....	41
4.2.7.	Ensaio de degradação <i>in vitro</i> e absorção hídrica.....	42

4.2.8. Viabilidade e proliferação celular.....	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	43
5.1. Análise Morfológica dos <i>scaffolds</i>	43
5.2. Morfologia dos <i>scaffolds</i> poliméricos	49
5.3. Caracterização Química	51
5.4. Caracterização térmica.....	62
5.5. Análise DRX.....	69
5.6. Análise de detecção de apatita – SBF.....	72
5.7. Comportamento hidrofílico e degradação <i>in vitro</i> das membranas poliméricas	78
5.8. Caracterização biológica por viabilidade e proliferação celular.....	84
6 CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS.....	90

1 INTRODUÇÃO

A odontologia regenerativa concentra várias patologias orodentais. É um ramo importante da medicina regenerativa e inclui defeitos ósseos como periodontite, reabsorção óssea alveolar e doenças destrutivas dos dentes, como carreadores dentários e necrose pulpar. Todas essas doenças afetam diretamente a qualidade de vida dos pacientes e os recursos de saúde, as quais as terapias devem ser direcionadas tanto para a regeneração óssea quanto para a regeneração dentária (Tran et al., 2019).

Para manter as células regenerativas não diferenciadas, vários tipos de biomateriais biodegradáveis são desenvolvidos como matrizes porosas a fim de facilitar as células pré-osteoblásticas e odontoblásticas a diferenciar, depositar e mineralizar a matriz extracelular e substituir o biomaterial com o tempo (Chang et al., 2017). Na região craniofacial, a perda significativa de tecido ósseo ocorre frequentemente devido a anomalias congênitas ou reabsorção secundária a perda dentária, doença periodontal, tumores e lesão traumática (Raja et al., 2009).

Em países de baixa e média renda, a perda dentária é um problema de saúde pública mundial (Marcenes et al., 2013; Murray et al., 2012). Além de ser considerada um potencial fator de risco para doenças cardiovasculares, está associada a condições gerais de saúde como pressão arterial, obesidade e desnutrição (De Marchi et al., 2012; Musacchio et al., 2007; Peres et al., 2012). Na qualidade de vida há um impacto negativo, pois afeta atividades diárias como mastigação, deglutição, fonação, estética e vida social (Furuta & Yamashita, 2013; Gerritsen et al., 2010; Musacchio et al., 2007). Entre as 100 doenças crônicas que afetam a expectativa de vida, a perda dentária severa ocupa a 36ª posição, refletindo não apenas a saúde bucal, mas também a sistêmica (Marcenes et al., 2013). Entre 1998 e 2012, um estudo no Brasil constatou que 10,2% de todos os tratamentos odontológicos foram extrações dentárias de dentes permanentes (De Melo Cunha et al., 2015). Como a indicação principal de extrações, a cárie geralmente é descrita (Jovino-Silveira et al., 2005; C.-Y. Lee et al., 2015; Lesolang et al., 2009). Também são relatadas outras indicações como periodontite, problemas endodônticos, trauma dentário, estética, falha de erupção, parte de um plano de tratamento protético e outras razões médicas como eliminação de focos dentais (Alesia & Khalil, 2013).

O uso de implantes dentários é uma opção amplamente aceita para pacientes com maxilares total ou parcialmente edêntulos. Devido a perda dentária a reabsorção óssea da crista alveolar pode ocorrer afetando negativamente a reconstrução protética adequada, tornando o posicionamento dos implantes dentários na posição tridimensional correta quase impossível. Portanto, para aumentar a largura e a altura do rebordo alveolar atrófico várias técnicas têm sido propostas. A regeneração óssea guiada (ROG) é uma técnica bem estabelecida (Esposito et al., 2009; Milinkovic & Cordaro, 2014; Toti et al., 2017). Para ocorrer a regeneração do periodonto, a técnica ROG segue o princípio da regeneração do tecido guia, que por meio da adaptação da barreira da membrana, impede a migração de células de tecidos moles para o defeito ósseo subjacente. A membrana tem a finalidade de acumular fatores de crescimento ósseo, fornecer a estabilidade ao enxerto ósseo, não permitir a migração de células não osteogênicas para o local e prevenir o colapso dos tecidos moles no defeito, sendo este o papel mais importante (Chiapasco et al., 2009).

Para a técnica ROG, várias membranas de barreira têm sido usadas. Existem opções em relação a composição das membranas de barreira, sendo eles o uso de materiais sintéticos reabsorvíveis e não reabsorvíveis, como o politetrafluoroetileno e uma combinação de ácido poliglicólico e carbonato de trimetileno, e como outra opção, as membranas reabsorvíveis de colágeno, que são materiais reabsorvíveis de origem xenográfica comumente usadas (A. Lee et al., 2009; McGinnis et al., 1998; Mellonig et al., 1998; Simion et al., 1997).

Outros fatores que causam perda óssea na área odontológica são os cistos e os tumores odontogênicos. Os cistos odontogênicos são lesões ósseas destrutivas que permanecem preso no osso ou tecido gengival e se desenvolvem a partir de um componente do epitélio odontogênico (Avelar et al., 2009). Os pequenos cistos odontogênicos são encontrados incidentalmente em radiografias realizadas para avaliação odontológica, pois costumam ser assintomáticos. Os procedimentos alternativos para o tratamento de cistos odontogênicos são descompressão, enucleação e marsupialização, quando se encontram grandes, é necessário realizar ressecção segmentar. Embora forneça excisão de margem livre, essa abordagem é acompanhada de alta morbidade, incluindo perda de dentição e deformidade estética, além de requerer um procedimento reconstrutivo com prótese (Safadi et al., 2020).

Os tumores odontogênicos são derivados de elementos epiteliais, ectomesenquimais e / ou mesenquimais do aparelho formador de dentes. A maioria dos tumores odontogênicos surge sem um fator causal aparente. Eles são divididos em tumores benignos e malignos (PHILIPSEN & H, 2005). Os tumores odontogênicos intraósseos malignos induzem a reabsorção óssea e a

ressecção cirúrgica com margens livres é muitas vezes a terapia de escolha, embora os pacientes devam ser tratados de acordo com a análise histológica, dados locais, status dos linfonodos regionais e status metastático. A reconstrução é obrigatória e permitirá resultados funcionais e estéticos aceitáveis. Para reconstruir tridimensionalmente a perda óssea, manter a funcionalidade e o perfil estético, o tratamento de escolha é a reconstrução com retalho osteomiocutâneo microvascularizado. (PHILIPSEN & H, 2005). Além disso, devido ao rápido desenvolvimento dos biomateriais e as necessidades clínicas da medicina moderna, a pesquisa em biomateriais para reparar ossos em defeitos mandibulares tem atraído cada vez mais atenção (De Meurechy et al., 2018; Qiang Zhang et al., 2019). Devido às suas excelentes propriedades mecânicas, propriedade especial de resistência à corrosão e biocompatibilidade satisfatória, a liga de titânio é um dos biomateriais mais utilizados, que atende aos requisitos de implantação em humanos (Zhao et al., 2018). São utilizadas na reconstrução e reparo mandibular, incluindo placas de reconstrução e customizadas ou endoprótese modular (Chanchareonsook et al., 2014; S. Lee et al., 2008; Lye et al., 2013).

Entre os vários tipos de traumas, o traumatismo facial pode causar danos aos tecidos moles e estruturas ósseas que ocorre como consequência de lesão física na face. É a quinta maior causa de morte no mundo e há uma maior incidência na faixa etária de 20 a 40 anos com predomínio do sexo masculino (McCormick & Putnam, 2018). Nos últimos anos, os fatores causais de lesões faciais mudaram nos países desenvolvidos, passando de acidentes de veículos a violência interpessoal, sendo o consumo de álcool exagerado a causa principal de violência interpessoal (Hutchison et al., 1998).

Dados indicam que ao menos uma vez na vida, 60,7% dos homens e 51,2% das mulheres sofrem um incidente traumático (Javidi & Yadollahie, 2012). Quedas, acidentes de transporte e violência interpessoal, resultam em lesões ortopédicas traumáticas envolvendo fraturas, luxações e lesões graves de tecidos moles (Nadkarni et al., 2005; R. H. Pan et al., 2014). Por vários fatores etiológicos, milhões de pessoas sofrem lesões traumáticas todos os anos (Bryant et al., 2015). Independentemente da idade, sexo, renda ou região geográfica, a lesão traumática tem um impacto considerável na qualidade de vida relacionada à saúde para todas as pessoas (Krug & Team, 1999; Lyons et al., 2010; Toien et al., 2011).

Devido ao aumento da expectativa de vida, os idosos estão adotando um estilo de vida mais ativo e estão em busca de melhores condições de vida, saúde e bem-estar. Essa alteração resulta em acidentes de trauma maxilofacial mais frequentes (Chrcanovic et al., 2010; Marciani, 1999; Toivari et al., 2014; Qiang Zhang et al., 2015). Outros fatores como fraqueza ou falta de

condicionamento físico, perda de equilíbrio, marcha instável, tempo de reação reduzido e deficiência cognitiva, também podem contribuir para o aumento de acidentes traumáticos em idosos (Bonne & Schuerer, 2013; Gassner et al., 2003; Keller et al., 2012; Thompson et al., 2006). Com o entendimento de suas causas, prevenção e tratamento adequado, o trauma maxilofacial é uma preocupação de saúde pública que pode ser facilmente evitada. No Brasil devido a uma alta prevalência de comorbidade gerada após um acidente traumático, os idosos consomem 60% a mais de recursos governamentais do que adultos, jovens e crianças (Bonne & Schuerer, 2013; Gassner et al., 2003; Keller et al., 2012; Thompson et al., 2006) .

Na prática clínica de reparo de defeitos ósseos, as fraturas, infecções e tumores ósseos tornaram-se um grande desafio médico e socioeconômico (J. J. Li et al., 2019; Munhoz et al., 2018; Song et al., 2018). Na Austrália e na Nova Zelândia, a lesão traumática desempenha um papel fundamental em causar mortalidade e morbidade (Curtis et al., 2012; Mathers et al., 2001). Nos Estados Unidos e na União Europeia, as consequências socioeconômicas do tratamento de pacientes com fratura óssea aumentarão no futuro devido ao envelhecimento de suas populações. Cerca de 1 milhão de casos por ano nos Estados Unidos, tratamentos de defeitos ósseos requer procedimentos de enxerto ósseo (Petite et al., 2000).

O uso de enxertos ósseos em especial enxertos autólogos e autógenos ou próteses usando materiais metálicos e cerâmicos, são os tratamentos baseados em reposição óssea (Spitzer et al., 2002). Para uma cura bem-sucedida do enxerto, é necessário fornecer ou promover três características principais: osteocondução para manter espaço para novo crescimento ósseo, osteogênese para recrutar células formadoras de osso e osteoindução para induzir a diferenciação de células indiferenciadas durante a regeneração ou reparo ósseo (Block & Kent, 1997; Schlegel et al., 2003). No entanto, exceto osso autógeno, nenhum material de enxerto ósseo apresenta todas essas características. Embora haja um número crescente de substitutos para o enxerto ósseo, os autoenxertos que retirado de outra parte do corpo do paciente, ainda são considerados o padrão ouro para aumento ósseo em cirurgia oral e maxilofacial (Gazdag et al., 1995; Kneser et al., 2006; Misch, 2010). Possuem propriedades osteogênicas, osteoindutivas e osteocondutoras (Batas et al., 2020). No entanto, mesmo com uma boa taxa de sucesso, requer procedimentos cirúrgicos invasivos e muitas vezes em quantidade insuficiente de material (Srnc et al., 2018). Os enxertos que envolvem a implantação de um osso natural removido de outro corpo humano chamado de aloenxertos, podem representar uma solução válida em cirurgia óssea. Entretanto, os riscos de rejeição aumentam devido a transmissão de infecções por patógenos do doador ao hospedeiro no local

do implante após o transplante. Além disso, os aloenxertos passam por processos de remoções de fatores de histocompatibilidade e patógenos, os quais perdem diversos componentes indispensáveis para desempenhos de incorporação similares aos autógenos. Quando o transplante não é aplicável, os enxertos ósseos xenógenos, implantes de diferentes espécies de animais, também são comumente usados para a reparação de defeitos ósseos (Arrington et al., 1996; Banwart et al., 1995). Mesmo com propriedades semelhantes do osso autólogo em termos de estabilidade e elasticidade biomecânica, os aloenxertos e xenoenxertos representam uma limitação de uso mesmo quando os fatores osteoindutores são preservados durante o processamento (Aho et al., 1994; Lobo Gajiwala et al., 2003).

A Engenharia de Tecidos (ET) surge como uma alternativa a reparo de funções dos tecidos através de biomateriais na forma de *scaffolds*, células e moléculas bioativas que substituem funções biológicas estruturais e funcionais. *Scaffolds* são biomateriais projetados para causar interações celulares desejáveis para o arranjo de novos tecidos funcionais. Para regenerar uma diversidade de tecidos conjuntivos como cartilagem, osso, tendão ou ligamento, os princípios da ET foram aplicados utilizando uma combinação de células e fatores de crescimento (Asl & Ghomi, 2020; Soleymani Eil Bakhtiari et al., 2021). Entretanto, para funcionar como uma subestrutura para o tecido a ser restaurado e causar adesão, proliferação e diferenciação celular, *scaffolds* tridimensionais altamente porosos com estrutura química adequada de superfície e topografia são desejados (Eivazzadeh-Keihan et al., 2019). O *scaffold* deve imitar a matriz extracelular (MEC) no aspecto morfológico, bioquímico e mecânico (Amani et al., 2019; Tonda-Turo et al., 2016). Semelhança com a estrutura do tecido alvo, resistência mecânica apropriada, biocompatibilidade, taxa de degradação ajustável com produtos de degradação não tóxicos, boa porosidade para o transporte de nutrientes e resíduos são as propriedades de um *scaffold* (Guo & Ma, 2018; Suesca et al., 2017).

O desenvolvimento de biomateriais para qualquer aplicação de substituição óssea deve ser baseado na estrutura a ser substituída. No entanto, o local da aplicação e da função que deve ser restaurada, depende das propriedades do biomaterial. Para que os biomateriais sejam compatíveis ao ambiente biológico, precisam sobreviver ao estado de estresse do osso, as condições e atividades do paciente e o pH dos fluidos corporais, que podem variar de 1 a 9 em vários tecidos (Black & Hastings, 1998).

Em cirurgia ortopédica foi desenvolvida uma ampla gama de técnicas operatórias, entre elas a osteossíntese é uma das técnicas mais comuns tanto em ortopedia quanto em traumatologia. A osteossíntese é a união das extremidades dos fragmentos ósseos

fraturados para manter a posição anatômica correta com auxílio de placas, fios, hastes, pregos e parafusos (Toogood et al., 2018). O principal objetivo da técnica de osteossíntese é a restituição da mobilidade do membro acometido (Vicenti et al., 2020). O material utilizado pode ser retirado ou não após certo tempo e quando a fratura está consolidada (Pham Dang et al., 2019). Para suportar a carga no segmento ósseo lesionado, os biomateriais utilizados na osteossíntese são obrigados a possuir as propriedades mecânicas ao local do implante (Merolli, 2019).

Para melhorar a ligação bioquímica do osso, a hidroxiapatita (HA) é um agente bioativo que induz a osteocondutividade incentivando a formação óssea *in vivo* ao longo da sua superfície (Barrere et al., 2003; Ong & Chan, 2000). É o principal mineral do osso, possui os componentes de fosfato de cálcio e tem sido frequentemente usada como um composto estrutural e bioativo na indução de formação de novos ossos (Allegrini Jr. et al., 2006; Alt et al., 2016). Além disso, a HA tem a capacidade intrínseca de promover a diferenciação osteogênica das células-tronco e, assim, acelerar o processo de regeneração óssea (Ma et al., 2018; Samavedi et al., 2013). Devido sua alta biocompatibilidade e segurança, a HA é um componente inorgânico que tem sido amplamente aplicada na ET (J Li et al., 2014; Ma et al., 2017).

A fabricação de biomateriais funcionais imitando a composição do osso natural concentraram-se nas últimas décadas no campo ET (J Li et al., 2014; Misra et al., 2010; Sun et al., 2017; R. Zhang & Ma, 1999). Para fabricar *scaffolds* ósseos porosos existem uma variedade de métodos amplamente utilizados, entre eles incluem liofilização, solubilização com solvente, eletrofiação e rotofiação (Bose et al., 2017; De Witte et al., 2018).

Os materiais poliméricos também são amplamente estudados como materiais de implantes ortopédicos (Ramakrishna et al., 2001). Quando utilizados em locais cirúrgicos ósseos, os materiais poliméricos podem ser seguros, eficazes e suficientemente flexíveis, sendo muito apreciados em aplicações orais e maxilofaciais (Sukegawa et al., 2016).

Quando possuem estrutura fibrosa são interessantes para aplicações biomédicas devido a terem grande proporção superfície-volume, alta porosidade e interconectividade dos poros de maneira controlada (James & Laurencin, 2016; J. I. Kim et al., 2016; Murphy et al., 2014). Entretanto, para atender os requisitos básicos da ET, as fibras devem apresentar biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades mecânicas apropriadas e características superficiais suficientes para adesão e proliferação celular (O'Brien, 2011).

Numerosos polímeros sintéticos são utilizados na ET, entre eles esse estudo destaca a policaprolactona (PCL), o poliácido láctico (PLLA) e o poliuretano (PU). O objetivo da presente proposta é produzir biomateriais poliméricos na forma de membranas incorporadas com HA e caracterizar suas propriedades para futuras aplicações odontológicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia e fisiologia óssea

O esqueleto humano é formado por 80% de osso cortical e 20% de osso trabecular (Clarke, 2008). O osso cortical é composto por um córtex externo denso, enquanto o trabecular é localizado no interior da estrutura óssea composto por uma rede interna de placas e hastes (Jadvar et al., 2004). O periósteo é um tecido conjuntivo fibroso que cobre a superfície cortical externa do osso, exceto nas articulações. O endósteo é uma estrutura membranosa que cobre a superfície interna. Ambos contêm vasos sanguíneos, osteoblastos e osteoclastos. Os osteoclastos, osteoblastos e osteócitos são os principais constituintes celulares do osso e são circundados por matriz extracelular mineralizada (Singh et al., 2018). A hematopoiese é uma das funções mais importantes do osso, sendo responsável pela produção de mais de 100 bilhões de células sanguíneas maduras por dia (Taichman, 2005).

Os ossos crescem e se modificam até atingir a forma e as dimensões adultas nas primeiras fases da vida, além de estar em contínuo processo de remodelação e reabsorção por formação mediada de osteoblastos que substitui osso velho e danificado por osso novo (Jadvar et al., 2004). Em um microambiente com mediadores solúveis, o osso trabecular abriga as células da medula incluindo citocinas e fatores de crescimento que participam do processo de hematopoiese indicando uma estreita relação entre o sistema ósseo, hematológico e imunológico (Taichman, 2005). Em resposta as citocinas do fator de crescimento e fator de crescimento transformador, o processo de ossificação é realizado diretamente pela ação dos osteoblastos que proliferam das células-tronco mesenquimais (Miller et al., 1999).

A produção de matriz extracelular (MEC) é uma das funções dos osteoblastos que consiste em proteínas colágenas, principalmente colágeno tipo I e mineral ósseo, que é

principalmente a hidroxiapatita (Clarke, 2008; Okamoto et al., 2007) (Okamoto et al., 2007). Nessa matriz óssea, os osteoblastos que permanecem embutidos, se diferenciam em osteócitos. Para formar uma rede e participar na regulação da remodelação óssea com osteoblastos e osteoclastos, os osteócitos estabelecem uma comunicação adequada por seus processos dendríticos (Bonewald, 2002; Kalajzic et al., 2013). Os osteoclastos pertencem a linhagem monócito, macrófago e são as células exclusivas implicadas na reabsorção óssea (Miller et al., 1999).

No início da idade adulta o pico de massa óssea é alcançado e é influenciado por muitos fatores, incluindo atividade física, nutrição, sexo, período da puberdade e composição corporal (Gordon et al., 2017). Equilíbrio entre a formação e reabsorção óssea, forma e tamanho do osso, densidade mineral óssea e microarquitetura óssea são os fatores que contribuem para a resistência óssea (Fonseca et al., 2014; Seeman & Delmas, 2006). O aumento do risco de fraturas pode levar ao desequilíbrio em qualquer um ou uma combinação desses fatores (Stalvey & Clines, 2013).

2.2 Osteocondução, osteoindução e osteogênese

As três principais propriedades dos ortobiológicos usadas na consolidação óssea são osteocondução, osteoindução e osteogênese (Egol et al., 2015).

Osteocondução é um processo de formação óssea capaz de suportar a fixação de osteoblastos e células osteo-progenitoras permitindo a migração e crescimento dessas células dentro da arquitetura tridimensional do enxerto (Albrektsson & Johansson, 2001; Bray et al., 2017; Finkemeier, 2002; Roberts & Rosenbaum, 2012). A fim de curar ou formar novo osso, os materiais osteocondutores servem como um arcabouço para a resposta do hospedeiro. Entre os materiais osteocondutores se encontram os autoenxerto, aloenxerto, matriz óssea desmineralizada e estruturas de preenchimento como cerâmica de cálcio. Para apoiar o crescimento interno das células hospedeiras e da vasculatura, os materiais osteocondutores geralmente contêm uma matriz estruturada semelhante a do osso esponjoso. Em comparação com fatores de crescimento e moléculas de sinalização, como proteínas morfogenéticas ósseas, o autoenxerto esponjoso tem o maior potencial osteocondutor (Roberts & Rosenbaum, 2012).

A osteoindução é um processo de formação óssea onde um novo osso é gerado através de células primitivas, indiferenciadas e pluripotentes como osteoblastos e condroblastos pela qual a osteogênese é induzida (Albrektsson & Johansson, 2001). Além disso, a osseointegração que define a capacidade de um implante ancorar com a formação de tecido ósseo ao redor do implante na interface osso-implante (Albrektsson & Johansson, 2001). Entre os materiais osteoindutores incluem principalmente fatores de crescimento e moléculas de sinalização, como BMPs, fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento de fibroblastos e interleucinas bem como autoenxerto ósseo concentrado de medula óssea e plasma rico em plaquetas (Bray et al., 2017; Finkemeier, 2002; Roberts & Rosenbaum, 2012).

O processo de elementos celulares específicos como células doadoras derivadas do hospedeiro ou de enxertos capazes de sintetizar novo osso é chamado de osteogênese (Roberts & Rosenbaum, 2012). Para estimular a osteogênese, o osso esponjoso autógeno possui excelente potencial, pois possui todos os elementos necessários. No entanto, outros produtos ortobiológicos surgiram, incluindo fatores de crescimento, proteínas de sinalização celular e terapias baseadas em células (Calcei & Rodeo, 2019).

2.3 Enxertos ósseos e produtos biológicos

Na região craniofacial, o objetivo dos enxertos ósseos é restaurar e preservar a forma e a função. Para garantir o sucesso, o conhecimento dos processos moleculares e fisiológicos do enxerto é parte integrante da tomada de decisão. (Doonquah et al., 2021).

Para melhorar o reparo ósseo são usados produtos biológicos adjuvantes. Estes, são amplamente classificados como terapia baseada em células, fatores de crescimento e terapias anabólicas. Esses substitutos ósseos são enxertos feitos de aspirado de medula óssea ou plasma rico em plaquetas que são combinados com osso autólogo (Virk & Lieberman, 2012). O enxerto de aspirado de medula óssea tem como sua vantagem ser colhido de forma minimamente invasiva, além de ter um número elevado de células-tronco mesenquimais na medula (Baldwin et al., 2019; Roberts & Rosenbaum, 2012). Outra hipótese é que por meio da estimulação da angiogênese pelas células progenitoras endoteliais que contém, os enxertos de aspirado de medula óssea promovem a consolidação da fratura (Roberts & Rosenbaum, 2012). Para poupar o paciente de cirurgias adicionais no local doador, os produtos biológicos fornecem alternativas

com propriedades osteoindutivas e osteogênicas, além de estimular a incorporação do enxerto (Doonquah et al., 2021).

As proteínas específicas BPM são um fator de crescimento para reparo ósseo e extraídas da matriz óssea (Martin & Bettencourt, 2018). Foram inicialmente identificadas em resíduos de matriz e fibras de colágeno por Urist em 1968 (Smith & Sueda, 2008). As proteínas morfogênicas ósseas, BMPs, fazem parte da superfamília do fator de crescimento transformador β (TGF- β) (Chen et al., 2012). A ação das BMPs é regulada por receptores de serina treonina quinase para regular positivamente as vias a jusante que afetam a atividade osteogênica e não osteogênica (Shegarfi & Reikeras, 2009). Das proteínas morfogênicas do osso, BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7 e BMP-9 são os indutores do crescimento ósseo, sendo BMP-2 e BMP-7 os subtipos mais amplamente estudados (Ho-Shui-Ling et al., 2018). Ayoub & Gillgrass, (2019) relataram que BMP-2 reconstruiu 50% dos defeitos cirúrgicos de um edema localizado. Martin & Bettencourt, (2018) mostraram que BMP-2 podem apresentar resultados de cicatrização aceitáveis, como em procedimentos de elevação do seio nasal, mesmo quando apenas um material osteocondutor é utilizado no procedimento reconstrutivo. Um estudo acompanhado por 10 anos com BMP-7, mostrou resultados semelhantes aos de osso autógeno com boa regeneração óssea e menor tempo de internação hospitalar (Ayoub & Gillgrass, 2019). O uso de BMP-2 está associado a edemas graves, formação óssea ectópica indesejada, formação óssea retardada e possivelmente aumento do risco de câncer (Shields et al., 2006). Outra possibilidade de trabalhar com BMP-2 é a combinação com outros fatores de crescimento. No entanto, para se obter um melhor entendimento da influência da liberação de BMP-2 e BMP-7 na formação óssea, mais biomateriais devem ser testados (Martin & Bettencourt, 2018).

Desde a década de 1970, o plasma rico em plaquetas (PRP) tem sido usado clinicamente. A concentração de plaquetas pode ser maior que 2 milhões de células / μL , apresenta altos níveis de fatores de crescimento, é rico em proteínas secretoras e promove a cicatrização de feridas (Tobita et al., 2013). Além disso, libera vários fatores de crescimento e facilita a proliferação, migração e diferenciação de células de regeneração de tecido (Mamede et al., 2012; Sánchez-González et al., 2012). Para regular a cicatrização de feridas e regeneração de tecidos, especialmente a ET periodontais, o PRP autólogo que é a fração líquida processada do sangue periférico autólogo com uma concentração de plaquetas acima da linha de base, se torna uma ferramenta eficaz (Ghoreishian et al., 2013; Grottkau & Lin, 2013).

Um osso colhido de um doador vivo ou de um cadáver, refere-se a um enxerto ósseo alogênico, que é então transplantado para o paciente que precisa de um enxerto ósseo

(Fernandez de Grado et al., 2018; W. Wang & Yeung, 2017). Quando um enxerto ósseo autólogo não é possível, o enxerto ósseo alogênico é considerado a melhor opção (W. Wang & Yeung, 2017). Podem ser implantados em três formas diferentes: fresco, fresco congelado e liofilizado (Costain & Crawford, 2009). Para esterilizá-lo um enxerto alogênico é preparado removendo o tecido mole com etanol e então irradiado. O risco de infecção ou doença devido ao enxerto não esterilizado ou não devidamente esterilizado e a possibilidade de uma reação imunológica ao enxerto são as desvantagens. Além disso, a irradiação afeta as propriedades biológicas dos enxertos. O enxerto antes da irradiação possui propriedades osteogênicas e osteoindutivas, já após a irradiação, o enxerto é estruturalmente mais fraco e possui apenas propriedades osteocondutoras (Roberts & Rosenbaum, 2012).

Diferentes métodos de processamento e armazenamento de tecido ósseo, assim como biomateriais alternativos de natureza natural ou sintética têm sido propostos e estudados. Entre eles estão o enxerto ósseo alogênico de origem bovina processados e liofilizados (Giovani et al., 2006). O osso bovino tem grande semelhança físico-química e estrutural com o osso humano e possui disponibilidade praticamente ilimitada (Galia et al., 2011). Por ser de fácil obtenção, alta disponibilidade e alta similaridade ao osso humano, o enxerto bovino liofilizado é uma opção que tem sido utilizada em diversas áreas médicas (Sugihara et al., 1999). Para prevenir apenas a matriz mineral-proteica, o enxerto bovino liofilizado é lavado, desgordurado e descelularizado, sendo então desidratado. Além de apresentar alto teor de cálcio e fósforo, que são essenciais para a neoformação do tecido ósseo, possui composição química, porosidade, tamanho, forma e comportamento biológico semelhantes aos do osso humano, proporcionando estrutura de suporte e osteocondução (Galia et al., 2011). Portanto, o enxerto bovino liofilizado é uma opção de tratamento para cirurgias odontológicas e ortopédicas que requerem algum tipo de enxerto para preenchimento de defeitos ósseos (Galia et al., 2011).

Para guiar o processo de regeneração de tecido / osso, o método de tratamento preferido envolve o uso de membranas sintéticas ou derivadas de tecidos (Grottkau & Lin, 2013). De acordo com seu comportamento de degradação, os biomateriais podem ser divididos em duas categorias; não reabsorvível e reabsorvível (Halberstadt et al., 2002). Para se ligar ao hospedeiro sem desencadear uma resposta inflamatória, as membranas devem demonstrar biocompatibilidade, apresentar perfil de degradação apropriado e mais importante, permitir que o tecido amadureça completamente antes que os biológicos comecem a se degradar. Além disso,

para o tratamento clínico, esses agentes biológicos devem ter força inicial e atividade biológica suficientes (T. T. Y. Han et al., 2015; Hattori et al., 2004; Hicok et al., 2004).

Devido as suas semelhanças na composição com o osso, a HA é utilizada como material de enxerto ósseo, é biocompatível, osteocondutora e, dependendo das condições pode ser osteoindutiva (Sohn & Oh, 2019). Também se encontra como um fator de crescimento ósseo e em combinação com polímeros naturais ou sintéticos são mais desejáveis, pois sua mecânica melhorada com propriedades osteocondutoras são mais propícios para a regeneração oral e maxilofacial (Cheung et al., 2014).

2.4 Reparo de lesões ósseas em aplicações odontológicas

Muitas lesões ósseas e dos tecidos moles da área oral e maxilofacial são ocasionalmente fatais, e quando há sobreviventes, sustentam deficiências e deformidades que podem comprometer a qualidade de vida se não forem adequadamente gerenciadas (Mansuri et al., 2015). Na maioria dos hospitais em atendimento de emergência, as lesões maxilofaciais foram vistas como sendo o maior número de casos de trauma (Yamamoto et al., 2010).

As fraturas orais e maxilofaciais se referem as fraturas do esqueleto facial, osso dento-alveolar e partes associadas na região da cabeça e pescoço devido a trauma externo. Essas fraturas podem acometer funções faciais, estética e redução da qualidade de vida (Majambo et al., 2013). A incidência de fraturas maxilofaciais difere de um país para outro e mesmo dentro do mesmo país, as diferenças são relatadas dependendo dos fatores socioeconômicos, culturais e ambientais (Bogusiak & Arkuszewski, 2010). Acidentes de trânsito, quedas, esportes, violência doméstica, agressões, suicídios e lesões por arma de fogo representam as principais causas de fraturas maxilofaciais (Gentile et al., 2013).

Os acidentes de trânsito continuam sendo o principal problema de saúde em todo o mundo (Boffano et al., 2014). Três quartos de todas as fraturas ocorrem entre adultos com 65 anos ou mais (Johnell & Kanis, 2006). Em crianças e idosos lesões devido a queda de altura são mais comumente observadas, sendo que as lesões mais comuns são nos tecidos moles, como abrasões, lacerações, mordidas na língua ou avulsões dentárias (K. Hussain et al., 1994; Iida et al., 2003). O esporte é responsável por 3 a 29% das lesões faciais e 10 a 42% das fraturas faciais, com índice de comprometimento maior nos homens (Viozzi, 2017).

Como uma solução promissora, os biomateriais surgiram em diferentes áreas, entre elas no campo da ortopedia e em cirurgias reconstrutivas maxilofaciais. Com o crescimento da população idosa e mudanças no estilo de vida, o mercado de biomateriais está aumentando e avanços tecnológicos em bioengenharia tem ocorrido (S. Kumar et al., 2020).

Os biomateriais têm como função restabelecer a integridade estrutural do osso lesionado ou substituí-lo. Há propriedades que são necessárias para construção de um biomaterial, sendo elas propriedades mecânicas específicas, biocompatibilidade, boa estabilidade, ser inerte, promover integração óssea, alta resistência ao desgaste e facilidade de aplicação cirúrgica (S. Kumar et al., 2020).

Em 2025, o mercado global de biomateriais está projetado para atingir US \$ 47,5 bilhões. O crescimento do mercado é impulsionado principalmente para o desenvolvimento de novos biomateriais, aumento da demanda por implantes médicos e aumento da incidência de doenças cardiovasculares, aumentando a pesquisa em medicina regenerativa. Além disso, nos próximos anos é esperado um alto crescimento para aplicações em cirurgia plástica e cicatrização de feridas (Biomaterials Market, 2021).

A cada dia a demanda por aparelhos ortopédicos aumenta. O valor de mercado global atual de tecnologias ortopédicas foi relatado em US \$ 41,9 bilhões e chegará a US \$ 56,2 bilhões no final do ano de 2023 com CAGR de 4,7% (Jaganathan et al., 2019)

Para construção de futuros implantes ortopédicos, os biomateriais são candidatos altamente promissores os quais têm a capacidade de imitar ou replicar os órgãos constituintes de um osso natural (Cheng et al., 2018; Y.-W. Wang et al., 2003). Para curar danos irreversíveis do osso natural e saudável, a demanda de substitutos ósseos é indispensável. Os biomateriais podem desempenhar um papel não apenas fornecendo suporte estrutural para a célula, mas também regulando a proliferação, diferenciação e migração celular (Patel et al., 2016; Vieira et al., 2017; Q. Wang et al., 2016) .

2.5 Engenharia de tecidos na substituição de tecido ósseo

Em 1988 através do professor Nerem, o termo ET foi mencionado em um Simpósio UCLA de Biologia Molecular e Celular (Eltom et al., 2019). O principal objetivo da ET é reparar tecidos e órgãos danificados utilizando uma estrutura de suporte denominada *scaffold*.

O *scaffold* para a ET óssea deve ser biocompatível, não tóxico, possuir boas propriedades mecânicas e ter taxa de degradação desejada. Além disso, deve fornecer suporte as células para aderir, proliferar e manter a atividade metabólica, agindo temporariamente como suporte para a transferência de tensão nas regiões lesadas do corpo, facilitando e orientando o crescimento celular até a regeneração tecidual completa (O'Brien, 2011). Para facilitar a migração celular e o transporte de nutrição, os *scaffolds* devem possuir parâmetros estruturais adequados, como porosidade e tamanho de poro ideais (Hassanajili et al., 2019). Para os *scaffolds* ósseos os tamanhos de poros adequados estão entre 75 e 300 μm (S. Yang et al., 2001).

Nos dias atuais milhões de procedimentos ortopédicos são realizados em pacientes que sofrem defeitos ósseos decorrentes de trauma, tumor ou doenças ósseas (Venugopal et al., 2010). Atualmente, os métodos comerciais utilizados para reparar tecidos ósseos danificados são os autoenxertos e os aloenxertos. Essas soluções de enxerto apresentam várias limitações, como escassez no local doador, rejeição, transmissão de doenças, risco de imunogenicidade, infecções e morbidade pós-operatória (Navarro et al., 2008; Prabhakaran et al., 2009). No entanto, suas desvantagens limitaram seu uso nas aplicações clínicas.

Por ter superado as limitações do método convencional, a ET se apresenta como uma alternativa promissora devido o avanço da tecnologia, pois restaura, mantêm e melhora a função dos tecidos, além de ser um campo interdisciplinar com desenvolvimento de substitutos biológicos (Heydari et al., 2017; Lumelsky, 2007; Q Zhang et al., 2015). A produção de um tecido manipulado começa pelo design e pela formação de uma estrutura capaz de suportar a migração e o crescimento de células (O'Brien, 2011; Sachlos & Czernuszka, 2003). Quando o material entra em contato com o sangue, inicialmente a rápida absorção das proteínas plasmáticas ocorrerá (Jaganathan et al., 2019). Devido a isso, em aplicações clínicas, o uso do material fabricado desempenha um papel fundamental na compatibilidade sanguínea (Jaganathan et al., 2019).

Para a ET, o modelo de biomaterial deve se assemelhar a MEC e ter um ambiente bioativo para promover as funções celulares (Keane & Badylak, 2014). Células, *scaffolds* e fatores de crescimento são os componentes envolvidos na ET. Entre os citados, os *scaffolds* são estruturas tridimensionais biocompatíveis cujas propriedades são semelhantes da MEC no que se refere ao comportamento mecânico, atividade celular e produção de proteínas por meio de interação bioquímica e mecânica (Agarwal et al., 2008). Também fornece suporte para o crescimento de novos tecidos através do aumento da adesão, proliferação celular e formação de tecido ósseo (Heydari et al., 2017; Q Zhang et al., 2015).

Para formar interface forte com o tecido ósseo, os materiais compostos principalmente de cerâmica, vidros e vitrocerâmica são utilizados (Hench & Thompson, 2010). Um *scaffold* ortopédico deve ter propriedades adequadas de implantes de crescimento ósseo, uma vez que se deve suportar a fixação, ter regeneração e proliferação de tecidos (Afewerki et al., 2020). A HA se destaca por ser o principal componente de fosfato de cálcio dos ossos (A. Kumar et al., 2014). Além disso, apresenta propriedades não inflamatórias, não tóxicas, osteocondutoras excelente biocompatibilidade e bioatividade (He et al., 2012).

2.6 Polímeros para aplicações na ET

Para reparar e restaurar várias funções dos tecidos, pesquisas inovadoras no campo dos biomateriais impulsionaram novas estratégias na ET, nanotecnologia e na entrega de agentes bioativos (Donaruma, 1988).

Os biomateriais poliméricos desempenham um papel importante na ET, pois podem imitar a MEC das células e melhorar o comportamento biológico das células *in vitro* e *in vivo*. Para este fim e dependendo do tipo de tecido, existem vários tipos de polímeros sintéticos e naturais que podem ser utilizados. Para melhorar as propriedades físico-químicas e biológicas, vários materiais podem ser utilizados juntos e em uma forma compósita, uma vez que os materiais biológicos e sintéticos têm suas vantagens e desvantagens (Asadi et al., 2019).

Os polímeros naturais são materiais extraídos de sistemas biológicos, como plantas, microrganismos, algas e animais. Podem ser produzidos pela fermentação de microrganismos ou por processos enzimáticos. Esses tipos de polímeros são amplamente utilizados na administração de medicamentos, cosméticos, cicatrização de feridas e ET (Rahmani Del Bakhshayesh et al., 2018). São materiais não tóxicos muito semelhantes aos tecidos hospedeiros, portanto, eles podem se comunicar facilmente com sistemas biológicos e melhorar o comportamento celular, como migração, adesão, proliferação e diferenciação (Rahmati et al., 2018). Além de inúmeras vantagens, os polímeros naturais apresentam desvantagens, incluindo sensibilidade a altas temperaturas e baixa resistência mecânica (Mano et al., 2007).

Os polímeros sintéticos são aqueles que são produzidos através de procedimentos industriais, de maneira artificial, ou seja, são sintetizados pelo homem. Entre os polímeros sintéticos, os poliésteres são amplamente estudados para aplicações de ET (van Dijkhuizen-

Radersma et al., 2008). Os poliésteres alifáticos de base biológica são polímeros biodegradáveis que possuem excelente biocompatibilidade e biodegradabilidade. Têm sido um dos biomateriais degradáveis mais aceitos até a presente data devido a relativa facilidade de síntese e disponibilidade comercial. No campo da área médica e farmacêutica, são materiais promissores para uma ampla gama de aplicações (Wu et al., 1996).

Desde tempos muito anteriores a década de 1930, o PCL já vinha sendo estudado (Natta et al., 2002). É um poliéster degradável, semi-cristalino, cujo material é excelente para aplicações de ET devido as suas inúmeras vantagens, incluindo propriedades mecânicas, estabilidade química, excelente biocompatibilidade e baixo custo de produção (A. P. Zhu et al., 2006). O PCL é um polímero aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) o que permite uma possibilidade mais rápida de comercialização (Darney et al., 1989). É utilizado em diferentes formas na ET, incluindo *scaffolds*, compósitos, fibras e filmes (Cools et al., 2018; R Ghoheira et al., 2017; Rouba Ghoheira et al., 2017; Heo et al., 2009). Sua degradação mostra ser a longo prazo com cerca de 2 a 4 anos dependendo do peso molecular, o que permite que ele seja usado em implantes de longo prazo (Rohner et al., 2003; Schuckert et al., 2009). A distribuição de medicamentos de tamanho variando entre micro a nanômetro e criação de *scaffolds* apropriadas com células de reparo, concentram-se no uso de PCL nas pesquisas atuais. Além disso, estudos clínicos com o uso de *scaffold* de PCL, comprovaram a reconstrução e a formação óssea (Rohner et al., 2003; Schuckert et al., 2009).

Devido a sua boa processabilidade e propriedades estruturais, morfológicas, químicas, térmicas e biológicas em comparação com outros polímeros biodegradáveis, o PLLA atraiu considerável atenção nos últimos 20 anos (Briassoulis, 2004; Chandra & Rustgi, 1998). É obtido a partir de fontes naturais, tais como amido de milho e cana-de-açúcar. É um polímero sintético biodegradável o qual não libera subprodutos tóxicos ou prejudiciais à medida que se desintegra no corpo. O PLLA tem sido amplamente estudado pois possui recursos de processamento versáteis e pode ser adequado para uma variedade de aplicações, sendo uma delas no campo biomédico devido a sua biorreabsorção e biocompatibilidade. É utilizado como suturas, suporte de ET, aparelhos ortopédicos e sistemas de liberação de medicamentos (Tanase & Spiridon, 2014). Devido essas características, assim como o PCL obteve a aprovação na FDA (F. Peng et al., 2013).

Assim como o PLLA e o PCL, o PU é um polímero facilmente processável, com características de material rígido ou flexível, boas propriedades mecânicas e propriedades que podem ser melhoradas com diferentes reagentes de síntese. É um dos principais grupos de

elastômeros com propriedades químicas ajustáveis, propriedades mecânicas controladas e biodegradabilidade (Lakshman et al., 2010). A sua aplicação como biomaterial é biocompatível com sangue e tecido, apresenta baixa taxa de degradação, sendo os produtos gerados pela degradação biocompatíveis e metabolizados pelo organismo (Niu et al., 2014; Sivakumar et al., 2012). É usado em muitas aplicações como coberturas, espumas, fitas, couros artificiais, membranas, elastômeros e materiais médicos devido as suas vastas combinações (Chattopadhyay & Webster, 2009). Na forma de fibras têm muitos usos em potencial como ET, curativo, administração de medicamentos, e aplicações cardiovasculares (Niu et al., 2014; B. Oh & Lee, 2013; Sharma et al., 2013; Sundarrajan et al., 2014; Unnithan et al., 2012; F. Yang et al., 2005).

Os *scaffolds* fibrosos têm uma alta relação superfície-volume e porosidade ajustável. O tamanho dos poros das fibras as torna uma opção para a cicatrização de feridas e queimaduras. Além disso, essas fibras têm um grande potencial nas gerações futuras de sistemas de administração de medicamentos (Lakshman et al., 2010).

2.7 Incorporação de hidroxiapatita em polímeros sintéticos

O osso humano é construído a partir de fibrilas de colágeno mineralizadas que formam os blocos básicos da estrutura tridimensional. A HA possui os componentes do fosfato de cálcio e é o principal componente mineral que corresponde 65-70% em peso de osso (F. Peng et al., 2013). É o material cerâmico mais utilizado para a restauração e regeneração dos ossos devido a sua similaridade química com os ossos mineralizados. Essa semelhança é baseada em seu potencial osteocondutor e excelente biocompatibilidade (Xie et al., 2016).

Para a fabricação de partes artificiais do corpo, aplicações biomédicas especialmente em medicina dentária, regenerativa e ET, os materiais compósitos poliméricos são usados, os quais mostram boa biocompatibilidade (F. Hussain et al., 2006). As nanopartículas de HA incorporadas nas membranas poliméricas melhoram as propriedades osteocondutivas dos polímeros e têm sido utilizadas para produzir diferentes compósitos poliméricos para várias aplicações na ET (H. Pan et al., 2014).

Para a distribuição de moléculas bioativas, os polímeros são substratos muito importantes. O PCL é um polímero biodegradável bastante utilizado na ET para fabricar

diferentes tipos de *stents* devido as suas boas propriedades de biocompatibilidade e retenção de forma. No entanto, quando usado na ET ósseos, a superfície do polímero não pode ser firmemente ligada no novo tecido ósseo, devido a bioatividade insuficiente do PCL. A HA por ter alta bioatividade, é usada como material substituto ósseo (Degirmenbasi et al., 2006; Kong et al., 2006; LiuXinhui et al., 2015). Abdal-Hay e colaboradores (2013) afirmam que em combinação dos dois materiais, o PCL juntamente com HA apresenta aplicações de regeneração de tecido ósseo (Abdal-Hay et al., 2013).

O PLLA é um material biomédico clinicamente reconhecido e desempenha um papel importante na orientação da regeneração óssea. No entanto, o PLLA é fortemente hidrofóbico com baixa resistência mecânica (Ginsac et al., 2011; Xu et al., 2017). Os resultados de uma pesquisa realizada por Zhang e colaboradores (2006), relataram que os compostos PLLA / HA utilizados como uma matriz para a regeneração óssea obteve osteogênese além de melhorar a capacidade regenerativa óssea (H. Zhang et al., 2016).

Os PUs são um grande grupo de materiais poliméricos que contêm segmentos rígidos e flexíveis. Ao escolher o segmento a usar com diferentes proporções e pesos moleculares, o PU degradável sintético pode ser adaptado para um material adequado com propriedades físicas e mecânicas adequadas para ET. Como os outros polímeros sintéticos, a estrutura da HA juntamente com o PU produz boas propriedades mecânicas. É amplamente utilizado em ET devido a sua boa biodegradabilidade, biocompatibilidade, e propriedades osteoindutivas (Gorna & Gogolewski, 2003). Du e colaboradores (2014), relataram que como material de reparo ósseo, o *scaffold* de PU carregado com partículas de HA melhora sua bioatividade de ligação óssea e propriedades mecânicas (Du et al., 2014).

A HA é um grupo favorável de biomateriais por ser biocompatível e apresentar estrutura semelhante a do osso natural, além de ser usada como revestimento na superfície de vários materiais (Alizadeh-Osgouei et al., 2019; Mandracci et al., 2016). Em matriz polimérica, a incorporação de partículas de HA pode melhorar a taxa de degradação dos compósitos, bioatividade, osteocondutividade, osteoindutividade (Ang et al., 2007; Liuyun et al., 2013). Portanto, para a criação de forte ligação química entre os tecidos ósseos do biomaterial e do hospedeiro, a HA pode ser considerado como um material ósseo promissor em compósitos de base de polímeros biodegradáveis e biomateriais metálicos (Alizadeh-Osgouei et al., 2019).

Na ET ósseos, o desenvolvimento de polímeros sintéticos biodegradáveis incluindo compósitos com HA representa um campo promissor (Y. Zhu et al., 2017). As fibras de HA

melhoram a bioatividade e a osteoindutividade das membranas poliméricas estendendo suas aplicações no campo biomédico (Danoux, 2014; Talal et al., 2013). Zhang e colaboradores (2016) mostraram que o composto de HA promove osteogênese e melhora a capacidade regenerativa óssea (H. Zhang et al., 2016).

2.8 Produção de *scaffolds* fibrosos

As fibras poliméricas apresentam propriedades e aplicações em dispositivos moleculares, ópticas, sensores, transportadores e ET devido a sua diversidade de funcionalidades, flexibilidade e características de superfície ajustáveis (Amit Babel et al., 2005; and & Jang*, 2007; Holmes et al., 2000; J. Huang et al., 2004; F. Yang et al., 2005). Especificamente, as fibras baseadas em biopolímeros têm sido extensivamente investigadas devido a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade (Erfan et al., 2019).

Na ET, as fibras poliméricas vêm sendo utilizadas como *scaffolds* desde a década de 90, como cartilagens, ossos, vasos sanguíneos arteriais, coração e nervos (Y. Zhang et al., 2005).

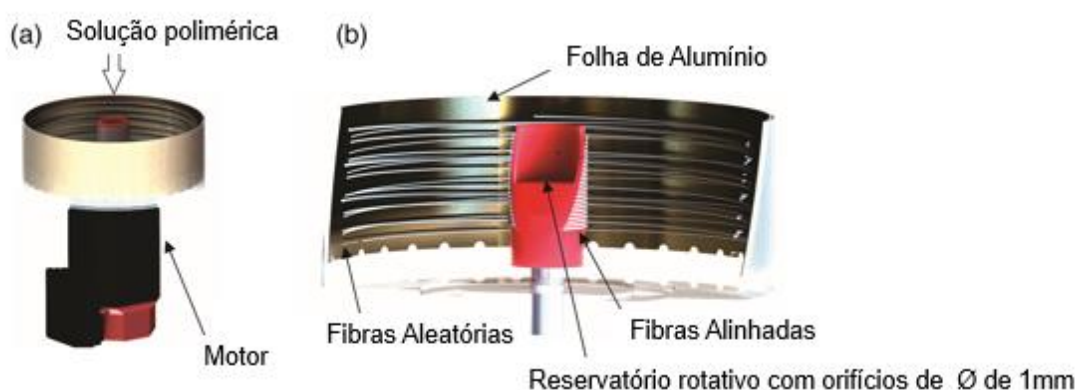
Em um ambiente biomimético a construção de um *scaffold* fibroso promove ligação, maturação, diferenciação e proliferação celular (Urciuolo et al., 2012). As fibras possuem uma ampla gama de vantagens e podem ser produzidas com várias tecnologias (Feng et al., 2019). O processo de eletrofiação é o mais conhecido para produção de fibras poliméricas, porém apesar de sua versatilidade, têm taxas de produção relativamente baixas e apresenta pouco controle sobre a orientação das fibras (Arumuganathar & Jayasinghe, 2008; Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010; Greiner & Wendorff, 2007; Weitz et al., 2008). Além disso, usando métodos convencionais de eletrofiação, alguns materiais não são facilmente fabricados em estruturas fibrosas devido a alta temperatura de fusão e a baixa viscosidade da solução (Nijst et al., 2007; Yi & La Van, 2008). Sendo assim, diferentemente da eletrofiação e de outros métodos de produção de nanofibras, a técnica de rotofiação ou *Rotary Jet Spinning* (RJS) apresenta vantagens mostrando alta eficácia na produção de *scaffolds* poliméricos na aplicação biomédica.

A rotofiação atraiu a atenção como uma técnica viável e promissora. É um método que fabrica nano e microfibras que possuem volume e estrutura porosa (Z. M. Huang et al., 2003). Além disso, os poros interconectados das fibras facilitam a proliferação celular aprimorada e a

transferência de nutrientes para as células (Loh & Choong, 2013). Recentemente devido suas características, sua utilização em aplicações biomédicas foi amplamente difundida.

O método produz fibras a partir de materiais fundidos ou em solução. É uma técnica simples e versátil de temperatura ambiente com alto índice de rendimento na sua produção (Mahalingam & Edirisinghe, 2013). A técnica consiste em um dispositivo rotativo cilíndrico contendo solução polimérica submetida a força centrífuga onde gera extrusão das fibras com morfologias e funcionalidades personalizadas. As fibras produzidas dependem da velocidade de rotação do cilindro, da distância do coletor e da concentração da solução polimérica (Gao et al., 2016; Mahalingam et al., 2019). Além disso, para melhorar a qualidade morfológica das fibras, seus parâmetros de processo como velocidade de rotação e diâmetro do cilíndrico podem ser ajustados para diferentes tipos de materiais (Golecki et al., 2014).

Figura 1: Processamento de fibras por RJS



Fonte: Adaptada de Pereira Rodrigues et al., 2020

Como ilustrado na figura 1, as fibras alinhadas se formam através do reservatório rotativo ejetando as fibras criando *scaffolds* fibrosos densamente compactos e altamente alinhados em uma escala micrométrica (Mohammad R Badrossamay et al., 2014).

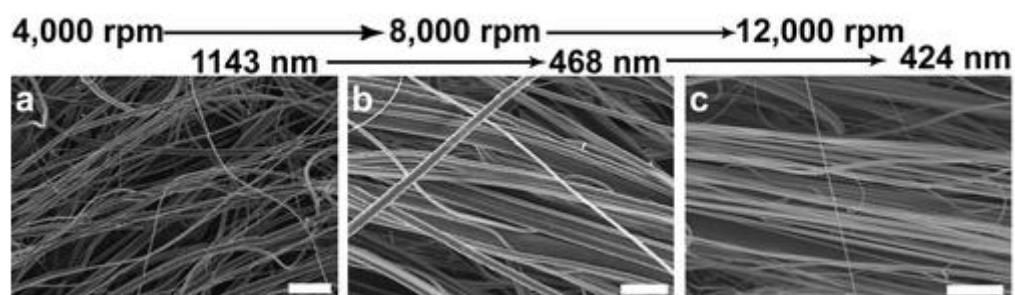
Mellado e colaboradores (2011) relatam três estágios principais da técnica RJS, sendo eles: iniciação do jato, extensão do jato e evaporação do solvente. Esses estágios são caracterizados mediante a escala de tempo de ejeção que o jato é capaz de sair do orifício. O início do jato é o primeiro estágio da formação da fibra. O segundo estágio é a extensão impulsionada que o polímero sai do orifício pela força centrífuga e o terceiro e último é a evaporação do solvente nas fibras, uma vez que parte do solvente pode terminar de evaporar

depois que as fibras fixam na parede do coletor. Os autores relatam também que a medida que diminui a viscosidade da solução polimérica, é necessário aumentar a velocidade angular para produzir fibras aleatórias e contínuas. Em uma alta viscosidade da solução e baixa velocidade de rotação do cilindro, defeitos como *beads* se formam devido a força centrífuga não ser grande o suficiente para superar a tensão superficial e alongar as fibras (Mellado et al., 2011).

Para garantir a melhor funcionalidade do *scaffold*, a formação de fibras homogêneas e contínuas, ou seja, sem *beads* é crucial. *Beads* são estruturas esféricas geradas na extensão da fibra devido a quebra do jato de fibra ou a instabilidade de Rayleigh ao longo do processo (Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010). Para evitar a ruptura do jato, a formação de *beads* e não produzir apenas fibras ultrafinas, os principais desafios desse processo são otimizar as propriedades da solução polimérica (Oliveira et al., 2006). Dessa forma os principais parâmetros para produzir fibras pela técnica de RJS requer velocidade angular, concentração do polímero, viscosidade da solução, temperatura, taxa de evaporação do solvente e distância do coletor e do raio do orifício. Não se deve ter uma distância curta do orifício até parede do coletor, pois não haverá tempo suficiente para ocorrer a evaporação do solvente (Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010).

Em um estudo realizado por Badrossamay e colaboradores (2010) foi produzido fibras em diferentes velocidades de rotação. Observou-se que ao aumentar a velocidade de rotação o diâmetro da fibra diminui como demonstrado na figura 2 (Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010).

Figura 2: Morfologia da fibra e distribuição do diâmetro da amostra de PLLA a 8% em peso em diferentes velocidades de rotação (a) 4000 rpm (b) 8000 rpm e (c) 12000 rpm



Fonte: Adaptada de Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010

Os autores então concluíram que o mecanismo da formação da fibra pela técnica de RJS é a otimização das forças centrífugas e da tensão superficial do jato. Portanto, um dos parâmetros que resulta em diâmetros de fibra menor é a indução da força centrífuga ser alta o que reflete na extensão maior do jato do polímero (Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010).

A densidade de entrelaçamento das cadeias poliméricas é um fator adicional para formação de fibras. Como consequência de sobreposição de cadeias poliméricas, a medida que a concentração do polímero aumenta, uma rede entrelaçada deformável de cadeias se forma. Já a sobreposição de cadeia se apresenta ausente quando a concentração de polímero nas soluções está abaixo do valor crítico da concentração. Para produzir fibras contínuas, uniformes e sem *beads*, a concentração da solução acima da concentração crítica se torna um entrelaçamento suficiente (Mohammad Reza Badrossamay et al., 2010; Shenoy et al., 2005).

3 OBJETIVOS

O objetivo principal desse estudo foi produzir e caracterizar *scaffolds* poliméricos rotofiados na forma de membranas fibrosas osteocondutoras para futuras aplicações odontológicas.

Para atingir esses objetivos, as membranas de polímeros sintéticos de PCL, PLLA e PU foram incorporados com HA produzidas pela técnica de rotofiação. As propriedades estruturais, morfológicas, químicas, térmicas e biológicas das membranas foram caracterizadas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

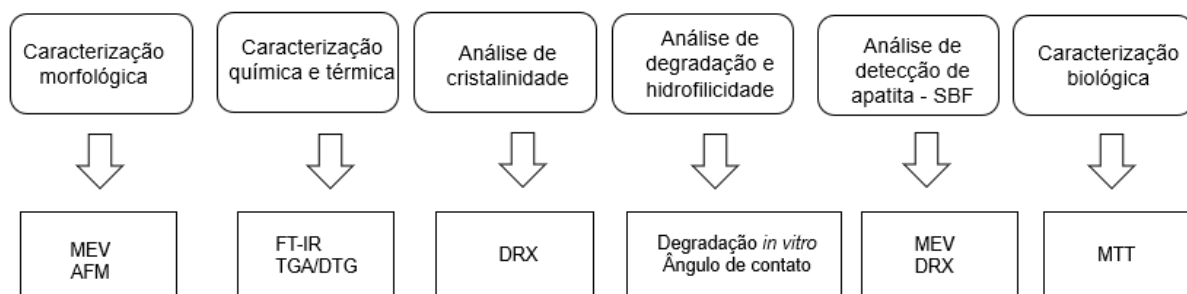
4.1 Materiais

Os *scaffolds* foram fabricados utilizando os polímeros PCL, PLLA e PU e nanopartículas de HA na forma de pó com diâmetro inferior a 200 nm. O PCL (Sigma- Aldrich 440744) e o HA (#677418) foram adquiridos da Merck. O PLLA (L210S) foi adquirido da Evonik. O PU (Tecoflex SG85A) foi fornecido pela Perstorp.

4.2 Métodos

A figura 3 apresenta um esquema simplificado dos métodos de caracterização dos materiais produzidos.

Figura 3: Fluxograma dos métodos utilizados para caracterizar os materiais e o *scaffold* polimérico.



4.2.1 Produção das fibras poliméricas pelo método de RJS

Os polímeros PCL, PLLA e PU foram solubilizados em clorofórmio em concentrações de 9% (g/mL), 8%(g/mL) 9% (g/mL) respectivamente. Após solubilização, foram adicionados HA nas soluções na concentração de 15% (g/g). As soluções poliméricas foram submetidas a agitação por ultrassom (Ultrasonic clear, Kasvi) e homogeneizador mecânico (T 10 Basic Ultra-Turrax, IKA) durante uma hora em temperatura ambiente.

A partir das soluções preparadas, as membranas de PCL, PLLA e PU foram processadas por RJS. Para isso cada solução foi colocada em um reservatório cilíndrico contendo quatro orifícios de 1 mm de diâmetro. Ao atingir as velocidades de rotação de 12.000 rpm para a PCL e 18.000 rpm para o PLLA e o PU, o solvente evaporou e as fibras foram formadas pela extrusão das fibras dos orifícios do reservatório ficando sobrepostas ao papel alumínio presente na superfície interior do coletor a uma distância de 17 cm do orifício. Todos os experimentos foram realizados em temperatura ambiente.

4.3 CARACTERIZAÇÃO

4.3.1 Caracterização morfológica por MEV

A morfologia dos *scaffolds* foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com microscópio modelo ZEISS EVO MA 15, sob tensão de 10 KV. As amostras foram recobertas com ouro antes da análise, utilizando um metalizador (Quorum SC7620). A partir das imagens obtidas por MEV, foram tomadas medidas do diâmetro das fibras em diferentes pontos de cada imagem, utilizando um *software* processador de imagem (Image J, National Institutes of Health) e a partir de 30 medidas foi construído um histograma representativo.

4.3.2 Caracterização morfológica por AFM

As análises de superfície das fibras foram examinadas por microscopia de força atômica (AFM) e realizadas no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). Utilizou-se um microscópio Parksystems modelo NX10, com o modo contato intermitente (tapping mode). As pontes utilizadas possuíam 75 kHz de ressonância e 2,8 N/m de constante de força. A área da superfície examinada das nanofibras foi de 5 μL X 5 μL com imagens expressas nos modos topografia (*height*) e fase (*phase*) para análise da morfologia da superfície de uma fibra.

4.3.3 Caracterizações químicas e térmicas

A análise de espectroscopia no infra-vermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foi realizada no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI). Utilizou-se o espectrômetro de infra-vermelho PerkinElmer Spectrum 100, e seu espectro foi resultado de 16 varreduras de 650 a 4000 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} .

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em um equipamento Shimadzu TGA50M, com 10 mg de amostra a partir da temperatura ambiente a 600°C a 10°C / min, sob atmosfera inerte de nitrogênio com um fluxo de 50 mL / min.

4.3.4 Caracterização de cristalinidade por DRX

A cristalinidade dos *scaffolds* poliméricos foi analisada pela técnica de difração de raios-X. As medições foram realizadas a 40 kV e 30 mA sob radiação Cu / $K\alpha$ utilizando um difratômetro Panalytical X'Pert com faixa de varredura de 10° a 60°, com tamanho de etapa de 0,016° por etapa em um período de 40 etapas / s.

4.3.5 Análise de deposição de apatita – SBF

A metodologia seguiu norma específica para detecção de apatita formada sobre uma superfície de um material em fluido corpóreo simulado (SBF) (ABNT NBR ISO 23317:2017). Durante a preparação, a solução permaneceu incolor, transparente e sem depósitos na superfície do frasco. Para a preparação de SBF, foi usado reagentes de grau analítico de acordo com a ISO 3696:1987, grau 2.

4.3.6 Determinação do ângulo de contato

A análise para avaliar a hidrofilicidade dos *scaffolds* foi realizada no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI). Foi utilizado o método da gota séssil através de um medidor de ângulo de contato (Dataphysics, modelo OCA 15). Uma gotícula de 10 µL de água destilada foi adicionada a superfície da amostra e o ângulo de contato da gota com a superfície foi medido utilizando o *software* do equipamento SCA20 e o valor médio dos ângulos de contato foi calculado.

4.3.7 Ensaio de degradação *in vitro*

Conforme a norma ASTM F1635-11, o ensaio de degradação *in vitro* foi realizado. Os *scaffolds* de PCL, PLLA, PU puros e com adição de HA foram cortados em quadrados de 1 cm, pesados e adicionados em tubos falcon contendo solução tampão fosfato-salino (PBS) de 0,1M e pH 7,4. Foram feitas quatro replicatas para cada período de degradação (30, 60, 90 e 120 dias) as quais foram colocadas na estufa a 37°C.

4.3.8 Viabilidade e proliferação celular

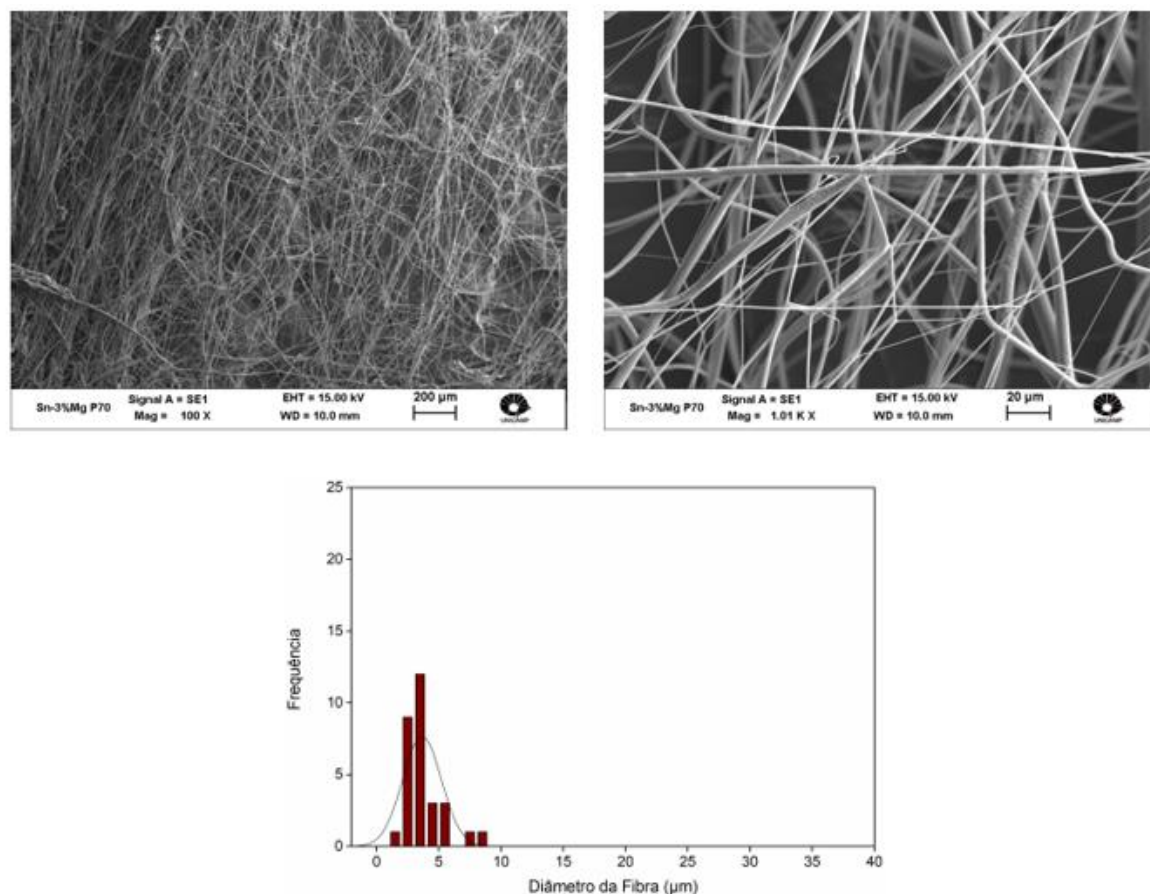
Para verificar o efeito da exposição das células aos *scaffolds*, a viabilidade celular foi analisada através de um ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). As células foram cultivadas em placas de 96 poços com densidade de $7,5 \times 10^3$ células por poço em 100 µL de meio, por 24 horas a 5 % de CO₂ e 37°C. Posteriormente, os *scaffolds* cortados em discos com 6 mm de diâmetro foram esterilizados durante a noite com luz ultravioleta (UV) e adicionados aos poços contendo células. As células tratadas foram incubadas por 24, 48 e 72 horas. Após o período de exposição, os *scaffolds* foram removidos, o meio de cultura foi aspirado e MTT (0,5mg/mL em PBS) foi adicionado as células e incubado a 37°C por 3 horas. O meio de cultura foi então descartado e 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado em cada poço para dissolver o MTT. A absorbância foi determinada a 570 nm usando um espectrofotômetro (BioTeck, Epoch). Cada experimento foi realizado em triplicata e repetido três vezes.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise Morfológica dos *scaffolds*

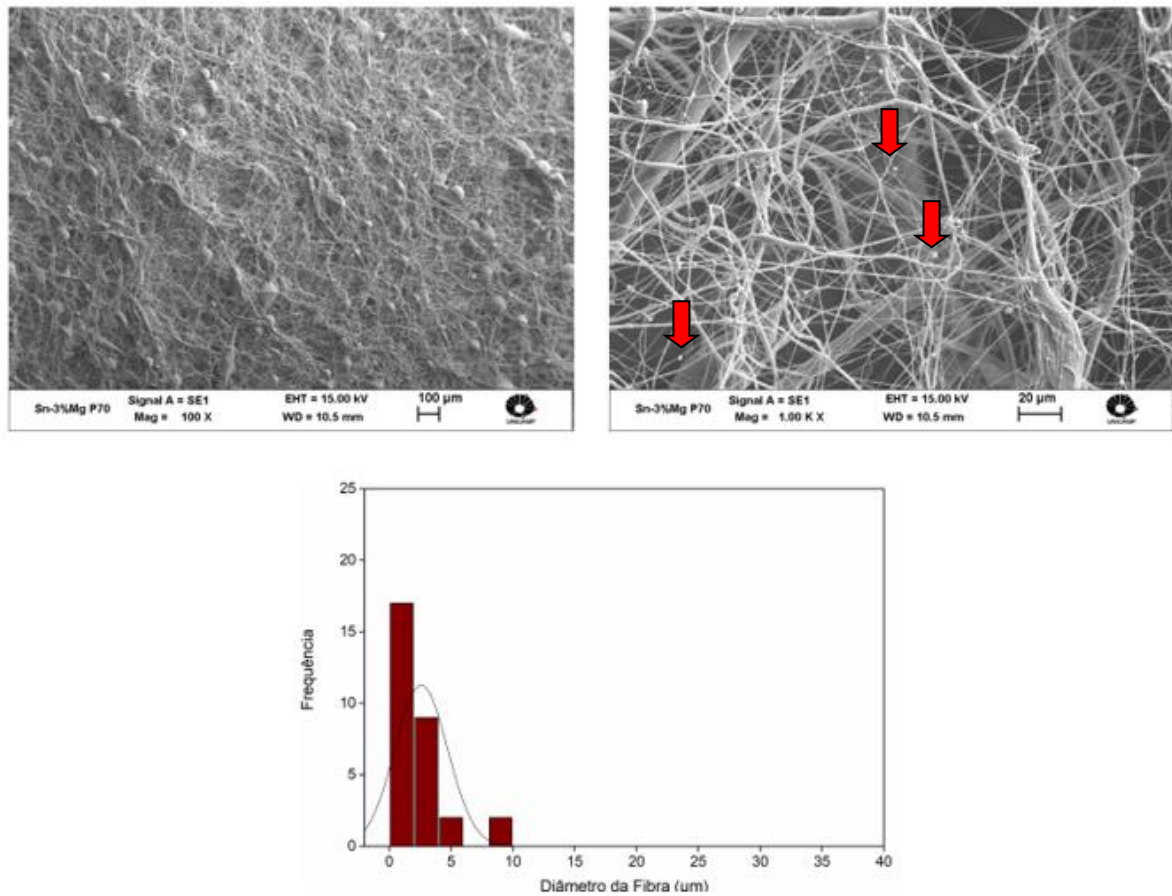
A morfologia dos *scaffolds* fibrosos foi avaliada por MEV. A micrografia e o histograma correspondente do PCL (Figura 4), PCL / HA (Figura 5), PLLA (Figura 6), PLLA / HA (Figura 7), PU (Figura 8) e PU/HA (Figura 9) estão apresentadas.

Figura 4: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PCL rotornado a 12.000 rpm.



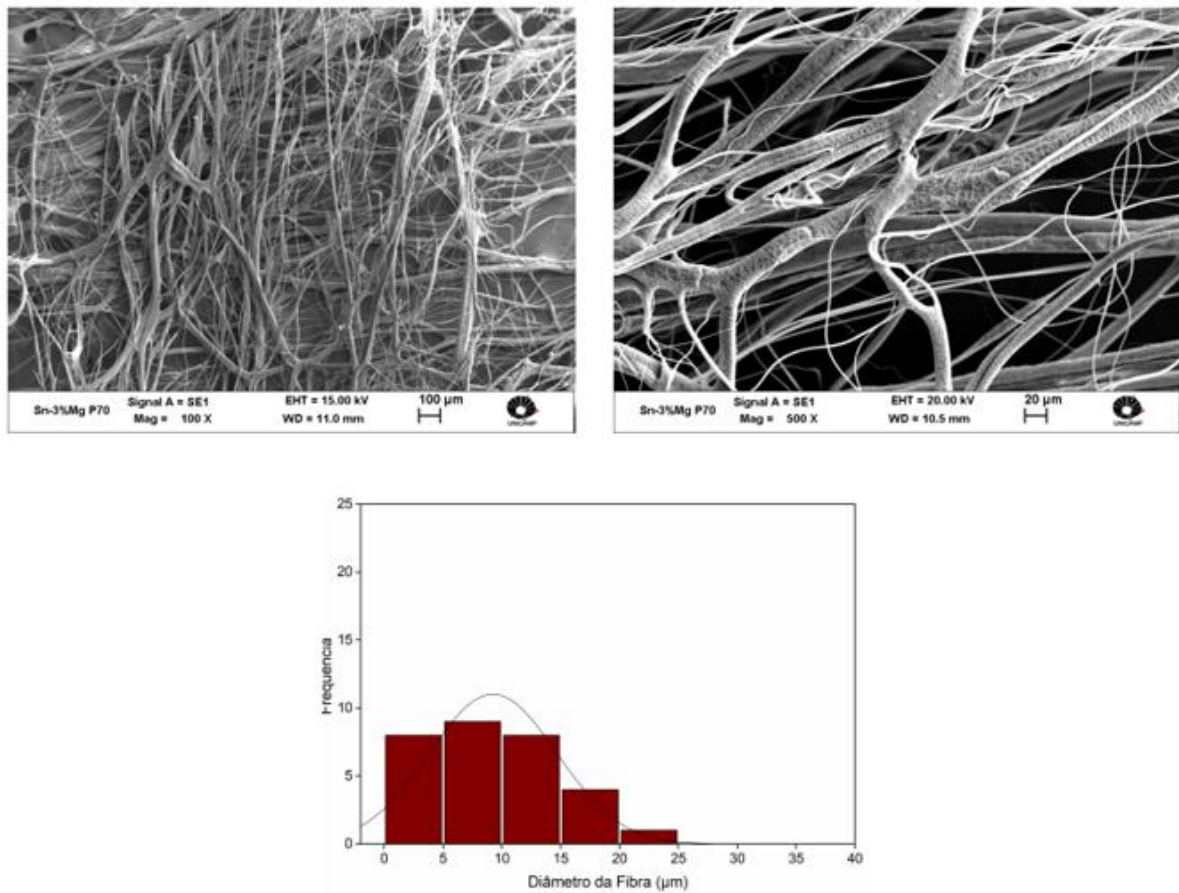
A figura 4 apresenta fibras de PCL contínuas sem formação de *beads* com uma média de diâmetro de $3,6 \pm 1,5 \mu\text{m}$, mostrando que a concentração e os parâmetros de processo escolhidos foram adequados para a produção dos *scaffolds*.

Figura 5: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PCL / HA rotofiado a 12.000 rpm



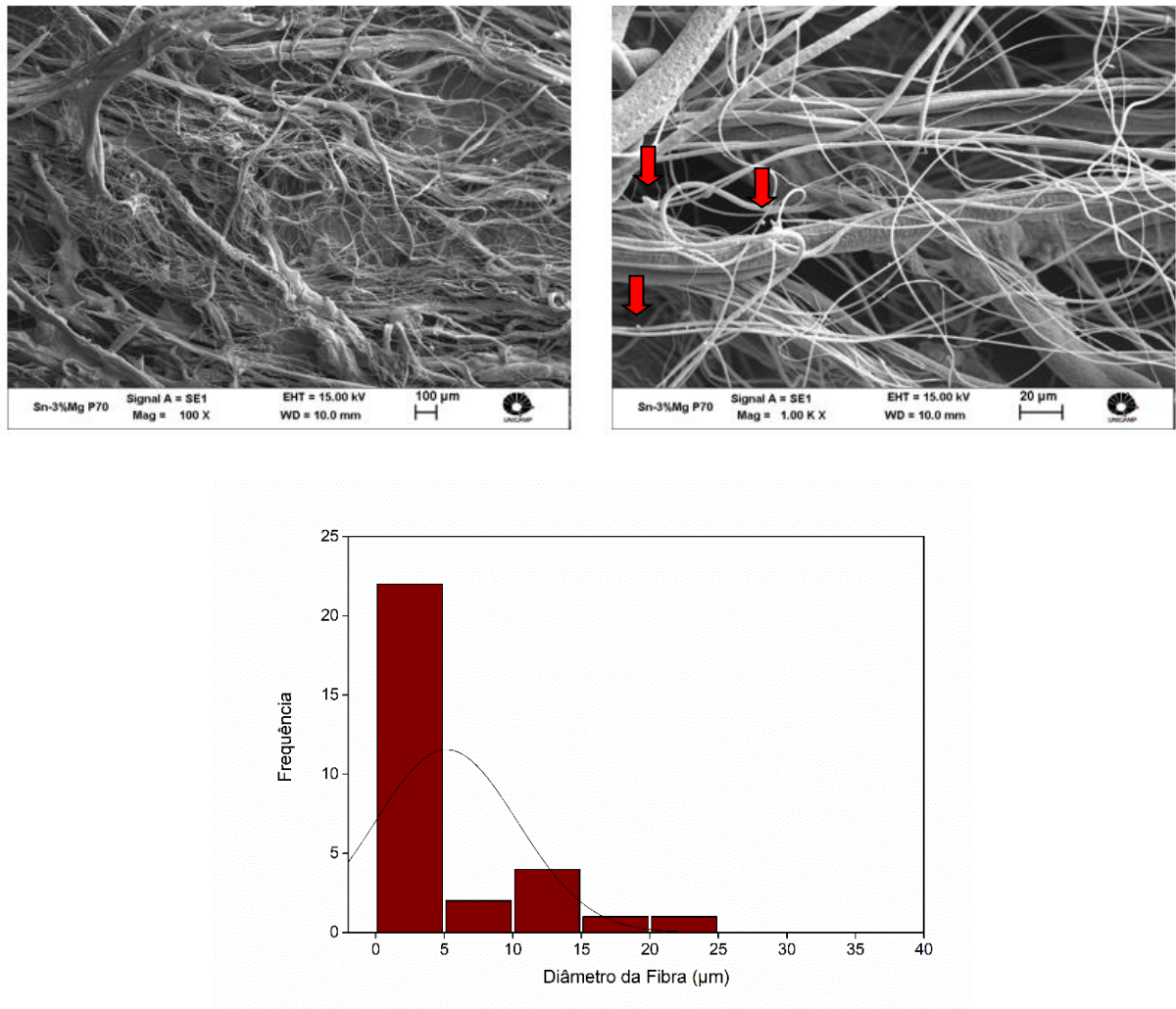
A figura 5 mostra morfologias representativas de fibras de compósito PCL / HA com uma média de diâmetro de $2,5 \pm 2,1 \mu\text{m}$. Claramente com a adição de HA, sua morfologia e diâmetro são afetados. Quando há adição de HA é observada uma estrutura randômica, como também as partículas de HA na superfície da fibra, indicadas pelas setas vermelhas (G. Liao et al., 2012b).

Figura 6: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PLLA rotofiado a 18.000 rpm



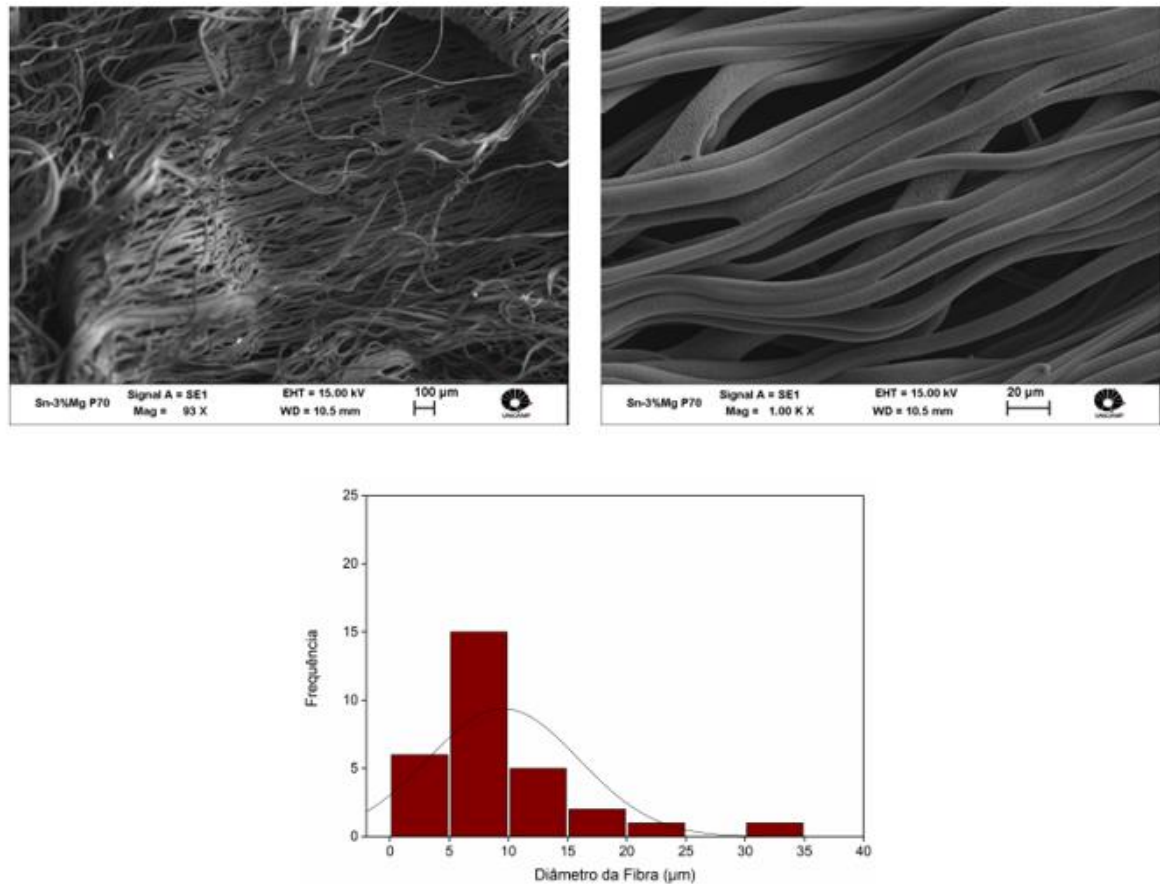
A figura 6 apresenta *scaffold* de PLLA na velocidade de 18.000 rpm de fibras contínuas, sem formação de *beads* com uma média de diâmetro de $9,2 \pm 5,4 \mu\text{m}$, mostrando que a concentração e os parâmetros de processo escolhidos foram adequados para a produção dos *scaffolds*.

Figura 7: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PLLA / HA rotofiado a 18.000 rpm



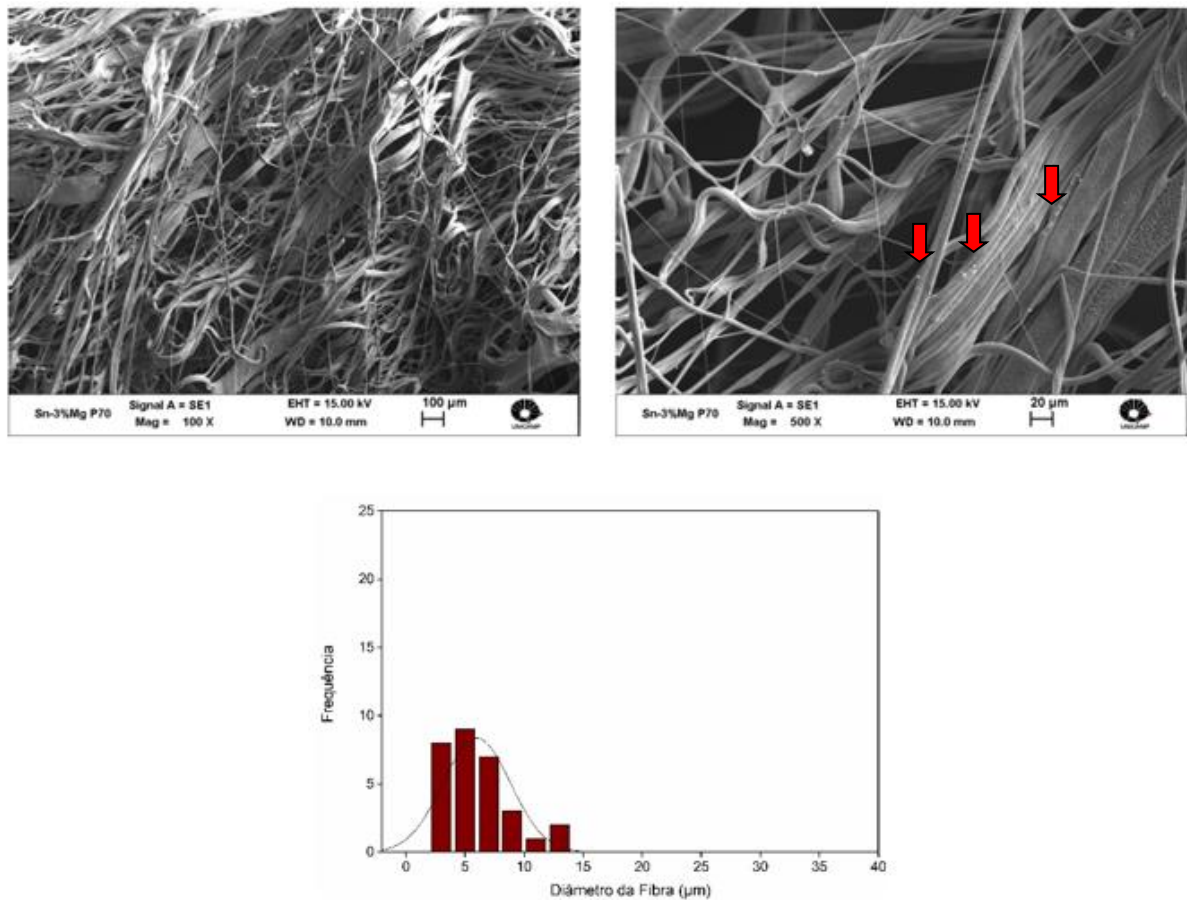
Na figura 7 é possível verificar morfologia representativa de fibras do compósito PLLA / HA com uma média de diâmetro de $5,1 \pm 5,1 \mu\text{m}$. É possível verificar novamente a diminuição no diâmetro das fibras com a adição de HA. As nanopartículas de HA tendem a aderir nas fibras de PLLA como resultado de forças eletrostáticas que atuam nas nanopartículas e no polímero, e estão indicadas pelas setas vermelhas (Baldino et al., 2015).

Figura 8: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PU rotofiado a 18.000 rpm



A figura 8 apresenta *scaffold* de PU na velocidade de 18.000 rpm de fibras contínuas, sem formação de *beads* com uma média de diâmetro de $9,5 \pm 6,3 \mu\text{m}$, mostrando que a concentração e os parâmetros de processo escolhidos também foram adequados para a produção dos *scaffolds*.

Figura 9: Imagens de MEV e histograma do *scaffold* de PU / HA rotofiado a 18.000 rpm



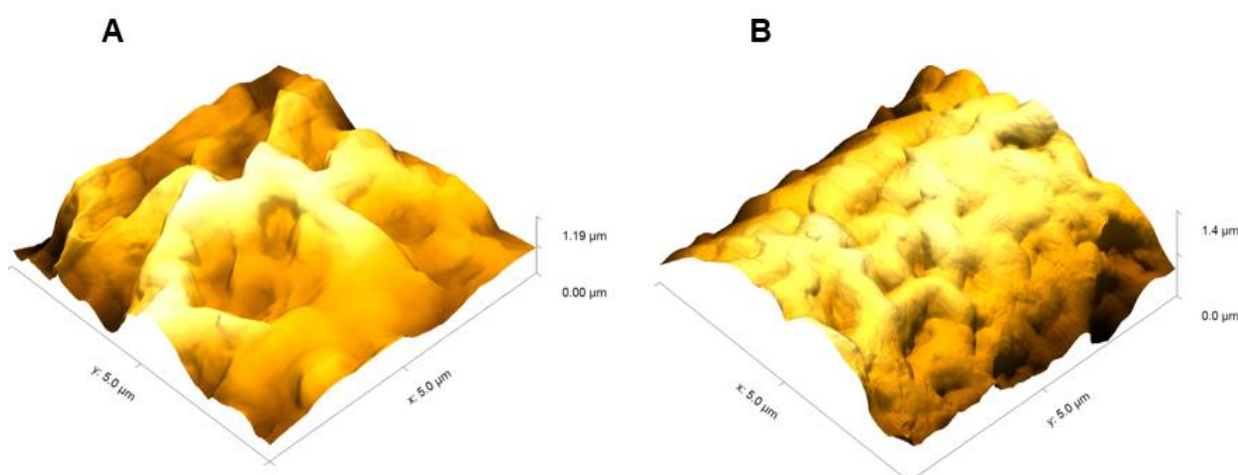
Na figura 9 é possível verificar morfologia representativa de fibras do compósito PU / HA com uma média de diâmetro de $5,9 \pm 2,8 \mu\text{m}$, e a HA indicada pelas setas vermelhas. Watcharajittanont e colaboradores (2020) afirmam que *scaffolds* de PU sem nanopartículas têm um diâmetro de fibra maior do que os *scaffolds* compostos por nanopartículas (Watcharajittanont et al., 2020).

Contudo, pôde-se observar que o pó da HA original tem uma forma esférica, a qual foi reproduzida nas figuras 5, 7 e 9 mostrando morfologias de microesferas de HA na superfície das fibras. Além disso, através dos resultados de MEV também observamos que os *scaffolds* sem nanopartículas têm um diâmetro de fibra maior do que os *scaffolds* de nanopartículas compostas. Liao *et al.*; (2012) relatam que a HA se alinha ao longo do eixo da fibra e tende a se agregar na superfície das fibras fiadas (G. Liao et al., 2012a).

5.2 Morfologia dos *scaffolds* poliméricos

A topografia da superfície dos *scaffolds* poliméricos foi avaliada por um microscópio de força atômica (AFM). A análise de AFM fornece a rugosidade dimensional nanométrica da superfície a qual se torna útil para caracterizar e determinar o tamanho e a conformação dos agregados na superfície (Gadelmawla et al., 2002). A nanotopografia de PCL e PCL / HA foi avaliada em tamanho de 5 μm x 5 μm e está apresentada na figura 10.

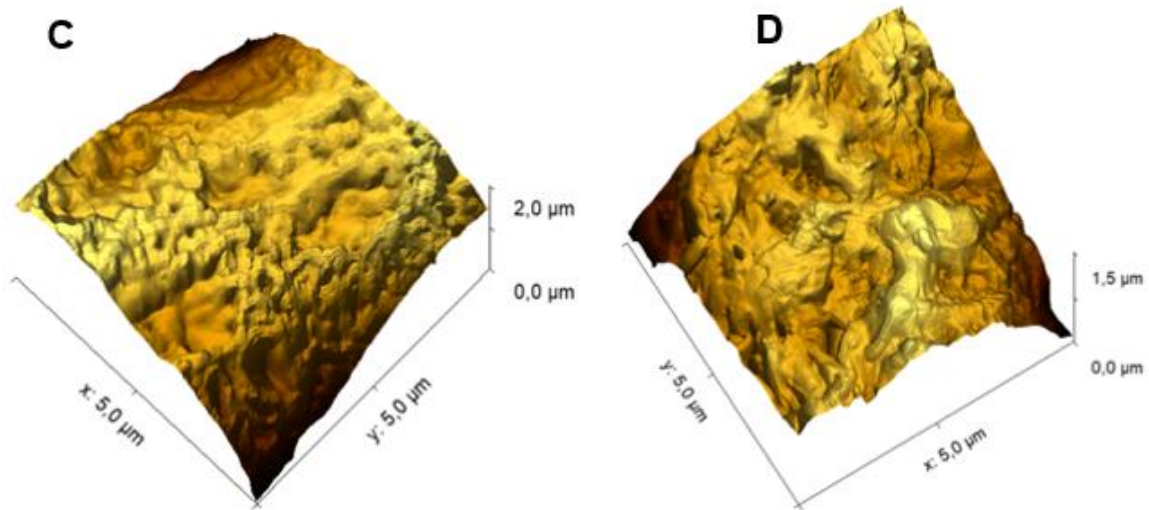
Figura 10: Topografia de superfície de nanofibras de A) PCL puro; B) PCL / HA.



De acordo com o resultado da topografia da superfície de nanofibras de PCL e PCL / HA é possível verificar pela figura 10 que a adição de HA causou uma alteração na superfície do PCL diminuindo sua rugosidade média (R_a) obtendo valores de (R_a) de 101,9 nm e 75,8 nm, respectivamente.

A figura 11 mostra as topografias de AFM em tamanho de 5 μm x 5 μm das amostras de PLLA e PLLA / HA.

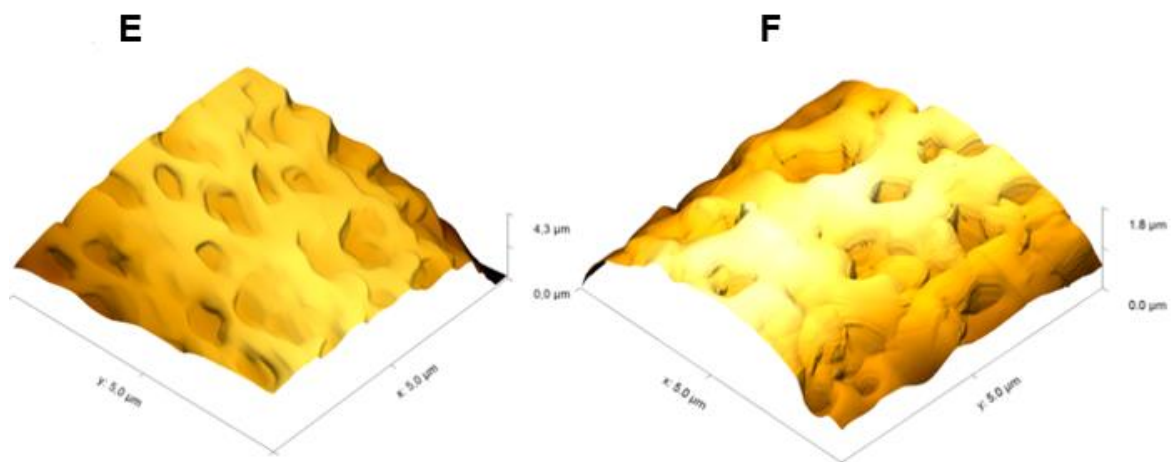
Figura 11: Topografia de superfície de nanofibras de C) PLLA puro; D) PLLA / HA



A amostra de PLLA puro apresentou maior valor de rugosidade em relação a amostra contendo HA. Os valores (de R_a) extraídos pela análise foram de 137 nm e, 97,2 nm, respectivamente.

A figura 12 exibe a morfologia da superfície de nanofibras de PU puro (E) e de nanofibras compostas com HA (F) em tamanho de 5 μm x 5 μm .

Figura 12: Topografia de superfície de nanofibras de E) PU puro; F) PU / HA



Assim como no PCL e PLLA, o resultado mostrou que após a adição da HA a rugosidade da superfície diminui em relação ao PU puro, mostrando valores de (Ra) de 174,5 nm, e 87,4 nm, respectivamente.

Em suma as superfícies poliméricas incorporadas com HA analisadas por AFM mostraram valores de rugosidade inferiores em relação aos polímeros puros. Como mostrado nas figuras 10, 11 e 12 os padrões de superfície contendo nanopartículas de HA tiveram rugosidades homogeneizadas.

Lee e colaboradores (2014) relatam que em escala nanométrica várias células incluindo fibroblastos, células endoteliais e osteoblastos, podem interagir efetivamente com a superfície rugosa (H. Lee et al., 2014). Entretanto, para melhorar a adesão e proliferação de células de osteoblastos, os nanocompósitos desenvolvidos com baixa rugosidade superficial podem influenciar melhor as atividades celulares como adesão, proliferação e diferenciação (Lovmand et al., 2009).

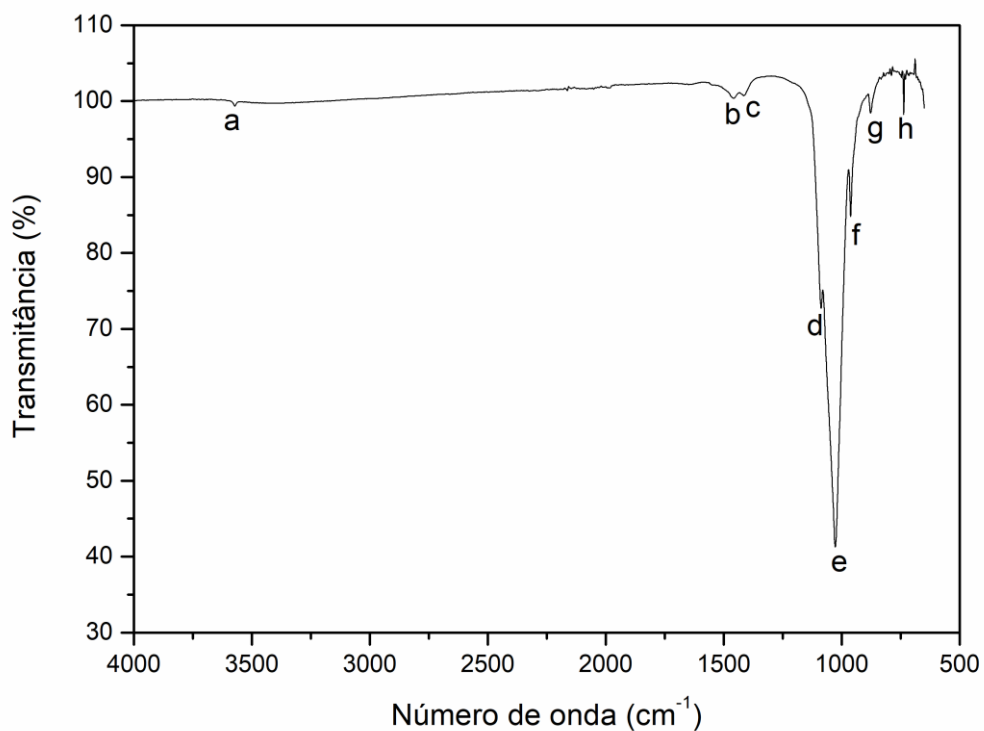
Com base nesse resultado, os autores relatam que a superfície rugosa homogênea em menor nanoescala pode induzir respostas celulares mais positivas em *scaffolds* compostos (H. Lee et al., 2014).

De acordo com Deplaine et al., 2010 a dispersão de partículas de HA é homogênea, sendo uniformemente dispersas na matriz de PLLA. Foi observado por Ribeiro et al., (2015) que membranas de PLLA com menor rugosidade superficial exibem maior adesão e proliferação de células osteoblásticas, se comparadas com PLLA puro.

Durante a preparação do *scaffold* de PU, os poros profundos são causados pela evaporação do solvente (He et al., 2012). Pode-se perceber que mediante os resultados de AFM do *scaffold* puro, a rugosidade da superfície da fibra de PU obtém o valor mais alto, mostrando que após a adição de HA, dos três polímeros testados este foi o que mais apresentou aumento da rugosidade, seguida de PLLA e PCL.

5.3 Caracterização Química

A estrutura química da HA foi caracterizada por FTIR, cujos resultados estão representados na figura 13. A tabela 1 identifica os grupos funcionais.

Figura 13: Espectro de FTIR na forma de pó de HA**Tabela 1.** Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho de HA

Referências	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Vibração	Atribuição
a	3572	OH	Estiramento	Grupo Hidroxila
b	1456	CO ₃ ²⁻	Estiramento Assimétrico	Grupo Carbonato
c	1412	CO ₃ ²⁻	Estiramento Assimétrico	Grupo Carbonato
d	1086	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
e	1023	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
f	957	PO ₄ ⁻³	Estiramento Simétrico	Grupo Fosfato
g	875	CO ₃ ²⁻ / PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Carbonato

h	726	PO_4^{3-}	Estiramento	Grupo Fosfato
---	-----	--------------------	-------------	---------------

O espectro de FTIR confirmou os picos característicos de HA. A banda 3572 cm^{-1} é atribuída ao modo de estiramento do grupo OH. As bandas fracas em 1456 cm^{-1} , 1412 cm^{-1} e 875 cm^{-1} foram atribuídas ao modo de estiramento assimétrico do grupo carbonato (CO_3^{2-}). O grupo fosfato (PO_4^{3-}) possui cinco picos característicos de HA, sendo eles o pico em 1086 cm^{-1} , pico agudo e forte localizado em 1023 cm^{-1} e picos fracos em 975 cm^{-1} , 875 cm^{-1} e 726 cm^{-1} . Todos atribuídos a vibração de estiramento.

A caracterização química das fibras compostas de PCL / HA estão apresentadas na figura 14. A tabela 2 identifica os grupos funcionais.

Figura 14: Espectro FTIR do *scaffold* fibroso de PCL / HA

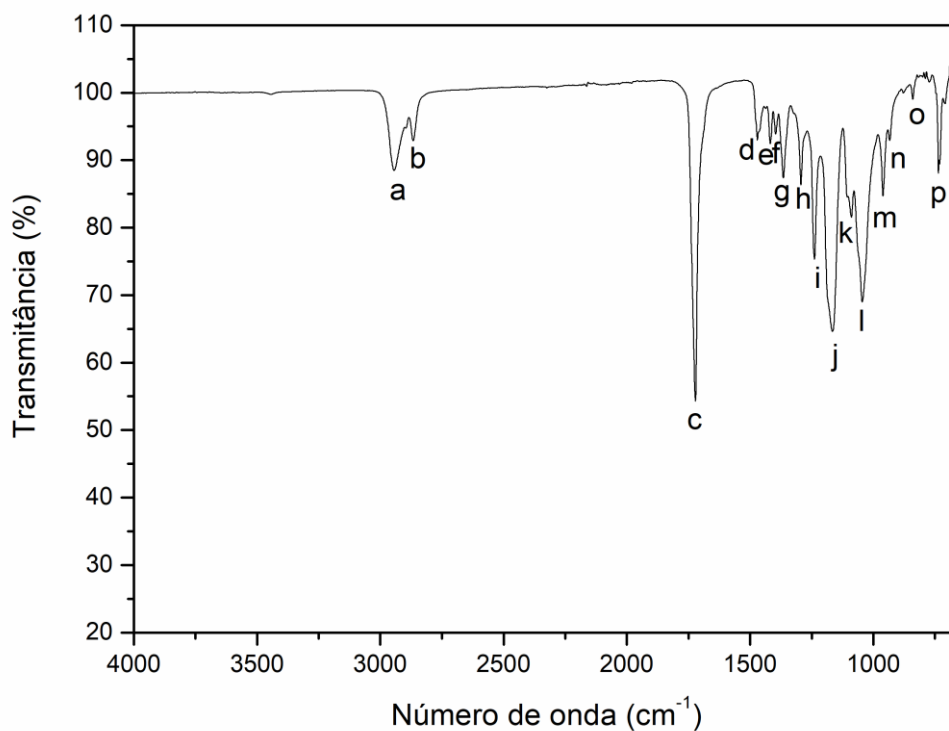


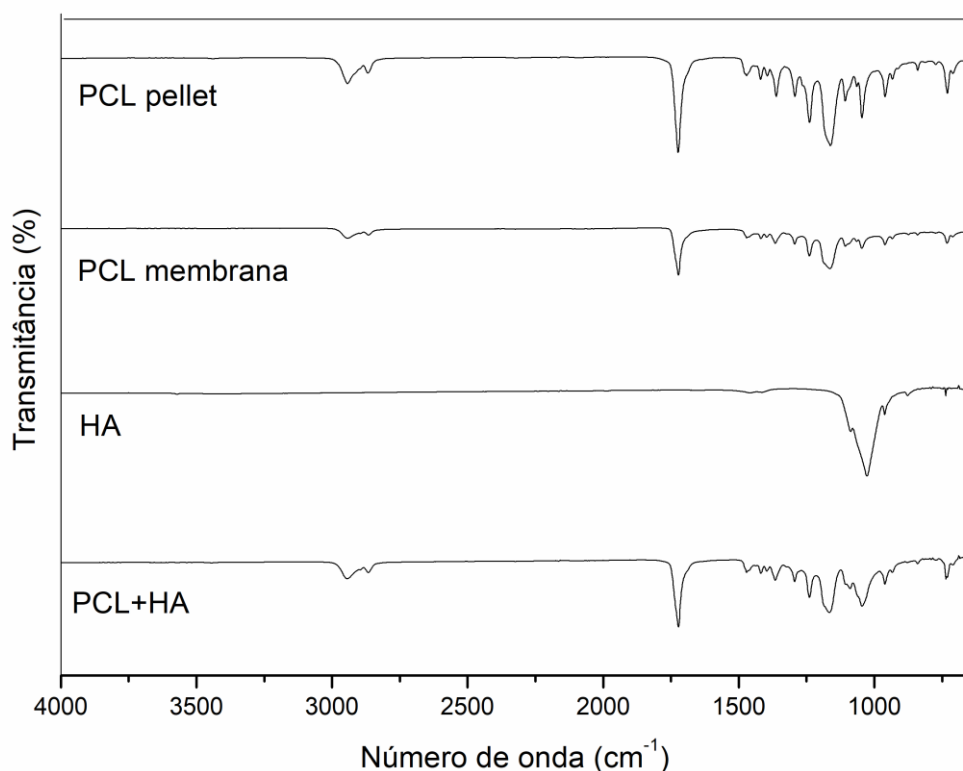
Tabela 2. Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do *scaffold* fibroso de PCL/HA

Referência	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Vibração	Atribuição
a	2943	CH ₂	Estiramento Assimétrico	Grupo Éster Metil
b	2866	CH ₂	Estiramento Simétrico	Grupo Éster Metil
c	1722	C=O	Estiramento Carbonila	Grupo Carbonila
d	1471	CO ₃ ²⁻	Estiramento Assimétrico	Grupo Carbonato
e	1418	OH	Estiramento	Grupo Carbonila
f	1396	CH ₂	Deformação de tesoura	Grupo Éster
g	1365	CH ₂	Estiramento	Grupo Éster
h	1293	C-O e C-C	Estiramento Assimétrico	Grupo Éster
i	1239	C-O-C	Estiramento Assimétrico	Grupo Éster
j	1165	C-O e C-C	Estiramento	Grupo Éster
k	1089	PO ₄ ³⁻	Estiramento	Grupo Fosfato
l	1045	PO ₄ ³⁻	Estiramento	Grupo Fosfato
m	961	PO ₄ ³⁻	Estiramento Simétrico	Grupo Fosfato
n	933	C-O-C	Deformação	Grupo Éster
o	841	CO ₃ ²⁻ / PO ₄ ³⁻	Estiramento	Grupo Carbonato Grupo Fosfato
p	736	CH ₂ / PO ₄ ³⁻	Estiramento	Grupo Éster Grupo Fosfato

As bandas correspondentes de PCL / HA confirmam a formação de *scaffolds* fibrosos. No espectro de PCL puro, observa-se uma banda forte a 1722 cm^{-1} atribuída ao modo de alongamento de carbonila. As bandas relacionadas aos modos vibracionais assimétrico e simétrico associados aos grupos CH_2 são mostradas em 2943 cm^{-1} e 2866 cm^{-1} , respectivamente. As bandas de 1293 cm^{-1} e 1165 cm^{-1} corresponde ao estiramento do C-O e grupos C-C. De acordo com Coleman e Zarian (1979) a banda a 1293 cm^{-1} recebe as ligações C-C e C-O dos modos de estiramento da cadeia principal da molécula PCL e tem sido usada na literatura para investigar alterações na cristalinidade do PCL. Além disso, a banda em 1239 cm^{-1} se origina do alongamento assimétrico do grupo C-O-C (Coleman & Zarian, 1979). Conforme relatado por Kim e colaboradores (2004) a primeira indicação da formação de HA é a forma de uma ampla faixa de estiramento centrada em cerca de $1000\text{ a }1100\text{ cm}^{-1}$ (H. W. Kim et al., 2004). A banda de absorção a 1471 cm^{-1} sugere a presença de CO_3^{2-} (Lü et al., 2007; Rajkumar et al., 2010). Em 1418 cm^{-1} aparece uma banda a base de HA a qual está relacionada as ligações OH. Isso mostra as interações das ligações de hidrogênio devido a evidência de interação intermolecular entre os grupos O-H de HA e o grupo carbonila de PCL (D. Li et al., 2014). O pico em 961 cm^{-1} requer vibração PO_4^{3-} no HA e é sobreposto ao pico da banda de vibração de alongamento C-O do PCL.

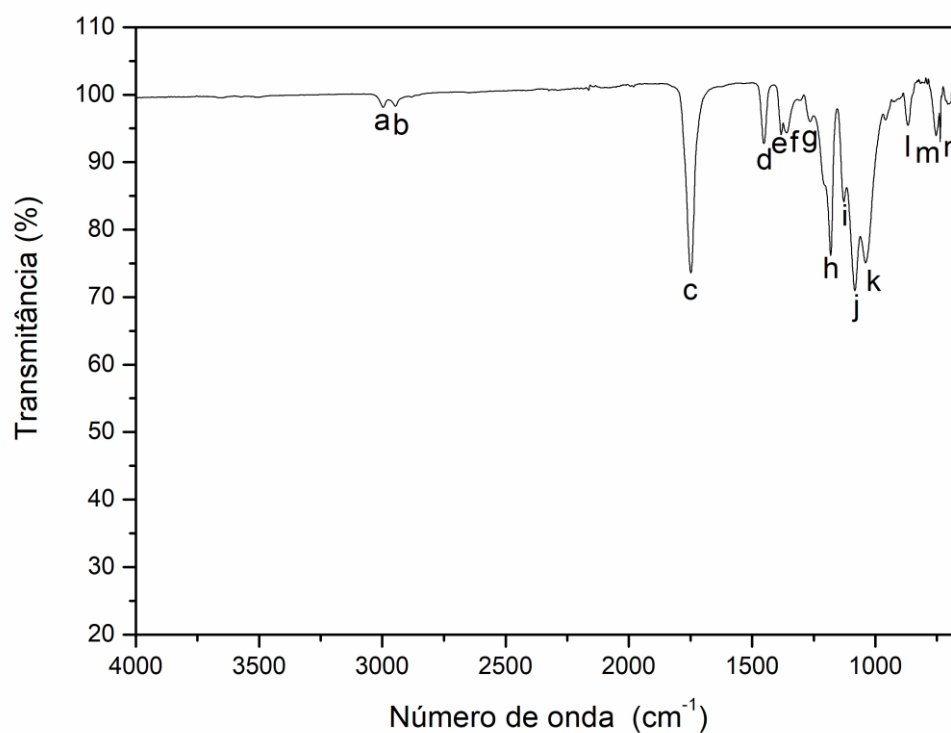
A figura 15 apresenta o espectro de comparação de PCL pellet, PCL membrana, HA e PCL / HA.

Figura 15: Comparação dos espectros de FTIR do pellet de PCL e dos *scaffolds* de PCL, HA e PCL / HA.



De acordo com o espectro, o pellet e o *scaffold* processado pela técnica de RJS, os resultados confirmaram que ambos não tiveram nenhuma alteração relacionada ao processamento, apresentando as mesmas bandas químicas. Também é possível observar que as bandas no *scaffold* PCL / HA se referem aos grupos funcionais provenientes do PCL e do HA.

Como ilustrado na figura 16 a caracterização química das fibras compostas de PLLA / HA também foram analisados pela técnica de FTIR, cujos resultados dos grupos funcionais estão apresentados na tabela 3.

Figura 16: Espectro FTIR do *scaffold* fibroso de PLLA / HA**Tabela 3.** Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do *scaffold* fibroso de PLLA / HA

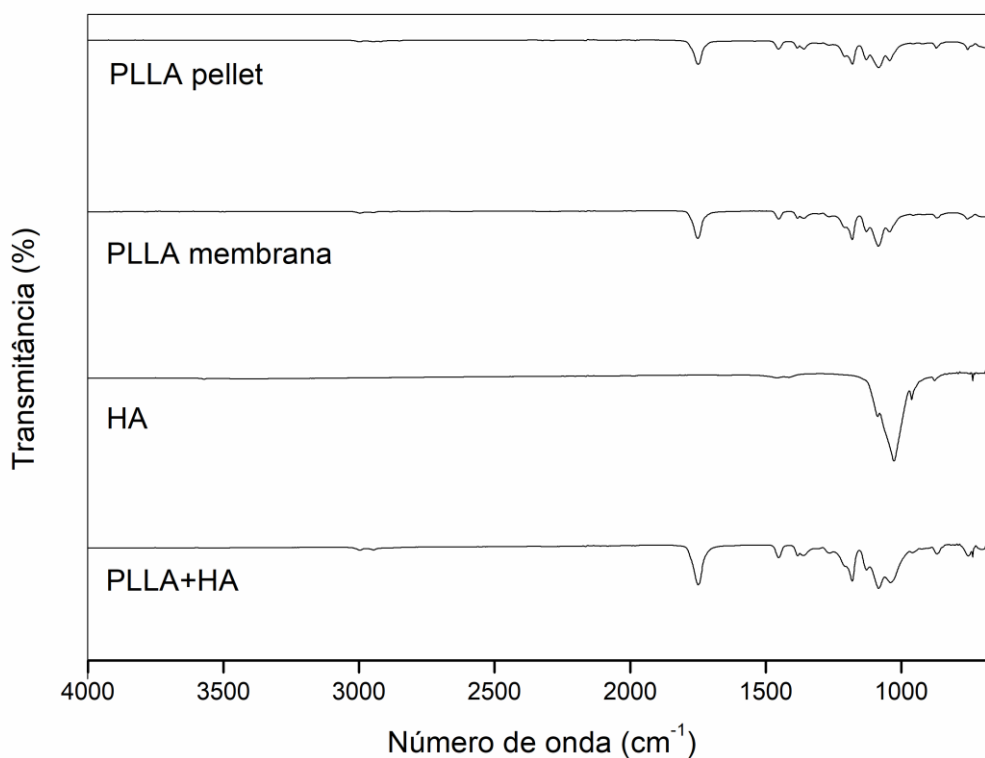
Referência	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Vibração	Atribuição
a	2997	CH ₃	Estiramento	
b	2940	CH ₃	Estiramento	Grupo Alquila
c	1747	C=O	Estiramento Assimétrico	Grupo Carbonila Grupo Éster
d	1453	CO ₃ ²⁻	Estiramento Assimétrico	Grupo Carbonato
e	1384	CH ₃	Estiramento Simétrico	Grupo Éster
f	1357	CH ₃	Estiramento Assimétrico	Grupo Éster

g	1265	C-O	Estiramento	Grupo Éster
h	1178	C-O	Estiramento	Grupo Éster
i	1127	C-O / PO ₄ ⁻³	Estiramento Simétrico	Grupo Éster Grupo Fosfato
j	1080	C-O / PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Éster Grupo Fosfato
k	1039	C-O / PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Éster Grupo Fosfato
l	866	C-C / PO ₄ ⁻³	Estiramento Assimétrico	Grupo Éster Grupo Fosfato
m	758	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
n	735	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato

A figura 16 mostra os espectros de PLLA / HA onde exhibe a banda de alta intensidade em 1747 cm⁻¹ atribuído ao estiramento C=O do grupo carbonila de PLLA. As bandas em 1265 cm⁻¹, 1178 cm⁻¹, 1127 cm⁻¹ e 1080 cm⁻¹ pertencem a ligação C-O do PLLA. As bandas em 1384 cm⁻¹ e 1357 cm⁻¹ representam o grupo CH₃ do PLLA, e finalmente, a banda em 866 cm⁻¹ representa o grupo C-C. Após adição de HA, a banda em 1453 cm⁻¹ representa o grupo CO₃²⁻ e as bandas em 1127 cm⁻¹, 1080 cm⁻¹, 1039 cm⁻¹, 866 cm⁻¹, 758 cm⁻¹ e 735 cm⁻¹ representam o grupo PO₄⁻³. Conforme relatado pelos autores Davachi e colaboradores (2016) a intensidade de alguns dos picos de PLLA pode aumentar com a adição HA. A intensidade do grupo carbonila em 1747 cm⁻¹ também é aumentada devido a existência desse grupo funcional em polímeros e HA (Davachi et al., 2016). Em uma investigação *in vitro*, foi relatado que o grupo hidroxila ajuda ativamente a ligação celular e aumenta a degradação hidrolítica (Davachi et al., 2016).

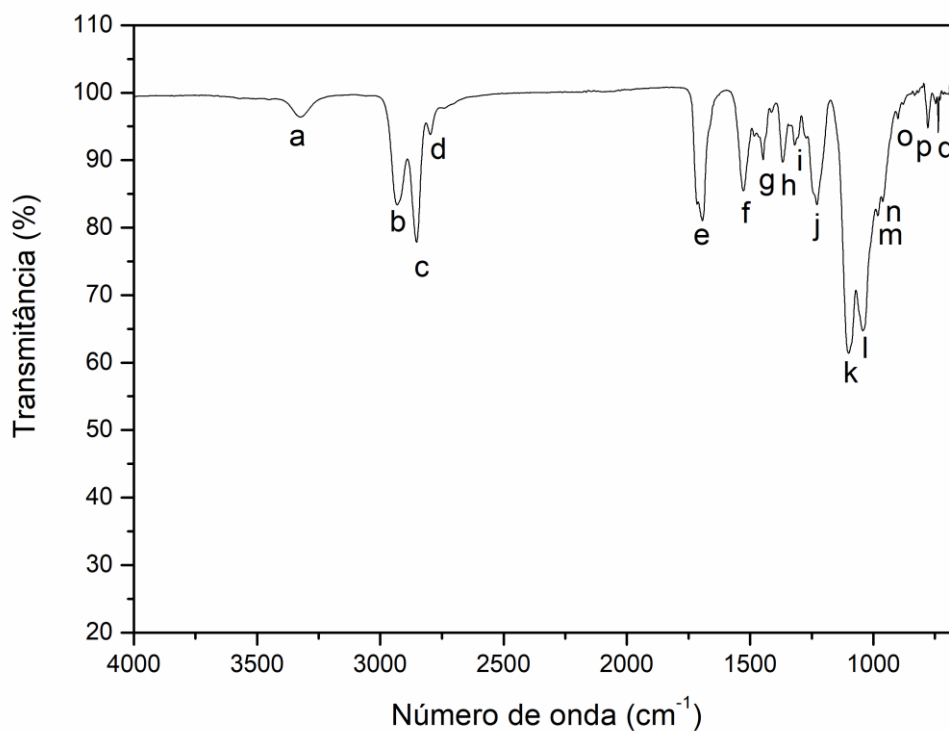
A figura 17 apresenta o espectro de comparação de PLLA pellet, PLLA membrana, HA e PLLA / HA.

Figura 17: Espectro FTIR do pellet de PLLA e dos *scaffolds* de PLLA, HA e PLLA / HA



Conforme mostrado na figura 17, não houve alterações do pellet para o *scaffold*, afirmando que a estrutura química do PLLA permaneceu inalterada durante o processo RJS. Além disso, foi observada as bandas características dos grupos funcionais do PLLA e da HA no *scaffold*.

Assim como o PCL e PLLA, a análise FTIR também foi realizada em PU. A figura 18 mostra os espectros de PU / HA cujos resultados dos grupos funcionais estão apresentados na tabela 4.

Figura 18: Espectro FTIR do *scaffold* fibroso de PU / HA**Tabela 4.** Identificação dos grupos funcionais do espectro de infravermelho do *scaffold* fibroso de PU / HA

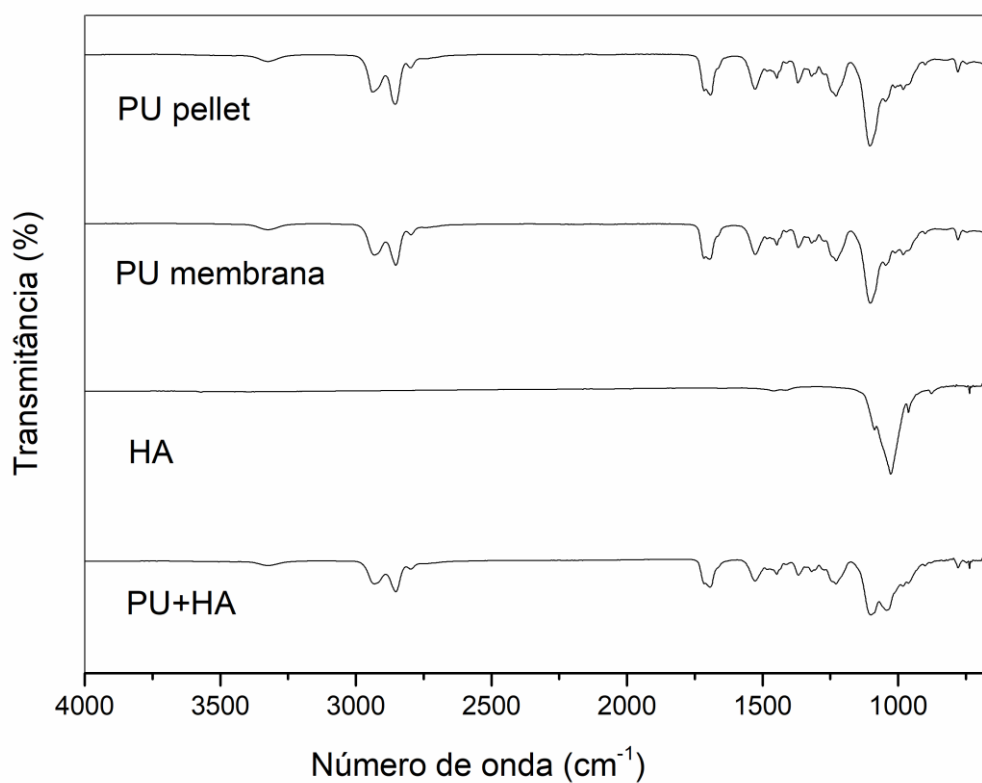
Referência	Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Vibração	Atribuição
a	3322	N-H / O-H	Estiramento	Grupo Uretano Grupo Hidroxila
b	2931	C-H	Estiramento Alifático	Segmento Flexível
c	2853	C-H	Estiramento Alifático	Segmento Rígido
d	2795	C-H	Estiramento	Segmento Rígido
e	1693	C=O	Estiramento	Grupo Uretano
f	1528	N-H	Deformação de Flexão	Grupo Uretano

g	1445	C-H / CO ₃ ²⁻	Deformação de Flexão	PU Grupo carbônico
h	1367	C-H	Deformação de Flexão	PU
i	1319	C-N	Estiramento	PU
j	1228	C-N	Deformação de Flexão	PU
k	1099	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
l	1041	C-O-C / PO ₄ ⁻³	Estiramento	PU Grupo fosfato
m	981	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo fosfato
n	963	PO ₄ ⁻³	Estiramento Simétrico	Grupo Fosfato
o	899	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
p	779	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato
q	735	PO ₄ ⁻³	Estiramento	Grupo Fosfato

A análise mostrou todas as bandas características de PU, incluindo estiramento N-H de grupos uretano em 3322 cm⁻¹, estiramento assimétrico de CH₂ em 2931 cm⁻¹, estiramento simétrico de CH₂ em 2853 e 2795 cm⁻¹. Em 1693 cm⁻¹ apresenta estiramento C=O e em 1528 cm⁻¹ flexão de N-H, ambos sendo grupos de uretano. De acordo com a figura 18, a análise revelou bandas características de PU e HA. Com a introdução do HA, a banda em 3322 cm⁻¹ indica a adição de mais grupos N-H e O-H ligados a H. Além disso, com o aumento da quantidade de HA as bandas em 2931 cm⁻¹ e 2853 cm⁻¹ atribuídas ao estiramento alifático de C-H também aumentaram. O pico de 1693 cm⁻¹ é característico das ligações uretano-carbonila. O pico 1445 cm⁻¹ pertence ao grupo carbônico CO₃²⁻ de HA e os picos 1041 cm⁻¹, 981 cm⁻¹, 963 cm⁻¹, 735 cm⁻¹ pertencem ao grupo PO₄⁻³.

A figura 19 apresenta o espectro de comparação de PU pellet, PU membrana, HA e PU / HA.

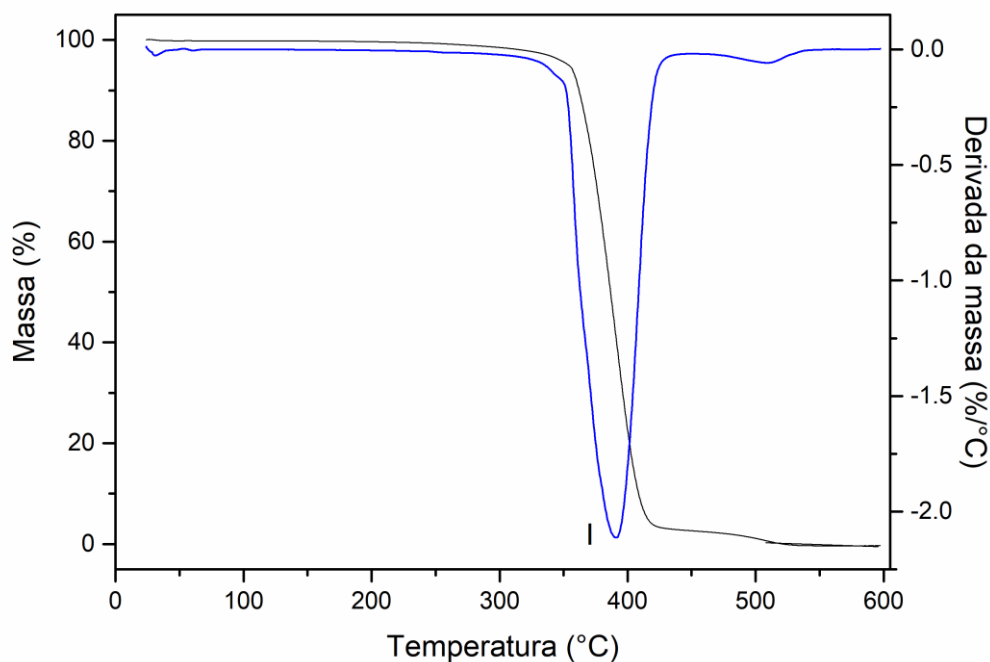
Figura 19: Espectro FTIR do pellet de PU e dos *scaffolds* de PU, HA e PU / HA



De acordo com a figura 19 não houve alterações do pellet para o *scaffold*, afirmando que a estrutura química do PU permaneceu inalterada durante o processo de RJS. Além disso, foi confirmada a formação do *scaffold* PU / HA com a presença das bandas químicas do PU e da HA.

5.4 Caracterização térmica

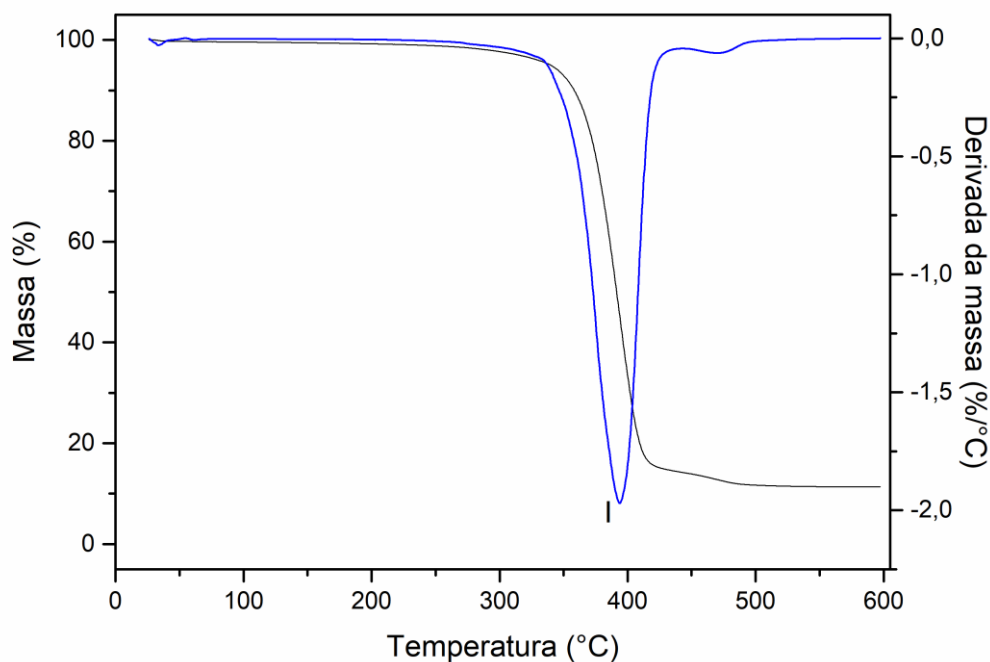
A temperatura de decomposição e a estabilidade térmica dos *scaffolds* poliméricos de PCL, PLLA e PU puros e com adição de HA foram investigadas por TGA. A figura 20 mostra as curvas de TGA e sua derivada (DTG) do *scaffold* fibroso de PCL, cujo termograma está representado na tabela 5.

Figura 20: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PCL**Tabela 5.** Características térmicas do *scaffold* de PCL para degradação térmica

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	354 – 419	97%	390,6

De acordo com o a figura 20 e a tabela 5, entre a temperatura ambiente e 353°C não foi observada perda de massa do PCL. A degradação térmica do PCL mostrou um único estágio, começando a perder massa a cerca de 354°C e completamente degradado a cerca 419°C perda de massa de 97%.

A figura 21 e na tabela 6 também apresentam resultados da degradação térmica do *scaffold* de PCL / HA em um único estágio, começando a perder massa a cerca de 349°C e completamente degradado a cerca de 415°C com perda de massa de 85%.

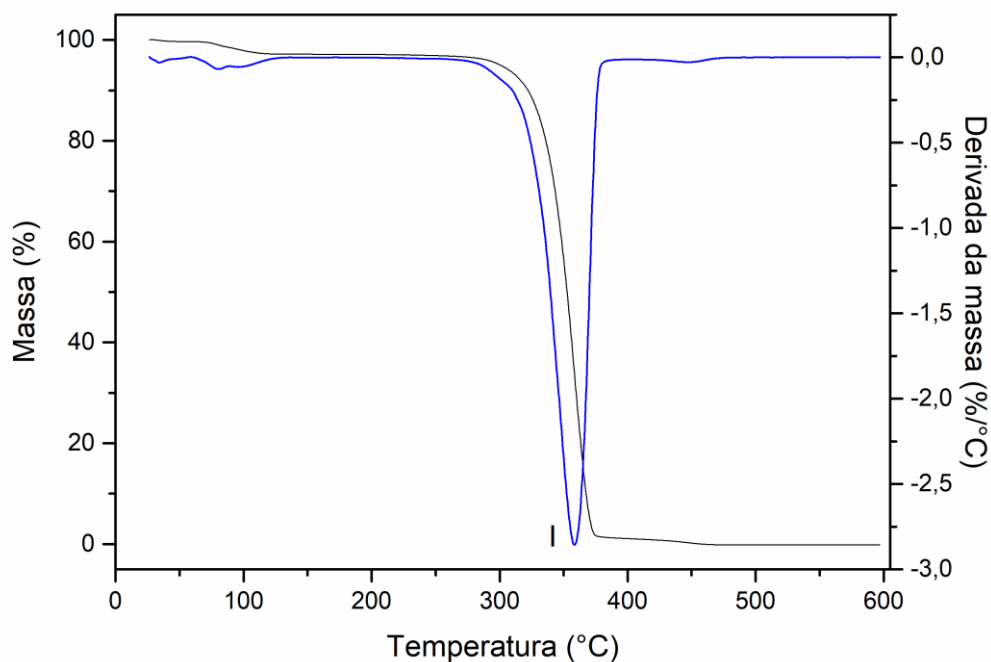
Figura 21: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PCL / HA**Tabela 6.** Características térmicas do *scaffold* de PCL / HA

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	349 – 415	85%	393,4

Como ilustrado na figura 21 e na tabela 6, as curvas TGA e DTG dos compósitos PCL / HA mostram que a introdução da HA mantém a estabilidade térmica do PCL.

Mondal et al. (2014) relatam que a HA ocorre uma pequena perda de massa na faixa de temperatura de 400 - 700°C para remoção de substâncias orgânicas.

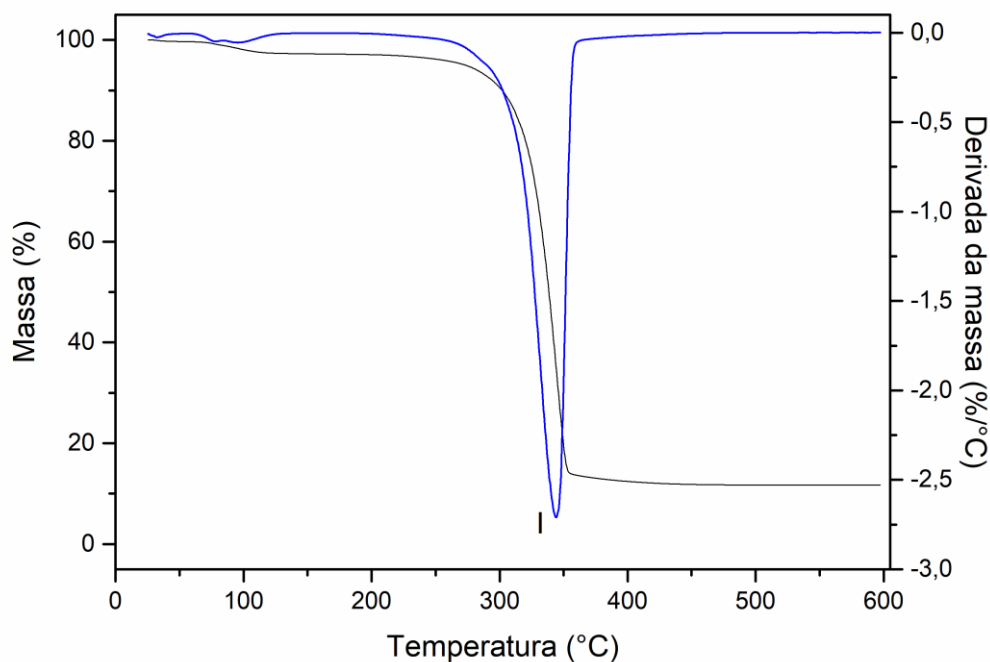
A análise de TGA também foi realizada no *scaffold* de PLLA, o que nos revela um resultado de acordo com o a figura 22 e a tabela 7.

Figura 22: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PLLA**Tabela 7.** Características térmicas do *scaffold* de PLLA.

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	297 – 374	97%	358,6

A degradação térmica do PLLA mostrou um único estágio, começando a perder massa a cerca de 297 °C decompondo até 374°C. Segundo Kang et al. (2018) o PLLA é decomposto completamente antes de 390°C.

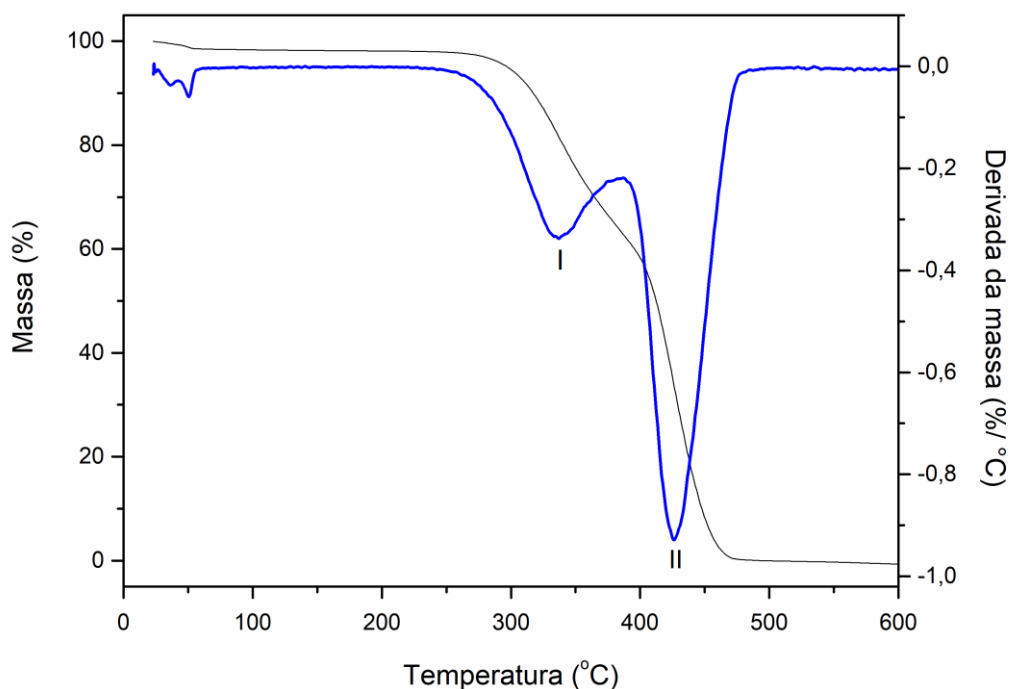
O termograma PLLA / HA está ilustrado na figura 23 e tabela 8.

Figura 23: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PLLA / HA**Tabela 8.** Características térmicas do *scaffold* de PLLA / HA.

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	292 – 354	85%	344,1

Mediante os resultados da adição de HA, foi observado um avanço no início do comportamento de degradação térmica em relação ao PLLA puro, mostrando-se degradar em um único estágio, começando a perder massa a cerca de 292°C decompondo completamente em 354°C. No entanto, as ligações de hidrogênio entre grupos carbonila de PLLA e grupos de hidroxila levam uma interação mais alta com as cargas de HA (Kaavessina et al., 2013).

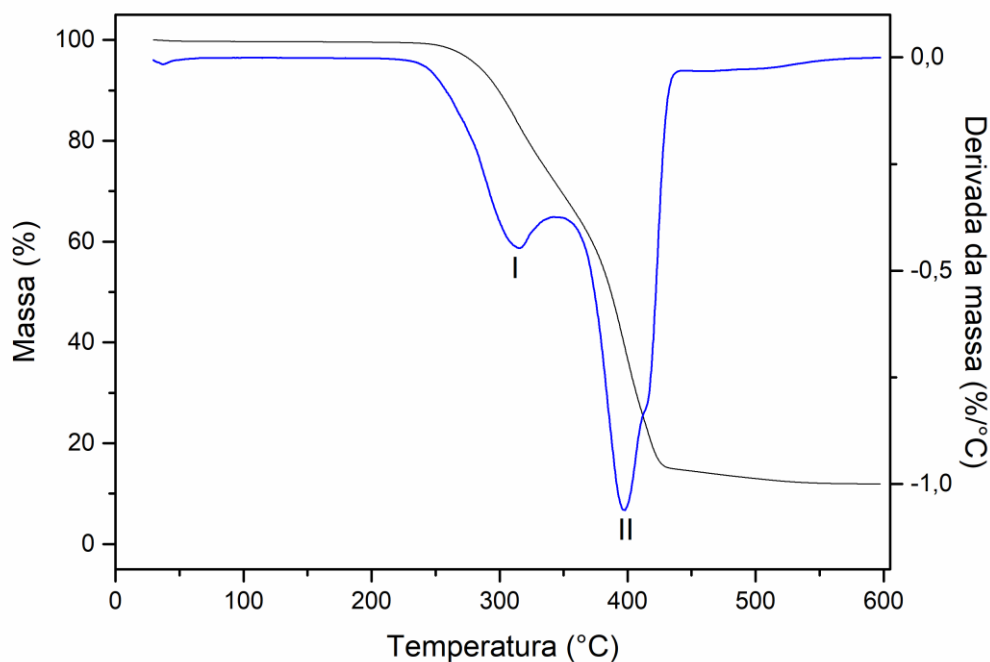
A figura 24 mostra a curva TGA e DTG do *scaffold* fibroso de PU. As principais perdas de massa são representadas por diferentes faixas de temperatura, estágios I e II, conforme representado na tabela 9.

Figura 24: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PU**Tabela 9.** Características térmicas do *scaffold* de PU

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	297 - 392	35%	337,7
II	408 - 464	63%	425,9

O PU apresenta dois estágios principais de perda massa. O primeiro estágio começa a perder massa a cerca de 297°C até 392°C correspondendo a degradação térmica dos segmentos rígidos de PU. O segundo estágio inicia a perda de massa em 408°C e se decompõe até 464°C correspondente a degradação térmica dos segmentos flexíveis de PU (Barick & Tripathy, 2010; Guignot et al., 2001).

Na figura 25 e na tabela 10 é possível notar que a adição de HA reduz a estabilidade térmica em relação ao PU puro.

Figura 25: Curva de TGA e DTG do *scaffold* de PU / HA**Tabela 10.** Características térmicas do *scaffold* de PU / HA.

Estágio	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de Massa (%)	$T_{\max}$ (°C)
I	274 – 344	29%	315,5
II	378 – 429	58%	397,5

Assim como no PU puro, o compósito de PU / HA apresenta dois estágios principais. O primeiro estágio começa a perder massa a cerca de 274°C até 344°C. O segundo estágio inicia a perda de massa em 378°C e decompõe até 429°C.

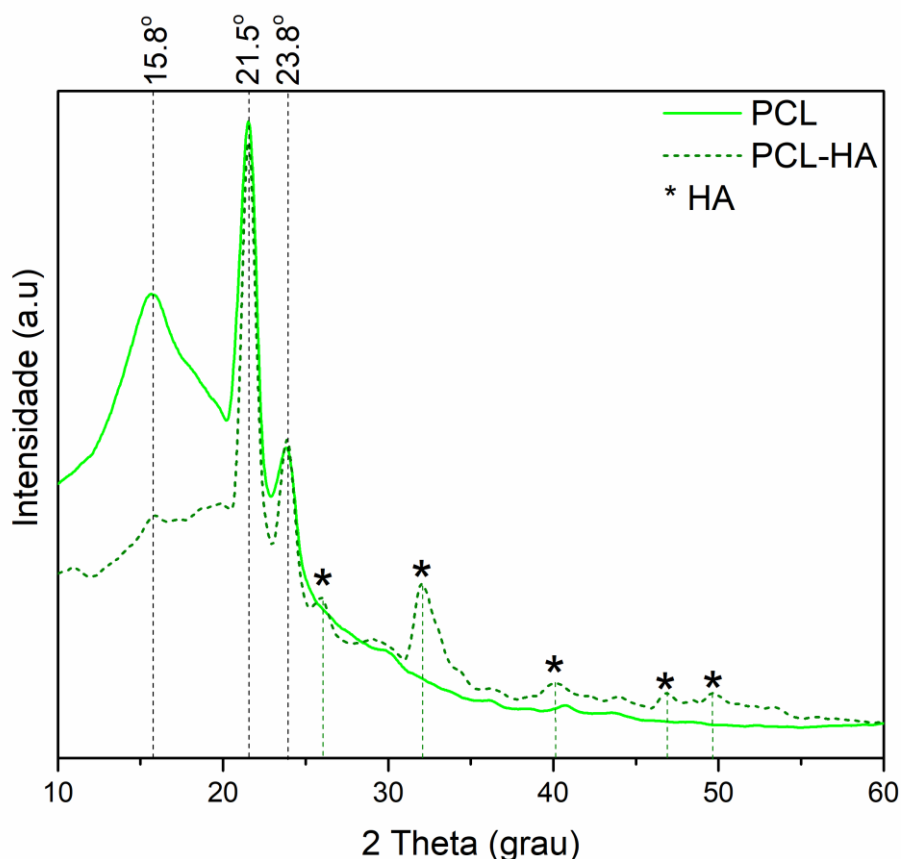
De acordo com os resultados analisados, o teste de TGA mostrou que a adição de HA nos polímeros puros diminui ligeiramente a estabilidade térmica dos *scaffolds*, porém os valores encontrados são apropriados para aplicações médicas.

5.5 Análise DRX

Para estudar os padrões de difração de tais materiais, a técnica DRX é amplamente utilizada. Os materiais podem ser cristalinos, semi cristalinos ou não cristalinos, isto é, amorfos. As substâncias amorfas exibem padrões de difração difusos e halo, enquanto os materiais cristalinos mostram fortes picos de difração (Ahmed et al., 2013; Istanbulu et al., 2013).

A análise de fase estrutural foi realizada para determinar a cristalinidade das amostras de PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA via espectroscopia de difração de raios-X que estão representadas nas figuras 26, 27 e 28.

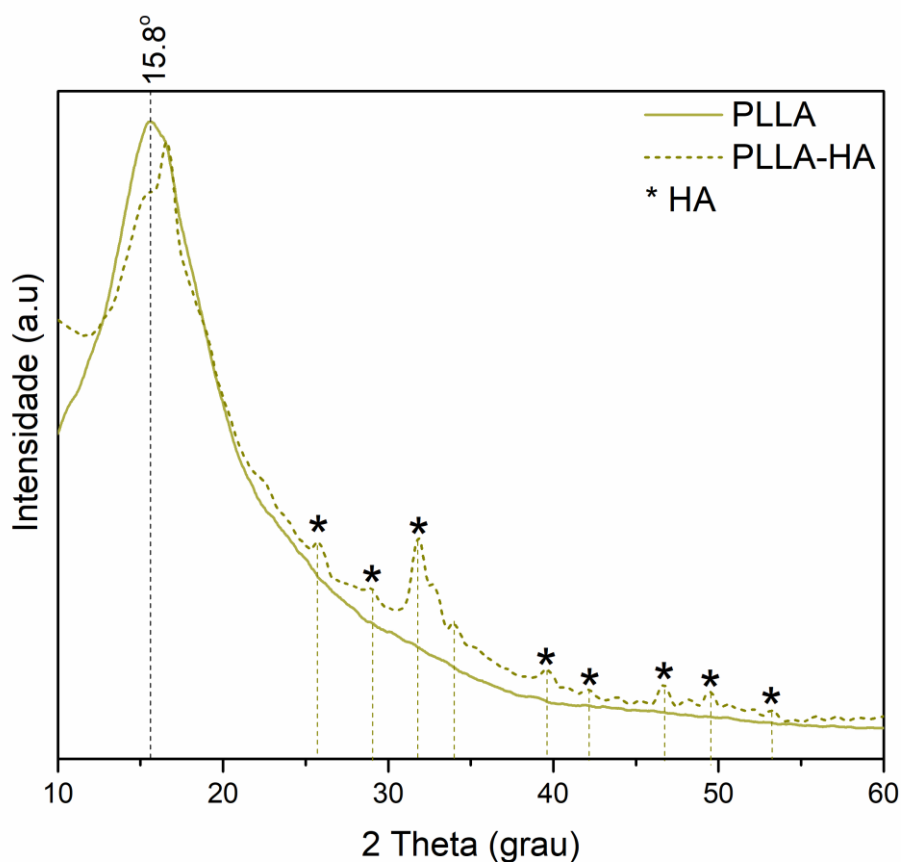
A figura 26 mostra o padrão de DRX das estruturas de PCL, PCL / HA e HA. De acordo com Ansari et al., (2020); Fabbri et al., (2010), o PCL é um polímero semicristalino que pode ser detectado por três picos específicos em $2\theta = 15,7^\circ$, $21,5^\circ$ e $23,8^\circ$. A HA produz picos de difração em $2\theta = 25,9^\circ$, $31,8^\circ$, $39,7^\circ$, $46,8^\circ$ e $49,0^\circ$. (Z. Dong et al., 2009; Hrubovčáková et al., 2017). Pode-se observar que a HA tem tamanho de partícula pequena e baixa cristalinidade, pois os picos se apresentaram amplos. Isso pode estar relacionado ao processo de síntese em baixa temperatura. A intensidade dos picos de difração de HA aumenta com o aumento do conteúdo de HA, pois a cristalinidade de HA aumenta e os cristais de HA crescem rapidamente devido a maior concentração de Ca^{2+} e PO_4^{3-} e de íons que levam a um aumento no tamanho do cristal de HA e na taxa de crescimento cristalino (Ansari et al., 2020). A formação de osso foi observada em cerâmicas de HA pouco cristalinas, pois foi relatado que nenhum novo osso pode ser formado em cerâmicas de HA altamente cristalinas porosas (J. Dong et al., 2001). Como resultado, a HA com baixa cristalinidade tem alta bioatividade. Entretanto, as interações entre as partículas de HA e a matriz PCL causam uma redução na cristalinidade do PCL (Rauci et al., 2010).

Figura26: Padrão de DRX de PCL e PCL / HA

O padrão de DRX das estruturas de PLLA e PLLA / HA está representada na figura 27. O PLLA é um polímero semicristalino, apresenta um pico de intensidade forte e nítido no ângulo de difração $2\theta = 15,8^\circ$ (Nazir et al., 2021; Righetti et al., 2017). Embora a banda larga exiba ombros muito fracos o grau de cristalinidade geral é muito pequeno para ser quantificado com precisão por análise de DRX. Portanto, pode-se concluir que as cadeias de PLLA estão essencialmente em uma estrutura amorfa e desordenada no nanocompósito (Beltrán et al., 2016). No entanto, pode ser visto que o PLLA exibe uma fase amorfa com um pico largo. Pode ser atribuído ao alinhamento não desenvolvido das cadeias de polímero (Xiuyan Li et al., 2012). A análise de DRX também foi usada para confirmar a presença de HA nas fibras PLLA / HA. Os picos de difração em 2θ superiores a 25° são atribuídos a HA (Szustakiewicz et al., 2018a). Os picos principais nos valores 2θ de $25,8^\circ$, $31,8^\circ$, $32,1^\circ$, $32,9^\circ$ e $34,1^\circ$ e $39,8^\circ$ indica a presença de HA e podem ser vistos nos padrões PLLA / HA, que confirmaram a evidência de HA cristalino na matriz de PLLA (Xiuyan Li et al., 2012). Além disso, não foram detectados picos de difração extra correspondentes a quaisquer impurezas, o que significa a fase cristalina única

de hidroxiapatita (Marycz et al., 2020). Raghavendran et al., (2021) relatam que uma mistura de fases de fosfato de cálcio está presente nas amostras de *scaffolds* de PLLA / HA. No entanto, esses resultados sugerem que o HA foi incorporado com sucesso para os *scaffolds* de PLLA (Jiashen Li et al., 2010).

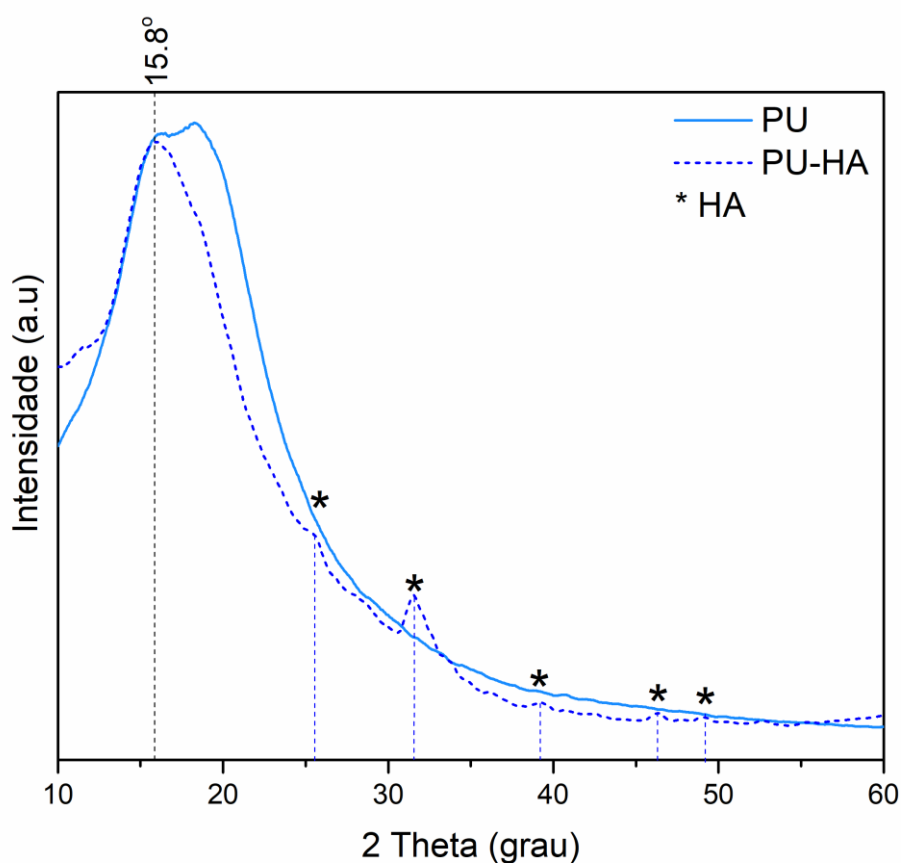
Figura 27: Padrão de DRX de PLLA e PLLA / HA



A análise de DRX foi ainda usada para investigar as estruturas de PU e PU / HA como ilustrado na figura 28. O PU puro não mostra picos definidos, indicando assim a natureza amorfa do polímero. Já o difratograma de PU / HA exibe picos agudos característicos de HA para o material cristalino (Qidwai et al., 2014). O pico de difração a $15,8^\circ$ pertence ao polímero PU. A HA produz picos de difração em $2\theta = 25,9^\circ, 31,8^\circ, 39,7^\circ, 46,8^\circ$ e $49,0^\circ$ que são nítidos e claros, indicando sua estrutura cristalina natural, além da estrutura pouco cristalizada ser

semelhantes a apatita no osso (Z. Dong et al., 2009; Hrubovčáková et al., 2017). Entretanto, o resultado implica que as nanopartículas de HA se dispersaram na matriz de PU (Du et al., 2018a).

Figura 28: Padrão de DRX de PU e PU / HA



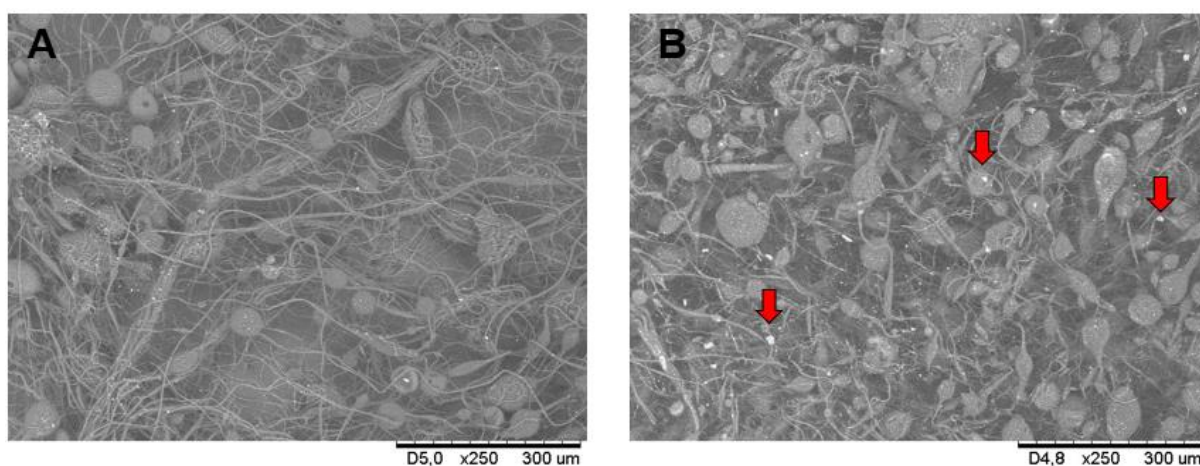
5.6 Análise de deposição de apatita – SBF

Os *scaffolds* de PCL usados na ET óssea apresentam limitações que dificultam sua biocompatibilidade como sua fraca interação com fluidos biológicos devido a sua baixa hidrofilicidade ou ausência de funcionalidades químicas. Em certos grupos funcionais, a biomineralização que leva a formação de uma camada de apatita e que participa do processo de

regeneração óssea é iniciada (Liu et al., 2002). Para os processos ósseos característicos como osteocondução, osteoindução e osteointegração do implante, esta camada é crucial e deve ser formada nos *scaffolds* (Pandiyaraj et al., 2021). Portanto, o crescimento da apatita nos *scaffolds* foi avaliado imergindo-os em uma solução de fluido corporal simulado (SBF) para avaliar sua osteo-bioatividade por meio da investigação da deposição de minerais de apatita.

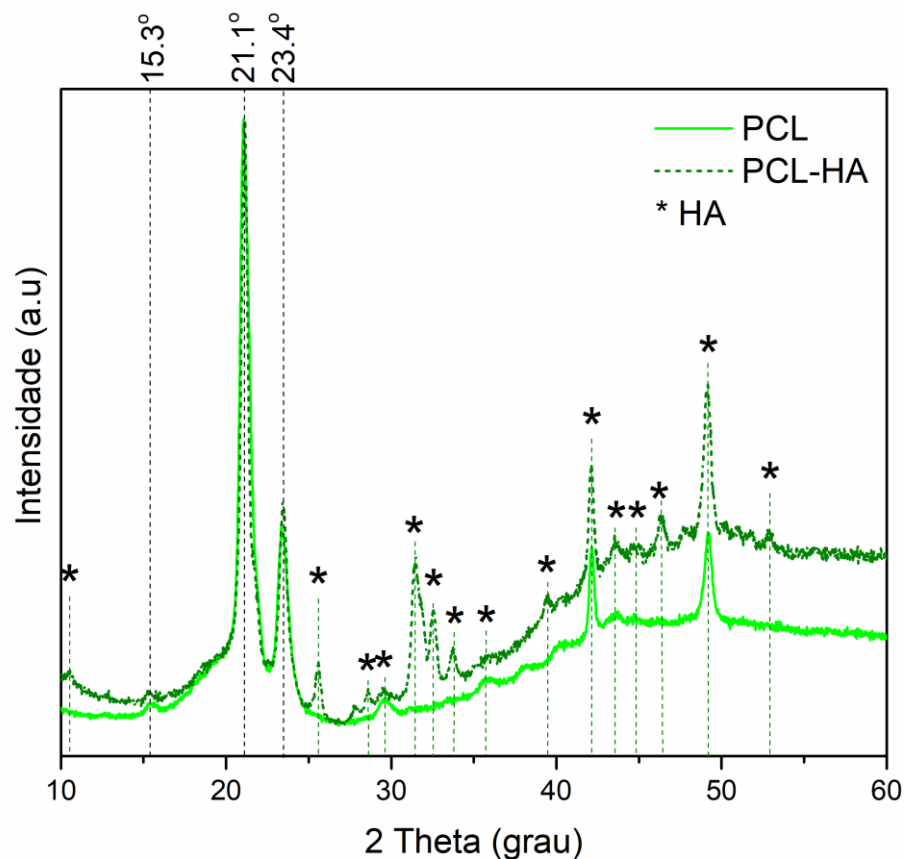
A figura 29 mostra as imagens de MEV dos *scaffolds* após a imersão em SBF por 30 dias.

Figura 29: Imagens de MEV *scaffold* de PCL (A) e PCL / HA (B) após a imersão em SBF por 30 dias.



Após a imersão na solução SBF no período de 30 dias, o *scaffold* de PCL puro apresenta presença de *beads*, enquanto o *scaffold* de PCL / HA resulta no aumento na quantidade de HA e consequentemente no aumento da rugosidade da superfície (Ansari et al., 2020). Além disso, o espectro de DRX da amostra de PCL / HA também mostra um aumento na formação de apatita. Para promover a precipitação e crescimento de apatita da solução SBF, a formação de uma densa camada de apatita na superfície dos *scaffolds* pode ser atribuída a presença de maiores concentrações de grupos contendo fósforo que atuam como locais de nucleação. A nucleação da apatita só pode ocorrer quando o limite de energia de ativação é superado (Rezaei et al., 2014). Portanto, para ativar o processo de nucleação de superfície, uma quantidade suficiente de grupos funcionais precisa ser formada. Pode-se, portanto, concluir que a formação de apatita na superfície dos *scaffolds* depende da presença e quantidade de grupos funcionais na superfície (Pandiyaraj et al., 2021).

Figura 30: Padrão de DRX de PCL e PCL / HA após a imersão em SBF por 30 dias



A figura 31 mostra os resultados das imagens de MEV dos *scaffolds* de PLLA e PLLA / HA rotofiadas após-imersão em SBF por 30 dias. Em sua superfície, o PLLA não apresentou mineralização. Este resultado demonstra que o PLLA não é um biomaterial bioativo. Além disso, foi observada após o período de incubação nenhuma diferença na morfologia da fibra, mostrando que, o PLLA não pode induzir a deposição de apatita devido a sua natureza hidrofóbica (Lao et al., 2011; Schneider et al., 2008). Por meio de testes de SBF, já foi demonstrado que a mineralização da superfície foi mais evidente em superfícies hidrofílicas (Thomas et al., 2014). No entanto, em matrizes poliméricas, a formação de compósitos pela adição de partículas inorgânicas torna-se uma alternativa atraente para o controle dessas propriedades interfaciais hidrofóbicas (Souza et al., 2019). Deposições semelhantes a ossos de HA ocorreram apenas nos *scaffolds* de PLLA / HA e não nas fibras PLLA puras, indicando o papel crítico que os fosfatos de cálcio desempenham como precursores da nucleação da apatita (Ngiam et al., 2009). Para acelerar o crescimento mineral, Ngiam et al.,

(2009) incorporaram partículas de HA na matriz polimérica de PLLA e como resultado, a superfície mais hidrofílica fornece um local mais favorável para a nucleação da apatita.

A figura 32 mostra que a análise realizada por DRX, a precipitação de Ca-P ocorreu nos *scaffolds* de PLLA / HA e observou-se que a deposição mineral na superfície foi significativamente aumentada, apresentando alta cristalinidade .

Figura 31: Imagens de MEV *scaffold* de PLLA (C) e PLLA / HA (D) após a imersão em SBF por 30 dias.

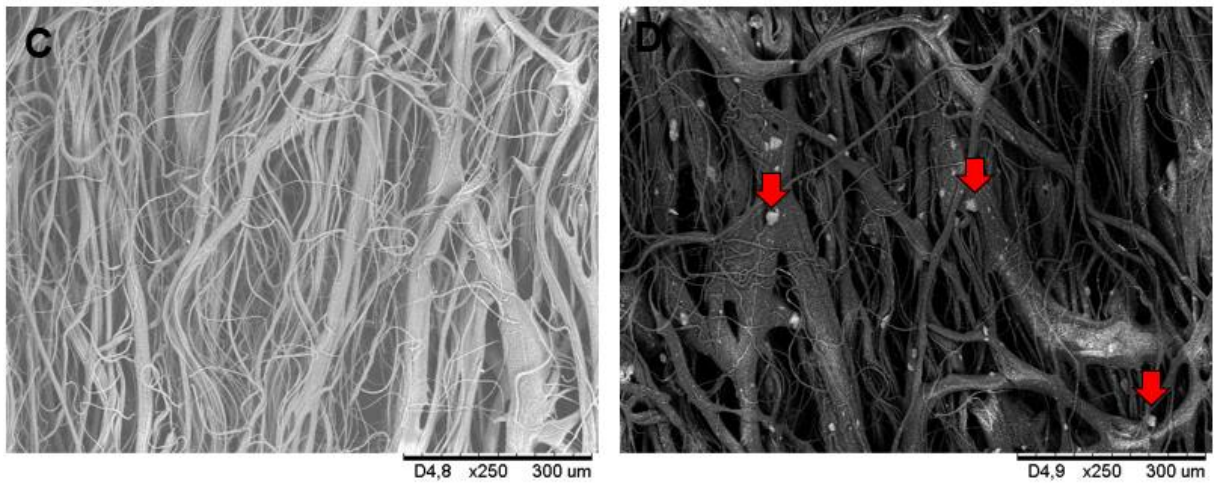
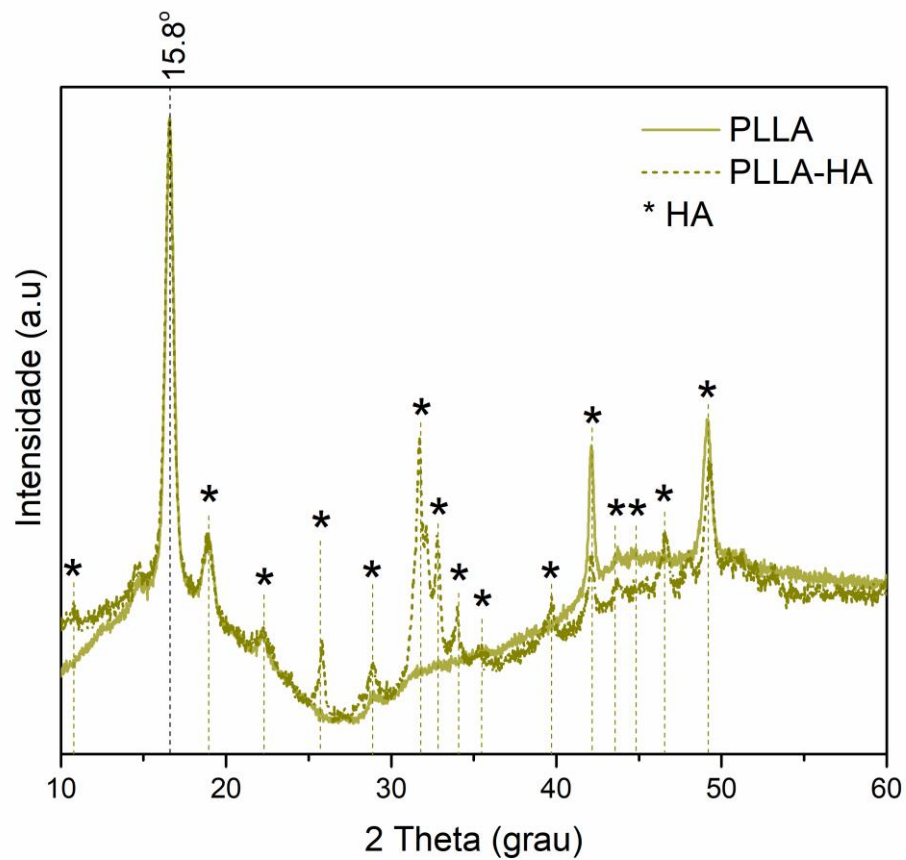
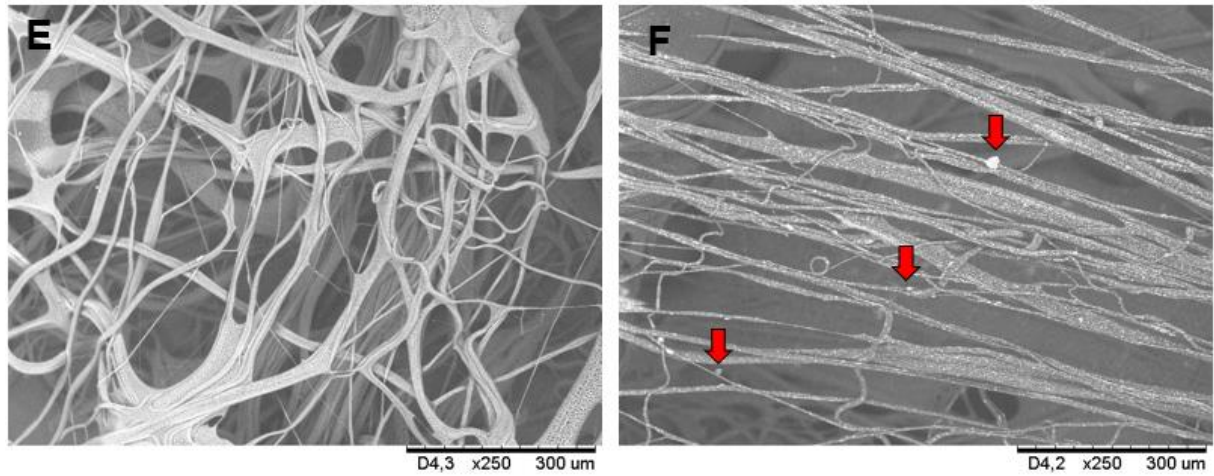


Figura 32: Padrão de DRX de PLLA e PLLA / HA após a imersão em SBF por 30 dias



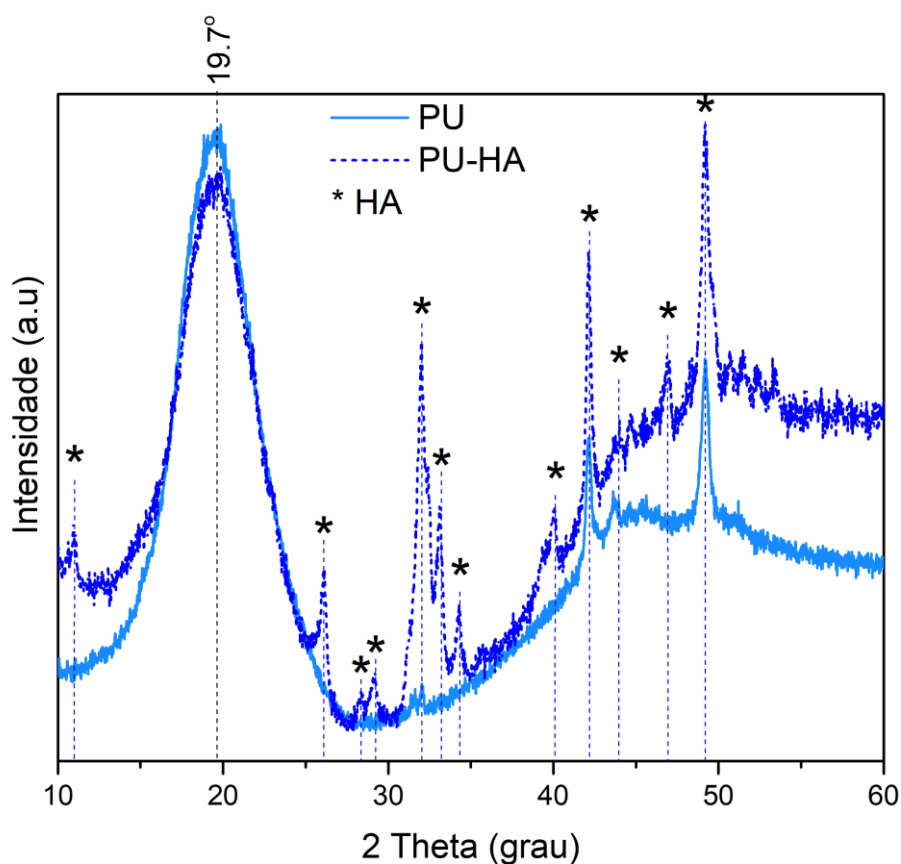
A figura 32 mostra partículas de HA na superfície dos *scaffolds* que resultam da deposição espontânea de íons Ca e P do SBF (Z. Dong et al., 2009). Além disso, foi observada após o período de incubação nenhuma diferença na morfologia da fibra (Rhee & Tanaka, 1999). Os *scaffolds* de PU e PU / HA também foram imergidos em SBF por 30 dias. A figura 33 mostra os resultados das imagens de MEV dos *scaffolds* de PU e PU / HA rotofiadas após-imersão em SBF por 30 dias.

Figura 33: Imagens de MEV *scaffold* de PU (E) e PU / HA (F) após a imersão em SBF por 30 dias



Como ilustrado na figura 34, a estrutura da superfície de PU revestida com HA foi examinada usando DRX. Após imersão em SBF, o pico de difração de PU próximo a $19,7^\circ$ torna-se o pico mais fraco e mais amplo, enquanto a intensidade dos picos de HA fica maior. Isso significa que alguma hidrólise do PU no SBF pode ocorrer e há íons Ca e P do SBF depositados no *scaffold* (Z. Dong et al., 2009).

Figura 34: Padrão de DRX de PU e PU / HA após a imersão em SBF por 30 dias



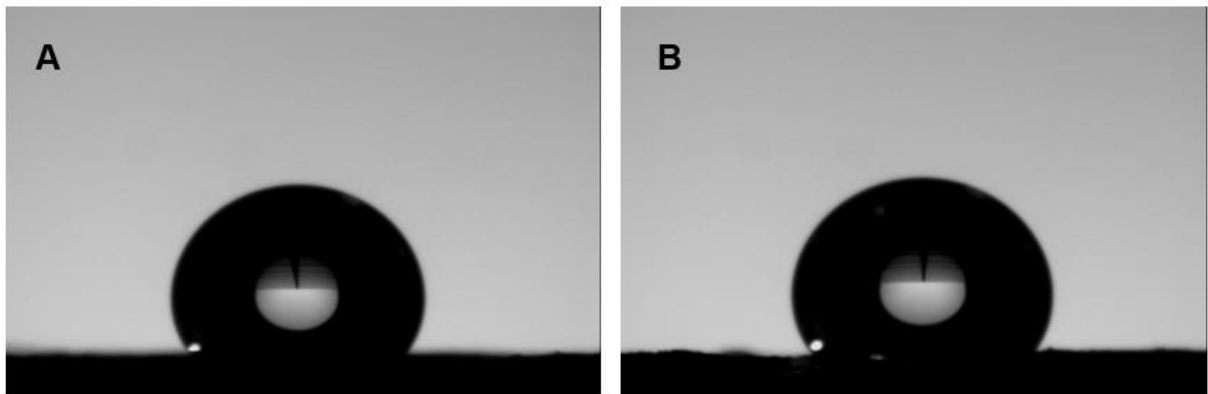
5.7 Comportamento hidrofílico e degradação *in vitro* das membranas poliméricas

As propriedades bioquímicas e rugosidade da superfície, capacidade de absorção de proteínas, e hidrofiliabilidade podem ser afetadas na ligação inicial das células (H J Jeon et al., 2014). Nos *scaffolds* biomédicos, a hidrofiliabilidade é importante para ocorrer a adesão, disseminação, troca de nutrientes e proliferação celular (S. H. Oh et al., 2003; Y. W. Wang et al., 2003).

Para indicar as propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas da superfície do material, foi realizada a avaliação do ângulo de contato depositadas uma gota de água na superfície dos *scaffolds* como representado nas figuras 35, 36 e 37. A determinação do ângulo de contato entre a superfície do *scaffold* e a da gota de água indica que ângulos inferiores a 90° correspondem a

superfícies mais hidrofílicas e ângulos superiores a 90° correspondem a superfícies mais hidrofóbicas (Danesin et al., 2012)

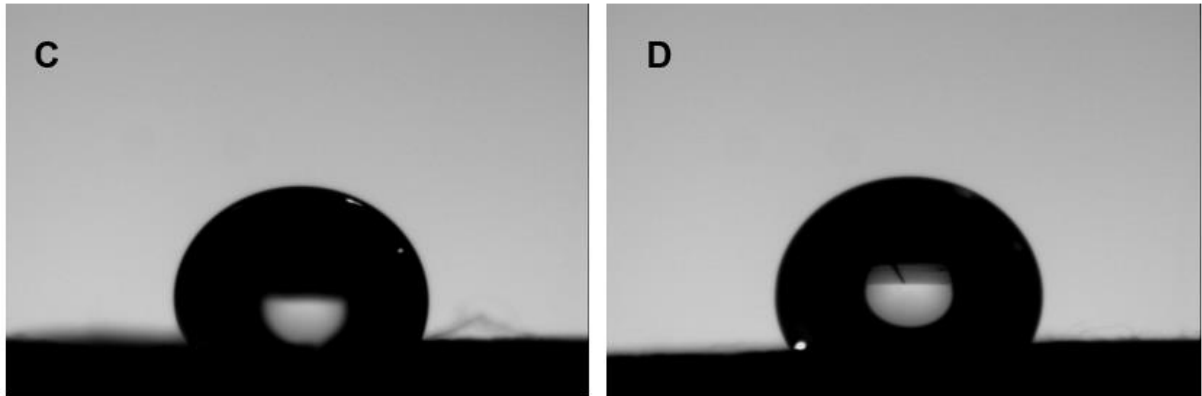
Figura 35: Análise de ângulo de contato do *scaffold* PCL (A) e PCL / HA (B)



O valor do ângulo de contato do PCL foi de $130,7^\circ \pm 1,7$ enquanto o PCL / HA apresentou um valor de $121,2^\circ \pm 3,2$. O PCL apresenta um valor maior no ângulo de contato uma vez que tem natureza mais hidrofóbica devido as cadeias lineares de grupos alifáticos. Para reduzir os ângulos de contato dos compósitos, espera-se que nanopartículas HA com grupos polares em superfícies reduzam esse valor e aumente a hidrofiliabilidade do *scaffold* (Eosoly et al., 2009; Tian et al., 2019; Tiaw et al., 2005).

A análise dos ângulos de contato dos *scaffolds* PLLA e PLLA / HA está apresentada na figura 36.

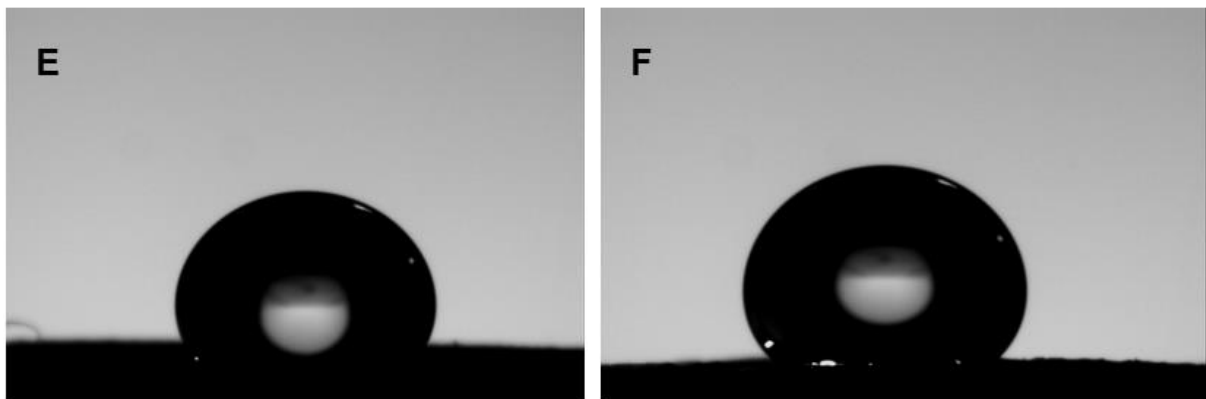
Figura 36: Análise de ângulo de contato do *scaffold* PLLA (C) e PLLA / HA (D)



O *scaffold* de PLLA teve o ângulo de contato de $119,9^\circ \pm 1,9$ o que indicou ser um material hidrofóbico. Após adicionado HA o *scaffold* apresentou melhor hidroflicidade com um valor de $112,7^\circ \pm 3,3$.

A avaliação dos ângulos de contato dos *scaffolds* PU e PU / HA também foram analisados e estão apresentados na figura na 37.

Figura 37: Análise de ângulo de contato do *scaffold* PU (E) e PU / HA (F)



O *scaffold* de PU puro apresentou um ângulo de contato $124,1^\circ \pm 1,7$ enquanto a incorporação de HA apresentou um valor do ângulo de contato $116,6^\circ \pm 1,7$. Portanto, a adição de HA permite que os compósitos biodegradáveis sejam mais hidrofílicos, obtendo assim melhor interação com a água e melhores aplicações biomédicas onde a interação das células com o material é melhorada (Armentano et al., 2010; Barrioni et al., 2015a).

Para aumentar a hidrofília da maioria dos polímeros sintéticos hidrofóbicos, a HA é um inorgânico biocompatível, além de melhorar a resistência mecânica dos polímeros e apresentar características importantes como excelente osteocondutividade e boa hidrofiliabilidade (Keivani et al., 2016). A hidrofiliabilidade da superfície está de acordo com a degradação hidrolítica, uma vez que começa pela absorção de água, seguida pela quebra da cadeia polimérica (Barrioni et al., 2015a). (Eosoly et al., 2009; Tihan et al., 2009) concluíram que com a adição de HA, o *scaffold* obtém melhor hidrofiliabilidade, melhor disseminação celular e melhor transporte de nutrientes e metabólitos. Kim e colaboradores (2014) relatam que o ângulo de contato depende de uma série de fatores e geralmente aumenta com o aumento da rugosidade da superfície (J. Kim, 2014).

A partir da perda de massa, a degradação dos *scaffolds* fibrosos foi avaliado. Em um período de 4 meses, a degradação dos *scaffolds* de PCL, PLLA e PU puros e incorporados de HA foram avaliados por imersão de amostras em PBS a 37°C. Durante a degradação as amostras mostraram uma considerável perda de peso entre 30, 60, 90 e 120 dias como ilustrado na figura 38 e na tabela 11. Os fatores que influenciam a degradação de polímeros são composição química, estrutura polimérica, peso molecular, polidispersividade e distribuição de repetições monoméricas (Anju et al., 2020).

Figura 38: Análise de degradação *in vitro* dos *scaffolds* de PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU, PU / HA em 30, 60, 90 e 120 dias.

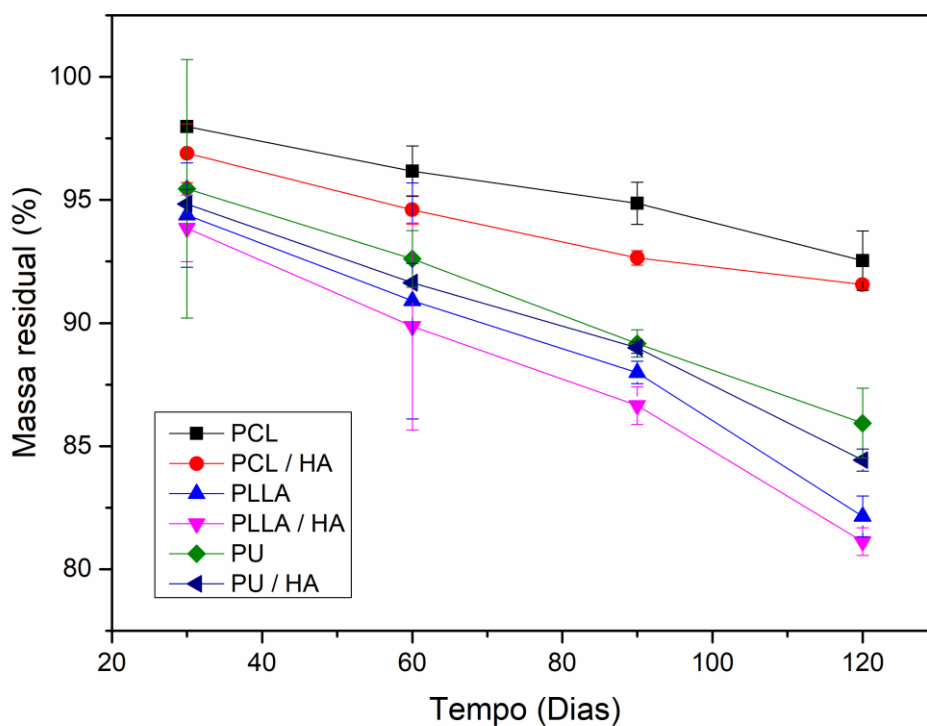


Tabela 11: Média e desvio padrão dos dados obtidos do teste de degradação *in vitro* dos *scaffolds* de PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU, PU / HA em 30, 60, 90 e 120 dias.

		Massa Residual (%)					
Tempo (Dias)		PCL	PCL/HA	PLLA	PLLA/HA	PU	PU/HA
30	Média	98 ± 0,1	96 ± 1,2	94 ± 2,1	93 ± 1,4	95 ± 5,3	94 ± 0,6
60	Média	96 ± 1,0	94 ± 0,6	90 ± 4,8	89 ± 4,2	92 ± 1,2	91 ± 0,8
90	Média	94 ± 0,9	92 ± 0,3	88 ± 0,5	86 ± 0,8	89 ± 0,6	89 ± 0,2
120	Média	92 ± 1,2	91 ± 0,2	82 ± 0,8	81 ± 0,6	85 ± 1,4	84 ± 0,4

Diferentes comportamentos de degradação foram encontrados, uma vez que diferentes hidroflicidades foram encontradas para os vários polímeros e compósitos. Na degradação hidrolítica de *scaffolds* poliméricos, existem quatro etapas sendo elas: inchaço e hidratação do polímero, quebra das ligações, difusão dos produtos de degradação solúveis e desaparecimento do polímero (Díaz et al., 2014).

De acordo com a tabela 11 pode-se notar que nos polímeros puros, os que mais degradaram no período relatado foram o PLLA, PU e PCL respectivamente, indo de encontro com o comportamento de absorção hídrica. Em relação a HA durante a degradação, é notável que os *scaffolds* poliméricos compostos em relação aos os *scaffolds* poliméricos puros tiveram resultado da degradação mais rápida. A presença de HA acelera a degradação hidrolítica de acordo com a molhabilidade da superfície, uma vez que a degradação começa pela absorção de água seguida pela quebra da cadeia do polímero por ligações de éster (Barrioni et al., 2015b). A adição de HA permite que os compósitos sejam utilizados para aplicações biomédicas, pois além de serem mais hidrofílicos a interação das células com o material é melhorada (Armentano et al., 2010; Barrioni et al., 2015b).

De acordo com os resultados, o PCL ocorreu menor perda de massa durante os 120 dias, apresentando 92% de massa residual no término do teste. Leong e colaboradores (2008) e Do e colaboradores (2015) relatam que este material é ideal para fraturas expostas pois apresenta taxa de degradação lenta (Do et al., 2015; Leong et al., 2008). Isso pode permitir por um longo período de tempo que o suporte ósseo forneça crescimento de células para formar tecido mais denso (Park et al., 2012). A taxa de clivagem da ligação éster do PCL é a força motriz para a degradação. Portanto, a degradação ocorre com o aumento de maiores concentrações de íons aquosos reativos, maior absorção de água e maiores frações de ligações éster (White et al., 2021). Em valores de pH em torno de 7 a taxa de hidrólise das ligações éster do PCL é muito baixa (Jung et al., 2006). Na presença de enzimas, ou em condições ácidas ou básicas taxas de hidrólise mais altas podem ser obtidas (Hou et al., 2007; Tay et al., 2005).

O PLLA degrada *in vivo* por meio da degradação em massa (Antheunis et al., 2009). Para serem metabolizados pelo corpo, ocorre a hidrólise das ligações éster nas cadeias do polímero que se inicia nas regiões amorfas da microestrutura do polímero (Polak-Krásna et al., 2021). Durante o processo de degradação hidrolítica, as moléculas de água são penetradas na fase amorfa causando a cisão da cadeia, o que causa cadeias de polímero mais curtas com mobilidade extra (Y. Wang et al., 2008).

A degradação hidrolítica *in vitro* do PU é usado na ET como um recurso importante e necessário para *scaffolds* de longo prazo (Farzan et al., 2020). Em geral, na degradação hidrolítica espera-se que os ésteres sejam mais instáveis do que os uretanos, pois as ligações éster e uretano sofrem hidrólise (Schollenberger & Stewart, 1973).

A mudança no valor do pH foi medida e registrada durante o experimento. Em testes hidrolíticos o pH afeta significativamente a perda de massa, onde estão mais sujeitos para perda de massa em pH 10 e menor perda de massa em pH 7 (Scaffaro et al., 2017). O teste *in vitro* foi realizado em condições de pH 7,4 com considerável margem de $\pm 0,002$.

5.8 Caracterização biológica por viabilidade e proliferação celular

Para avaliar resposta biológica dos materiais, o teste de viabilidade celular é o mais comumente usado (Szustakiewicz et al., 2018b). Foi utilizado células pré-osteoblastos de camundongo (MC3T3-E1) devido o potencial de aplicação do material como substituto ósseo. Para avaliar o comportamento celular dos *scaffolds*, o ensaio de MTT foi realizado em 24, 48 e 72 horas. Em cada tempo os resultados mostraram um aumento significativo da atividade de proliferação celular conforme as figuras 39, 40 e 41.

39: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 24 horas.

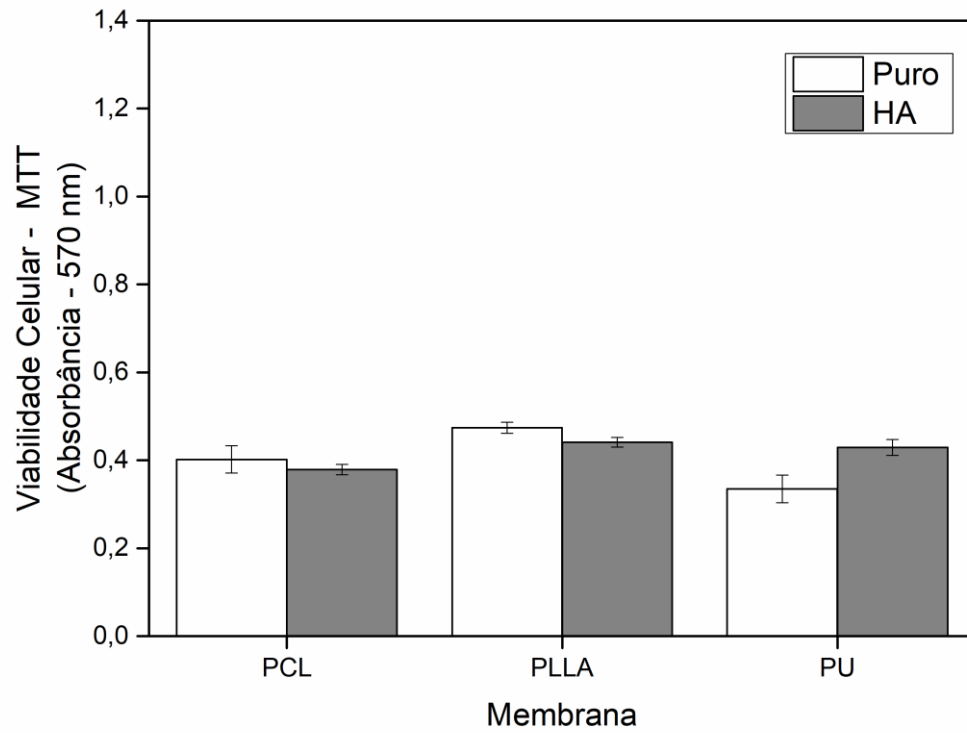


Figura 40: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 48 horas.

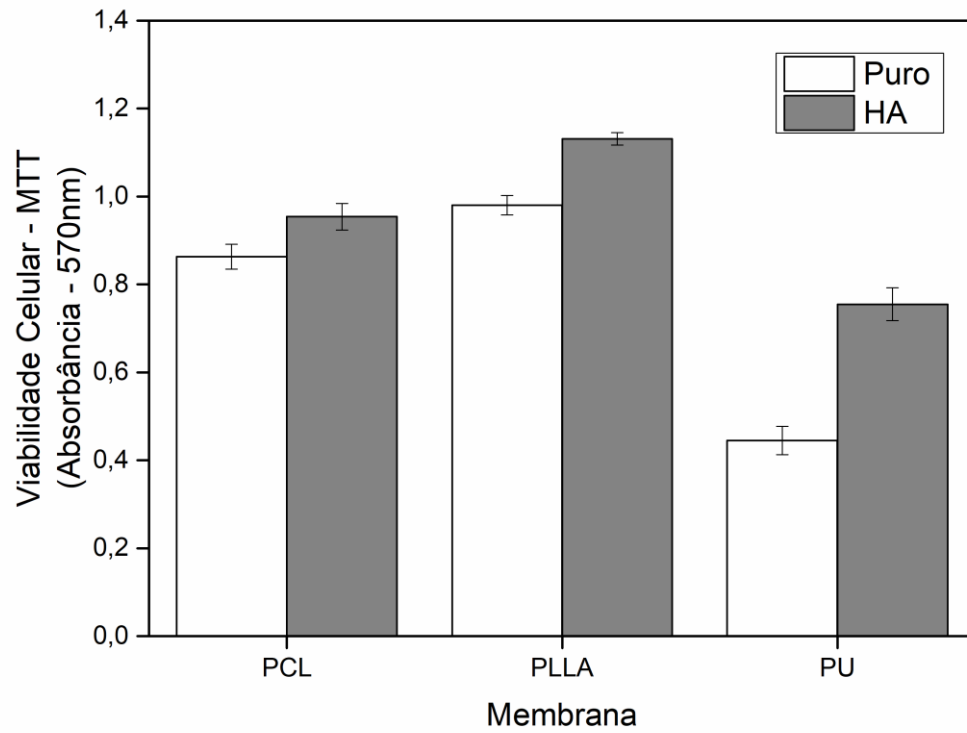
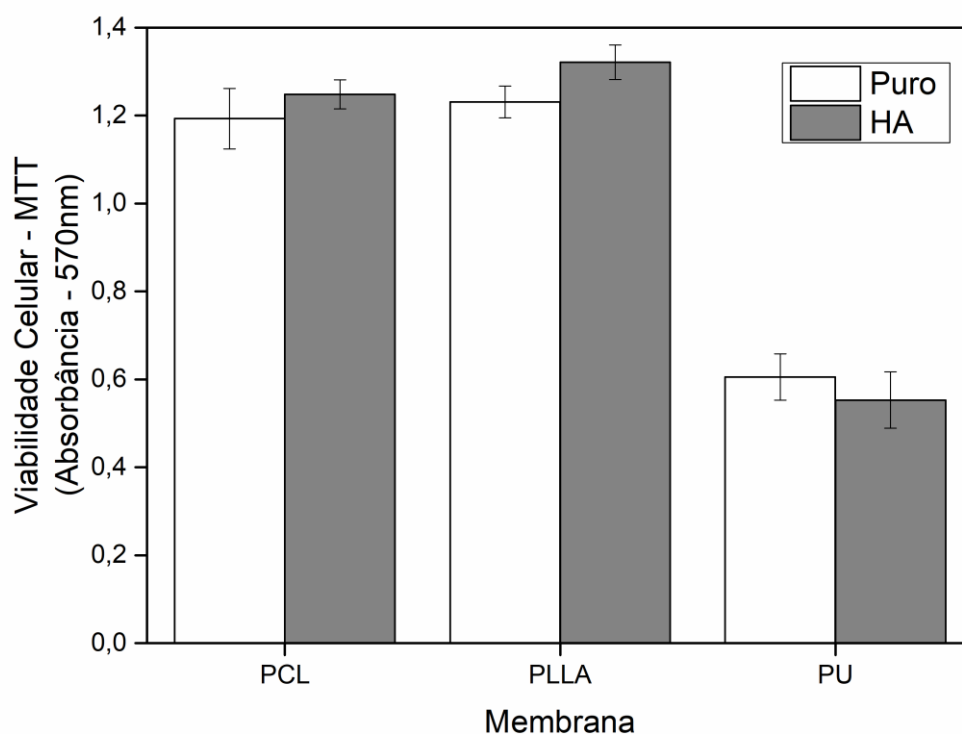


Figura 41: Ensaio de MTT nas amostras incorporada com PCL, PCL / HA, PLLA, PLLA / HA, PU e PU / HA em 72 horas



De acordo com a figura 40, os resultados implicaram que as amostras incorporadas com HA tiveram um efeito claro na proliferação de células de MC3T3-E1 em 48 horas. As células proliferaram favoravelmente nas amostras incorporadas com PCL / HA, PLLA / HA e PU / HA em comparação com o ensaio de 24h. Após 72 horas de cultura, a viabilidade celular do PCL / HA e PLLA / HA foram ligeiramente maior. Contudo, a viabilidade celular do PU / HA foi reduzida.

Devido a natureza hidrofóbica do PCL, PLLA e PU, a viabilidade celular do PCL puro, PLLA puro e PU puro foram menores. Já nas amostras contendo HA a bioatividade e a proliferação celular foram melhoradas. Este resultado é devido a osteocondutividade do HA (Zomorodian et al., 2015), as quais apresentam resultados de osteocondução.

No presente estudo, a biocompatibilidade aumentada do PCL / HA e PLLA / HA e a diminuição do PU / HA pode ser explicada como sugerido por estudos anteriores explicados acima a partir de propriedades de superfície (Y. Han et al., 2014). Contudo, apesar da

diminuição da viabilidade celular do PU / HA em 72 horas, o resultado sugere que os *scaffolds* podem ser um bom modelo para o crescimento e proliferação celular e, quanto mais carga de HA, melhor a biomineralização das células (Du et al., 2018b).

Propriedades da superfície, morfologia, tamanho da partícula, a fase do cristal e a forma, influenciam significativamente a resposta celular (H. Peng et al., 2015). Liao e colaboradores (2014) também relataram que defeitos de superfície em nanopartículas podem influenciar o comportamento de adsorção de proteínas e afetar a atividade de proteínas adsorvida (C. Liao & Zhou, 2014). Zakaria e colaboradores (2013) relataram dois fatores importantes sobre a HA, primeiro que o tamanho de partícula menor da HA pode interagir melhor com as células, segundo que a HA tem dois tipos principais de sítios de ligação nas superfícies, sendo eles Ca^{2+} e PO_4^{-3} (Zakaria et al., 2013).

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho os *scaffolds* de PCL, PLLA, PU puro e incorporados com HA foram produzidos utilizando o processo de rotofiação e posteriormente caracterizados. A caracterização morfológica do material mostrou que a concentração e os parâmetros de processo escolhidos foram adequados para a produção dos *scaffolds*, além de mostrar morfologias de microesferas de HA na superfície das fibras. A avaliação da topografia da fibra mostrou que a rugosidade da superfície da fibra de PU puro obtém o valor (Ra) mais alto de 174,5 nm, e após a adição de HA a rugosidade apresentou um valor (Ra) de 87,4 nm, mostrando que dos três polímeros testados este foi o que mais apresentou aumento da rugosidade, seguida de PLLA e PCL. A análise química do *scaffold* mostrou que todos os grupos funcionais dos polímeros PCL, PLLA e PU estavam presentes juntamente com os grupos funcionais provenientes da HA. A análise térmica mostrou que a adição de HA nos polímeros puros diminuiu ligeiramente a estabilidade térmica dos *scaffolds*, mostrando que os valores encontrados são apropriados para aplicações médicas. A intensidade dos picos de difração de HA aumenta com o aumento do conteúdo de HA, pois a cristalinidade de HA aumenta e os cristais de HA crescem rapidamente devido a maior concentração de Ca^{2+} e PO_4^{3-} e de íons que levam a um aumento no tamanho do cristal de HA e na taxa de crescimento cristalino. Após a imersão na solução SBF no período de 30 dias, não houve nenhuma diferença na morfologia das fibras, além disso o DRX mostrou que os *scaffolds* tiveram aumento na quantidade de HA devido a maior concentração de Ca^{2+} e PO_4^{3-} . A adição de HA mostrou que os *scaffolds* foram mais hidrofílicos, além de apresentar características importantes como excelente osteocondutividade e boa hidrofiliabilidade. Nos polímeros puros, os que mais degradaram no período relatado foram o PLLA, PU e PCL respectivamente, indo de encontro com o PLLA / HA, PU / HA, PCL / HA. Os *scaffolds* não promoveram toxicidade as células pré-osteoblastos mostrando que devido a natureza hidrofóbica do PCL, PLLA e PU, a viabilidade celular do PCL puro, PLLA puro e PU puro foram menores, já nas amostras contendo HA a bioatividade e a proliferação celular foram melhoradas. Este resultado é devido a osteocondutividade do HA as quais apresentam resultados de osteocondução. Através dos resultados analisados, os *scaffolds* poliméricos desenvolvidos nesse estudo têm um grande potencial osteocondutor para futuras aplicações odontológicas.

Referências

- Abdal-Hay, A., In, K. C., & Lim, J. K. (2013). Biocorrosion and osteoconductivity of PCL/nHAp composite porous film-based coating of magnesium alloy. *Solid State Sciences*, 18, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2012.11.017>
- Afewerki, S., Bassous, N., Harb, S., Palo-Nieto, C., Ruiz-Esparza, G. U., Marciano, F. R., Webster, T. J., Furtado, A. S. A., & Lobo, A. O. (2020). Advances in dual functional antimicrobial and osteoinductive biomaterials for orthopaedic applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 24, 102143. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102143>
- Agarwal, S., Wendorff, J. H., & Greiner, A. (2008). Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer*, 49(26), 5603–5621. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.09.014>
- Ahmed, S., Sheraz, M. A., & Rehman, I. U. (2013). Studies on tolafenamic acid-chitosan intermolecular interactions: Effect of pH, polymer concentration and molecular weight. *AAPS PharmSciTech*, 14(2), 870–879. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-9974-9>
- Aho, A. J., Ekfors, T., Dean, P. B., Aro, H. T., Ahonen, A., & Nikkanen, V. (1994). Incorporation and clinical results of large allografts of the extremities and pelvis. *Clin Orthop Relat Res*, 307, 200–213. <http://dx.doi.org/>
- Albrektsson, T., & Johansson, C. (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European Spine Journal*, 10, S96–S101. <https://doi.org/10.1007/s005860100282>
- Alesia, K., & Khalil, H. S. (2013). Reasons for and patterns relating to the extraction of permanent teeth in a subset of the Saudi population. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 5, 51–56. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S49403>
- Alizadeh-Osgouei, M., Li, Y., & Wen, C. (2019). A comprehensive review of biodegradable synthetic polymer-ceramic composites and their manufacture for biomedical applications. *Bioactive Materials*, 4, 22–36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.11.003>
- Allegrini Jr., S., Rumpel, E., Kauschke, E., Fanghanel, J., & Konig Jr., B. (2006). Hydroxyapatite grafting promotes new bone formation and osseointegration of smooth titanium implants. *Ann Anat*, 188(2), 143–151.

<https://doi.org/10.1016/j.aanat.2005.08.019>

- Alt, V., Cheung, W. H., Chow, S. K., Thormann, U., Cheung, E. N., Lips, K. S., Schnettler, R., & Leung, K. S. (2016). Bone formation and degradation behavior of nanocrystalline hydroxyapatite with or without collagen-type 1 in osteoporotic bone defects - an experimental study in osteoporotic goats. *Injury*, 47 Suppl 2, S58-65. [https://doi.org/10.1016/s0020-1383\(16\)47010-5](https://doi.org/10.1016/s0020-1383(16)47010-5)
- Amani, H., Mostafavi, E., Arzaghi, H., Davaran, S., Akbarzadeh, A., Akhavan, O., Pazoki-Toroudi, H., & Webster, T. J. (2019). Three-Dimensional Graphene Foams: Synthesis, Properties, Biocompatibility, Biodegradability, and Applications in Tissue Engineering. *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 5(1), 193–214. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.8b00658>
- Amit Babel, †, Dan Li, ‡, Younan Xia, ‡ and, & Samson A. Jenekhe* ‡, †. (2005). *Electrospun Nanofibers of Blends of Conjugated Polymers: Morphology, Optical Properties, and Field-Effect Transistors*. <https://doi.org/10.1021/ma047529r>
- and, S. K., & Jang*, J. (2007). *Protein Immobilization on Aminated Poly(glycidyl methacrylate) Nanofibers as Polymeric Carriers*. <https://doi.org/10.1021/bm070077g>
- Ang, K. C., Leong, K. F., Chua, C. K., & Chandrasekaran, M. (2007). Compressive properties and degradability of poly(ϵ -caprolactone)/ hydroxyapatite composites under accelerated hydrolytic degradation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 80(3), 655–660. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30996>
- Anju, S., Prajitha, N., Sukanya, V. S., & Mohanan, P. V. (2020). Complicity of degradable polymers in health-care applications. *Materials Today Chemistry*, 16, 100236. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2019.100236>
- Ansari, Z., Kalantar, M., Kharaziha, M., Ambrosio, L., & Raucci, M. G. (2020). Polycaprolactone/fluoride substituted-hydroxyapatite (PCL/FHA) nanocomposite coatings prepared by in-situ sol-gel process for dental implant applications. *Progress in Organic Coatings*, 147, 105873. <https://doi.org/10.1016/J.PORGCOAT.2020.105873>
- Antheunis, H., Van Meer, J.-C. D., De Geus, M., Kingma, W., & Koning, C. E. (2009). Improved mathematical model for the hydrolytic degradation of aliphatic polyesters. *Macromolecules*, 42(7), 2462–2471. <https://doi.org/10.1021/ma802222m>
- Armentano, I., Dottori, M., Fortunati, E., Mattioli, S., & Kenny, J. M. (2010). Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. *Polymer Degradation and Stability*, 95(11), 2126–2146. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.06.007>

- Arrington, E. D., Smith, W. J., Chambers, H. G., Bucknell, A. L., & Davino, N. A. (1996). Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin Orthop Relat Res*, 329, 300–309. <https://doi.org/10.1097/00003086-199608000-00037>
- Arumuganathar, S., & Jayasinghe, S. N. (2008). Living scaffolds (specialized and unspecialized) for regenerative and therapeutic medicine. *Biomacromolecules*, 9(3), 759–766. <https://doi.org/10.1021/bm701322k>
- Asadi, N., Del Bakhshayesh, A. R., Davaran, S., & Akbarzadeh, A. (2019). Common Biocompatible Polymeric Materials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Materials Chemistry and Physics*, 122528. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122528>
- Asl, M. A., & Ghomi, H. (2020). Fabrication of highly porous merwinite scaffold using the space holder method. *International Journal of Materials Research*, 111(9), 711–717. <https://doi.org/10.3139/146.111937>
- Avelar, R. L., Antunes, A. A., Carvalho, R. W., Bezerra, P. G., Oliveira Neto, P. J., & Andrade, E. S. (2009). Odontogenic cysts: a clinicopathological study of 507 cases. *Journal of Oral Science*, 51(4), 581–586. <https://doi.org/10.2334/josnurd.51.581>
- Ayoub, A., & Gillgrass, T. (2019). The Clinical Application of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein 7 for Reconstruction of Alveolar Cleft: 10 Years' Follow-Up. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 77(3), 571–581. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2018.08.031>
- Badrossamay, Mohammad R, Balachandran, K., Capulli, A. K., Golecki, H. M., Agarwal, A., Goss, J. A., Kim, H., Shin, K., & Parker, K. K. (2014). Engineering hybrid polymer-protein super-aligned nanofibers via rotary jet spinning. *Biomaterials*, 35(10), 3188–3197. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.12.072>
- Badrossamay, Mohammad Reza, McIlwee, H. A., Goss, J. A., & Parker, K. K. (2010). Nanofiber Assembly by Rotary Jet-Spinning. *Nano Letters*, 10(6), 2257–2261. <https://doi.org/10.1021/nl101355x>
- Baldino, L., Naddeo, F., Cardea, S., Naddeo, A., & Reverchon, E. (2015). FEM modeling of the reinforcement mechanism of Hydroxyapatite in PLLA scaffolds produced by supercritical drying, for Tissue Engineering applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 51, 225–236. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2015.07.021>

- Baldwin, P., Li, D. J., Auston, D. A., Mir, H. S., Yoon, R. S., & Koval, K. J. (2019). Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 33(4). https://journals.lww.com/jorthotrauma/Fulltext/2019/04000/Autograft,_Allograft,_and_Bone_Graft_Substitutes_.8.aspx
- Banwart, J. C., Asher, M. A., & Hassanein, R. S. (1995). Iliac crest bone graft harvest donor site morbidity. A statistical evaluation. *Spine (Phila Pa 1976)*, 20(9), 1055–1060. <https://doi.org/10.1097/00007632-199505000-00012>
- Barick, A. K., & Tripathy, D. K. (2010). Thermal and dynamic mechanical characterization of thermoplastic polyurethane/organoclay nanocomposites prepared by melt compounding. *Materials Science and Engineering: A*, 527(3), 812–823. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msea.2009.10.063>
- Barrere, F., van der Valk, C. M., Meijer, G., Dalmeijer, R. A., de Groot, K., & Layrolle, P. (2003). Osteointegration of biomimetic apatite coating applied onto dense and porous metal implants in femurs of goats. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 67(1), 655–665. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.10057>
- Barrioni, B. R., De Carvalho, S. M., Oréface, R. L., De Oliveira, A. A. R., & Pereira, M. D. M. (2015a). Synthesis and characterization of biodegradable polyurethane films based on HDI with hydrolyzable crosslinked bonds and a homogeneous structure for biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, 52, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.027>
- Barrioni, B. R., De Carvalho, S. M., Oréface, R. L., De Oliveira, A. A. R., & Pereira, M. D. M. (2015b). Synthesis and characterization of biodegradable polyurethane films based on HDI with hydrolyzable crosslinked bonds and a homogeneous structure for biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, 52, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.027>
- Batas, L., Anagnostou, E., & Vouros, I. (2020). Evaluation of a Double Layer Technique to Enhance Bone Formation in Atrophic Alveolar Ridge: Histologic Results of a Pilot Study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 78(12), 2195–2207. <https://doi.org/10.1016/J.JOMS.2020.07.209>
- Beltrán, F. R., de la Orden, M. U., Lorenzo, V., Pérez, E., Cerrada, M. L., & Martínez Urreaga, J. (2016). Water-induced structural changes in poly(lactic acid) and PLLA-clay nanocomposites. *Polymer*, 107, 211–222. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2016.11.031>
- Black, J., & Hastings, G. W. (1998). *Handbook of biomaterial properties*. Chapman & Hall.

<http://dx.doi.org/>

- Block, M. S., & Kent, J. N. (1997). Sinus augmentation for dental implants: The use of autogenous bone. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 55(11), 1281–1286. [https://doi.org/10.1016/S0278-2391\(97\)90185-3](https://doi.org/10.1016/S0278-2391(97)90185-3)
- Boffano, P., Kommers, S. C., Karagozoglu, K. H., & Forouzanfar, T. (2014). Aetiology of maxillofacial fractures: a review of published studies during the last 30 years. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 52(10), 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2014.08.007>
- Bogusiak, K., & Arkuszewski, P. (2010). Characteristics and epidemiology of zygomaticomaxillary complex fractures. *J Craniofac Surg*, 21(4), 1018–1023. <https://doi.org/10.1097/scs.0b013e3181e62e47>
- Bonewald, L. F. (2002). Osteocytes: A proposed multifunctional bone cell. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions*, 2(3), 239–241.
- Bonne, S., & Schuerer, D. J. (2013). Trauma in the older adult: epidemiology and evolving geriatric trauma principles. *Clin Geriatr Med*, 29(1), 137–150. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2012.10.008>
- Bose, S., Tarafder, S., & Bandyopadhyay, A. (2017). Effect of Chemistry on Osteogenesis and Angiogenesis Towards Bone Tissue Engineering Using 3D Printed Scaffolds. *Annals of Biomedical Engineering*, 45(1), 261–272. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1646-y>
- Bray, C. C., Walker, C. M., & Spence, D. D. (2017). Orthobiologics in Pediatric Sports Medicine. *Orthopedic Clinics of North America*, 48(3), 333–342. <https://doi.org/10.1016/j.ocl.2017.03.006>
- Briassoulis, D. (2004). An overview on the mechanical behaviour of biodegradable agricultural films. *Journal of Polymers and the Environment*, 12(2), 65–81. <https://doi.org/10.1023/B:JOOE.0000010052.86786.ef>
- Bryant, R. A., Nickerson, A., Creamer, M., O'Donnell, M., Forbes, D., Galatzer-Levy, I., McFarlane, A. C., & Silove, D. (2015). Trajectory of post-traumatic stress following traumatic injury: 6-year follow-up. *British Journal of Psychiatry*, 206(5), 417–423. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.114.145516>
- Calcei, J. G., & Rodeo, S. A. (2019). Orthobiologics for Bone Healing. *Clinics in Sports Medicine*, 38(1), 79–95. <https://doi.org/10.1016/J.CSM.2018.08.005>

- Chanchareonsook, N., Tideman, H., Lee, S., Hollister, S. J., Flanagan, C., & Jansen, J. A. (2014). Mandibular reconstruction with a bioactive-coated cementless Ti6Al4V modular endoprosthesis in *Macaca fascicularis*. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(6), 758–768. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.09.014>
- Chandra, R., & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7), 1273–1335. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0079-6700\(97\)00039-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0079-6700(97)00039-7)
- Chang, B., Ahuja, N., Ma, C., & Liu, X. (2017). Injectable scaffolds: Preparation and application in dental and craniofacial regeneration. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 111, 1–26. <https://doi.org/10.1016/J.MSER.2016.11.001>
- Chattopadhyay, D. K., & Webster, D. C. (2009). Thermal stability and flame retardancy of polyurethanes. *Progress in Polymer Science*, 34(10), 1068–1133. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.06.002>
- Chen, G., Deng, C., & Li, Y.-P. (2012). TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *International Journal of Biological Sciences*, 8(2), 272–288. <https://doi.org/10.7150/ijbs.2929>
- Cheng, H., Chabok, R., Guan, X., Chawla, A., Li, Y., Khademhosseini, A., & Jang, H. L. (2018). Synergistic interplay between the two major bone minerals, hydroxyapatite and whitlockite nanoparticles, for osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Acta Biomaterialia*, 69, 342–351. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.016>
- Cheung, H. K., Han, T. T. Y., Marecak, D. M., Watkins, J. F., Amsden, B. G., & Flynn, L. E. (2014). Composite hydrogel scaffolds incorporating decellularized adipose tissue for soft tissue engineering with adipose-derived stem cells. *Biomaterials*, 35(6), 1914–1923. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.067>
- Chiapasco, M., Casentini, P., & Zaniboni, M. (2009). Bone augmentation procedures in implant dentistry. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 24, 237–259.
- Chrcanovic, B. R., Souza, L. N., Freire-Maia, B., & Abreu, M. H. (2010). Facial fractures in the elderly: a retrospective study in a hospital in Belo Horizonte, Brazil. *J Trauma*, 69(6), E73-8. <https://doi.org/10.1097/TA.0b013e3181cc847b>
- Clarke, B. (2008). Normal Bone Anatomy and Physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(Supplement 3), S131. <https://doi.org/10.2215/CJN.04151206>

- Coleman, M. M., & Zarian, J. (1979). FOURIER-TRANSFORM INFRARED STUDIES OF POLYMER BLENDS - 2. POLY(epsilon-CAPROLACTONE)-POLY(VINYL CHLORIDE) SYSTEM. *J Polym Sci Polym Phys Ed*, 17(5), 837–850. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0018465689&partnerID=40&md5=7b9f385a994702129a8f056bde764125>
- Cools, P., Declercq, H., Ghobeira, R., Morent, R., & De Geyter, N. (2018). Acrylic acid plasma coatings for enhanced cell migration in PCL 3D additive manufactured scaffolds. *Surface and Coatings Technology*, 350, 925–935. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2018.03.067>
- Costain, D. J., & Crawford, R. W. (2009). Fresh-frozen vs. irradiated allograft bone in orthopaedic reconstructive surgery. *Injury*, 40(12), 1260–1264. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2009.01.116>
- Curtis, K., Caldwell, E., Delprado, A., & Munroe, B. (2012). Traumatic injury in Australia and New Zealand. *Australas Emerg Nurs J*, 15(1), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.aenj.2011.12.001>
- Danesin, R., Brun, P., Roso, M., Delaunay, F., Samouillan, V., Brunelli, K., Iucci, G., Ghezzi, F., Modesti, M., Castagliuolo, I., & Dettin, M. (2012). Self-assembling peptide-enriched electrospun polycaprolactone scaffolds promote the h-osteoblast adhesion and modulate differentiation-associated gene expression. *Bone*, 51(5), 851–859. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.08.119>
- Danoux, C. B. (2014). In vitro and in vivo bioactivity assessment of a polylactic acid/hydroxyapatite composite for bone regeneration. *Biomater*, 4, e27664. <https://doi.org/10.4161/biom.27664>
- Darney, P. D., Monroe, S. E., Klaisle, C. M., & Alvarado, A. (1989). Clinical evaluation of the Capronor contraceptive implant: preliminary report. *Am J Obstet Gynecol*, 160(5 Pt 2), 1292–1295. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(89\)80015-8](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(89)80015-8)
- Davachi, S. M., Kaffashi, B., Zamanian, A., Torabinejad, B., & Ziaeirad, Z. (2016). Investigating composite systems based on poly l-lactide and poly l-lactide/triclosan nanoparticles for tissue engineering and medical applications. *Materials Science and Engineering C*, 58, 294–309. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.026>
- De Marchi, R. J., Hugo, F. N., Hilgert, J. B., & Padilha, D. M. (2012). Number of teeth and its association with central obesity in older southern Brazilians. *Community Dental Health*, 29(1), 85–89. https://doi.org/10.1922/CDH_2676Marchi05

- De Melo Cunha, M. A. G., Lino, P. A., Dos Santos, T. R., Vasconcelos, M., Lucas, S. D., & De Abreu, M. H. N. G. (2015). A 15-year time-series study of tooth extraction in Brazil. *Medicine (United States)*, 94(47), e1924. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001924>
- De Meurechy, N., Braem, A., & Mommaerts, M. Y. (2018). Biomaterials in temporomandibular joint replacement: current status and future perspectives—a narrative review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 47(4), 518–533. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2017.10.001>
- De Witte, T.-M., Fratila-Apachitei, L. E., Zadpoor, A. A., & Peppas, N. A. (2018). Bone tissue engineering via growth factor delivery: from scaffolds to complex matrices. *Regenerative Biomaterials*, 5(4), 197–211. <https://doi.org/10.1093/rb/rby013>
- Degirmenbasi, N., Kalyon, D. M., & Birinci, E. (2006). Biocomposites of nanohydroxyapatite with collagen and poly(vinyl alcohol). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 48(1), 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2006.01.002>
- Deplaine, H., Ribelles, J. L. G., & Ferrer, G. G. (2010). Effect of the content of hydroxyapatite nanoparticles on the properties and bioactivity of poly(l-lactide) - Hybrid membranes. *Composites Science and Technology*, 70(13), 1805–1812. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.06.009>
- Díaz, E., Sandonis, I., Puerto, I., & Ibáñez, I. (2014). In vitro degradation of PLLA/nHA composite scaffolds. *Polymer Engineering and Science*, 54(11), 2571–2578. <https://doi.org/10.1002/pen.23806>
- Do, A.-V., Khorsand, B., Geary, S. M., & Salem, A. K. (2015). 3D Printing of Scaffolds for Tissue Regeneration Applications. *Advanced Healthcare Materials*, 4(12), 1742–1762. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500168>
- Donaruma, L. G. (1988). Definitions in biomaterials, D. F. Williams, Ed., Elsevier, Amsterdam, 1987, 72 pp. *JPoSL*, 26, 414. <https://doi.org/doi:10.1002/pol.1988.140260910>
- Dong, J., Uemura, T., Kojima, H., Kikuchi, M., Tanaka, J., & Tateishi, T. (2001). Application of low-pressure system to sustain in vivo bone formation in osteoblasts/porous hydroxyapatite composite. *Materials Science and Engineering C*, 17(1–2), 37–43. [https://doi.org/10.1016/S0928-4931\(01\)00333-2](https://doi.org/10.1016/S0928-4931(01)00333-2)
- Dong, Z., Li, Y., & Zou, Q. (2009). Degradation and biocompatibility of porous nano-hydroxyapatite/polyurethane composite scaffold for bone tissue engineering. *Applied*

Surface Science, 255(12), 6087–6091. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2009.01.083>

- Doonquah, L., Holmes, P. J., Ranganathan, L. K., & Robertson, H. (2021). Bone Grafting for Implant Surgery. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 33(2), 211–229. <https://doi.org/10.1016/J.COMS.2021.01.006>
- Du, J., Zou, Q., Zuo, Y., & Li, Y. (2014). Cytocompatibility and osteogenesis evaluation of HA/GCPU composite as scaffolds for bone tissue engineering. *International Journal of Surgery*, 12(5), 404–407. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2014.03.005>
- Du, J., Zuo, Y., Lin, L., Huang, D., Niu, L., Wei, Y., Wang, K., Lin, Q., Zou, Q., & Li, Y. (2018a). Effect of hydroxyapatite fillers on the mechanical properties and osteogenesis capacity of bio-based polyurethane composite scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 88, 150–159. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2018.08.028>
- Du, J., Zuo, Y., Lin, L., Huang, D., Niu, L., Wei, Y., Wang, K., Lin, Q., Zou, Q., & Li, Y. (2018b). Effect of hydroxyapatite fillers on the mechanical properties and osteogenesis capacity of bio-based polyurethane composite scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 88, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.08.028>
- Egol, K. A., Nauth, A., Lee, M., Pape, H.-C., Watson, J. T., & Borrelli, J. (2015). Bone grafting: Sourcing, timing, strategies, and alternatives. *Journal of Orthopaedic Trauma*, 29, S10–S14. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000000460>
- Eivazzadeh-Keihan, R., Maleki, A., de la Guardia, M., Bani, M. S., Chenab, K. K., Pashazadeh-Panahi, P., Baradaran, B., Mokhtarzadeh, A., & Hamblin, M. R. (2019). Carbon based nanomaterials for tissue engineering of bone: Building new bone on small black scaffolds: A review. *Journal of Advanced Research*, 18, 185–201. <https://doi.org/10.1016/J.JARE.2019.03.011>
- Eltom, A., Zhong, G., & Muhammad, A. (2019). Scaffold Techniques and Designs in Tissue Engineering Functions and Purposes: A Review. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019, 3429527. <https://doi.org/10.1155/2019/3429527>
- Eosoly, S., Lohfeld, S., & Brabazon, D. (2009). Effect of hydroxyapatite on biodegradable scaffolds fabricated by SLS. In *Key Engineering Materials* (Vols. 396–398).
- Erfan, N. A., Barakat, N. A. M., & Muller-Borer, B. J. (2019). Preparation and characterization of β -lactoglobulin/poly(ethylene oxide)magnetic nanofibers for biomedical applications.

Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 576, 63–72.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.05.035>

Esposito, M., Grusovin, M. G., Felice, P., Karatzopoulos, G., Worthington, H. V., & Coulthard, P. (2009). The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures for dental implants - A Cochrane systematic review. *European Journal of Oral Implantology*, 2(3), 167–184.

Fabbri, P., Bondioli, F., Messori, M., Bartoli, C., Dinucci, D., & Chiellini, F. (2010). Porous scaffolds of polycaprolactone reinforced with in situ generated hydroxyapatite for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(1), 343–351.
<https://doi.org/10.1007/s10856-009-3839-5>

Farzan, A., Borandeh, S., Zanzanizadeh Ezazi, N., Lipponen, S., Santos, H. A., & Seppälä, J. (2020). 3D scaffolding of fast photocurable polyurethane for soft tissue engineering by stereolithography: Influence of materials and geometry on growth of fibroblast cells. *European Polymer Journal*, 139, 109988.
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109988>

Feng, X., Li, J., Zhang, X., Liu, T., Ding, J., & Chen, X. (2019). Electrospun polymer micro/nanofibers as pharmaceutical repositories for healthcare. *Journal of Controlled Release*, 302, 19–41. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.03.020>

Fernandez de Grado, G., Keller, L., Idoux-Gillet, Y., Wagner, Q., Musset, A.-M., Benkirane-Jessel, N., Bornert, F., & Offner, D. (2018). Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management. *Journal of Tissue Engineering*, 9, 2041731418776819.
<https://doi.org/10.1177/2041731418776819>

Finkemeier, C. G. (2002). Bone-grafting and bone-graft substitutes. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series A*, 84(3), 454–464. <https://doi.org/10.2106/00004623-200203000-00020>

Fonseca, H., Moreira-Gonçalves, D., Coriolano, H.-J. A., & Duarte, J. A. (2014). Bone quality: The determinants of bone strength and fragility. *Sports Medicine*, 44(1), 37–53.
<https://doi.org/10.1007/s40279-013-0100-7>

Furuta, M., & Yamashita, Y. (2013). Oral Health and Swallowing Problems. *Current Physical Medicine and Rehabilitation Reports*, 1(4), 216–222. <https://doi.org/10.1007/s40141-013-0026-x>

Gadelmawla, E. S., Koura, M. M., Maksoud, T. M. A., Elewa, I. M., & Soliman, H. H. (2002).

- Roughness parameters. *Journal of Materials Processing Technology*, 123(1), 133–145. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(02\)00060-2](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(02)00060-2)
- Galia, C. R., Lourenço, A. L., Rosito, R., Souza Macedo, C. A., & Camargo, L. M. A. Q. (2011). PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF LYOPHILIZED BOVINE BONE GRAFTS. *Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)*, 46(4), 444–451. [https://doi.org/10.1016/S2255-4971\(15\)30260-3](https://doi.org/10.1016/S2255-4971(15)30260-3)
- Gao, C., Hu, X., Hong, Y., Guan, J., & Shen, J. (2003). Photografting of poly(hydroxyethyl acrylate) onto porous polyurethane scaffolds to improve their endothelial cell compatibility. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 14(9), 937–950. <https://doi.org/10.1163/156856203322381429>
- Gao, X., Song, J., Zhang, Y., Xu, X., Zhang, S., Ji, P., & Wei, S. (2016). Bioinspired Design of Polycaprolactone Composite Nanofibers as Artificial Bone Extracellular Matrix for Bone Regeneration Application. *ACS Appl Mater Interfaces*, 8(41), 27594–27610. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b10417>
- Gassner, R., Tuli, T., Hachl, O., Rudisch, A., & Ulmer, H. (2003). Cranio-maxillofacial trauma: a 10 year review of 9,543 cases with 21,067 injuries. *J Craniomaxillofac Surg*, 31(1), 51–61. [https://doi.org/10.1016/s1010-5182\(02\)00168-3](https://doi.org/10.1016/s1010-5182(02)00168-3)
- Gazdag, A. R., Lane, J. M., Glaser, D., & Forster, R. A. (1995). Alternatives to Autogenous Bone Graft: Efficacy and Indications. *J Am Acad Orthop Surg*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.5435/00124635-199501000-00001>
- Gentile, M. A., Tellington, A. J., Burke, W. J., & Jaskolka, M. S. (2013). Management of midface maxillofacial trauma. *Atlas Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 21(1), 69–95. <https://doi.org/10.1016/j.cxom.2012.12.010>
- Gerritsen, A. E., Allen, P. F., Witter, D. J., Bronkhorst, E. M., & Creugers, N. H. J. (2010). Tooth loss and oral health-related quality of life: a systematic review and meta-analysis. *Health and Quality of Life Outcomes*, 8(1), 126. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-8-126>
- Ghobeira, R., Philips, C., Declercq, H., Cools, P., De Geyter, N., Cornelissen, R., & Morent, R. (2017). Effects of different sterilization methods on the physico-chemical and bioresponsive properties of plasma-treated polycaprolactone films. *Biomed Mater*, 12(1), 15017. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa51d5>
- Ghobeira, Rouba, Philips, C., De Naeyer, V., Declercq, H., Cools, P., De Geyter, N., Cornelissen, R., & Morent, R. (2017). *Comparative Study of the Surface Properties and*

Cytocompatibility of Plasma-Treated Poly-ε-Caprolactone Nanofibers Subjected to Different Sterilization Methods. <https://doi.org/info:doi/10.1166/jbn.2017.2377>

- Ghoreishian, M., Rezaei, M., Beni, B. H., Javanmard, S. H., Attar, B. M., & Zalzal, H. (2013). Facial nerve repair with Gore-Tex tube and adipose-derived stem cells: An animal study in dogs. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 71(3), 577–587. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.05.025>
- Ginsac, N., Chenal, J. M., Meille, S., Pacard, E., Zenati, R., Hartmann, D. J., & Chevalier, J. (2011). Crystallization processes at the surface of polylactic acid-bioactive glass composites during immersion in simulated body fluid. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 99(2), 412–419. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31913>
- Giovani, A. M. M., Croci, A. T., Oliveira, C. R. G. C. M., Filippi, R. Z., Santos, L. A. U., Maragni, G. G., & Albhy, T. M. (2006). Comparative study of cryopreserved bone tissue and tissue preserved in a 98% glycerol solution. *Clinics*, 61(6), 565–570. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322006000600013>
- Golecki, H. M., Yuan, H., Glavin, C., Potter, B., Badrossamay, M. R., Goss, J. A., Phillips, M. D., & Parker, K. K. (2014). Effect of solvent evaporation on fiber morphology in rotary jet spinning. *Langmuir*, 30(44), 13369–13374. <https://doi.org/10.1021/la5023104>
- Gordon, C. M., Zemel, B. S., Wren, T. A. L., Leonard, M. B., Bachrach, L. K., Rauch, F., Gilsanz, V., Rosen, C. J., & Winer, K. K. (2017). The Determinants of Peak Bone Mass. *Journal of Pediatrics*, 180, 261–269. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.056>
- Gorna, K., & Gogolewski, S. (2003). Preparation, degradation, and calcification of biodegradable polyurethane foams for bone graft substitutes. *J Biomed Mater Res A*, 67(3), 813–827. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.10148>
- Greiner, A., & Wendorff, J. H. (2007). Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angewandte Chemie - International Edition*, 46(30), 5670–5703. <https://doi.org/10.1002/anie.200604646>
- Grottkau, B. E., & Lin, Y. (2013). Osteogenesis of Adipose-Derived Stem Cells. *Bone Research*, 1, 133–145. <https://doi.org/10.4248/BR201302003>
- Guignot, C., Betz, N., Legendre, B., Le Moel, A., & Yagoubi, N. (2001). Degradation of segmented poly(etherurethane) Tecoflex® induced by electron beam irradiation: Characterization and evaluation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 185(1), 100–107. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-583X\(01\)00850-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-583X(01)00850-3)

- Guo, B., & Ma, P. X. (2018). Conducting Polymers for Tissue Engineering. *Biomacromolecules*, 19(6), 1764–1782. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b00276>
- Halberstadt, C., Austin, C., Rowley, J., Culberson, C., Loeb sack, A., Wyatt, S., Coleman, S., Blacksten, L., Burg, K., Mooney, D., Mooney, D., & Holder, W. (2002). A hydrogel material for plastic and reconstructive applications injected into the subcutaneous space of a sheep. *Tissue Engineering*, 8(2), 309–319. <https://doi.org/10.1089/107632702753725067>
- Han, T. T. Y., Toutounji, S., Amsden, B. G., & Flynn, L. E. (2015). Adipose-derived stromal cells mediate in vivo adipogenesis, angiogenesis and inflammation in decellularized adipose tissue bioscaffolds. *Biomaterials*, 72, 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.08.053>
- Han, Y., Li, S., Cao, X., Yuan, L., Wang, Y., Yin, Y., Qiu, T., Dai, H., & Wang, X. (2014). Different inhibitory effect and mechanism of hydroxyapatite nanoparticles on normal cells and cancer cells in vitro and in vivo. *Scientific Reports*, 4. <https://doi.org/10.1038/srep07134>
- Hassanajili, S., Karami-Pour, A., Oryan, A., & Talaei-Khozani, T. (2019). Preparation and characterization of PLA/PCL/HA composite scaffolds using indirect 3D printing for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 109960. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.109960>
- Hattori, H., Sato, M., Masuoka, K., Ishihara, M., Kikuchi, T., Matsui, T., Takase, B., Ishizuka, T., Kikuchi, M., Fujikawa, K., Fujikawa, K., & Ishihara, M. (2004). Osteogenic potential of human adipose tissue-derived stromal cells as an alternative stem cell source. *Cells Tissues Organs*, 178(1), 2–12. <https://doi.org/10.1159/000081088>
- He, X., Wang, Y., & Wu, G. (2012). Layer-by-layer assembly of type I collagen and chondroitin sulfate on aminolyzed PU for potential cartilage tissue engineering application. *Applied Surface Science*, 258(24), 9918–9925. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2012.06.051>
- Hench, L. L., & Thompson, I. (2010). Twenty-first century challenges for biomaterials. *Journal of The Royal Society Interface*, 7(suppl_4), S379–S391. <https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0151.focus>
- Heo, S. J., Kim, S. E., Wei, J., Hyun, Y. T., Yun, H. S., Kim, D. H., & Shin, J. W. (2009). Fabrication and characterization of novel nano- and micro-HA/PCL composite scaffolds using a modified rapid prototyping process. *J Biomed Mater Res A*, 89(1), 108–116.

<https://doi.org/10.1002/jbm.a.31726>

- Heydari, Z., Mohebbi-Kalhari, D., & Afarani, M. S. (2017). Engineered electrospun polycaprolactone (PCL)/octacalcium phosphate (OCP) scaffold for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 81, 127–132. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.07.041>
- Hicok, K. C., Du Laney, T. V., Zhou, Y. S., Halvorsen, Y.-D. C., Hitt, D. C., Cooper, L. F., & Gimble, J. M. (2004). Human Adipose-Derived Adult Stem Cells Produce Osteoid in Vivo. *Tissue Engineering*, 10(3–4), 371–380. <https://doi.org/10.1089/107632704323061735>
- Ho-Shui-Ling, A., Bolander, J., Rustom, L. E., Johnson, A. W., Luyten, F. P., & Picart, C. (2018). Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. *Biomaterials*, 180, 143–162. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2018.07.017>
- Holmes, J. D., Johnston, K. P., Doty, R. C., & Korgel, B. A. (2000). *Control of Thickness and Orientation of Solution-Grown Silicon Nanowires*. <https://doi.org/10.1126/science.287.5457.1471>
- Hou, Y., Chen, J., Sun, P., Gan, Z., & Zhang, G. (2007). In situ investigations on enzymatic degradation of poly(ϵ -caprolactone). *Polymer*, 48(21), 6348–6353. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2007.08.054>
- Hrubovčáková, M., Kupková, M., Džupon, M., Giretová, M., Medvecký, L., & Džunda, R. (2017). Biodegradable polylactic acid and polylactic acid/hydroxyapatite coated iron foams for bone replacement materials. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(12), 11122–11136. <https://doi.org/10.20964/2017.12.53>
- Huang, J., Virji, S., Weiller, B. H., & Kaner, R. B. (2004). Nanostructured polyaniline sensors. *Chemistry*, 10(6), 1314–1319. <https://doi.org/10.1002/chem.200305211>
- Huang, Z. M., Zhang, Y. Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63(15), 2223–2253. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(03\)00178-7](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(03)00178-7)
- Hussain, F., Hojjati, M., Okamoto, M., & Gorga, R. E. (2006). Review article: Polymer-matrix Nanocomposites, Processing, Manufacturing, and Application: An Overview. *Journal of Composite Materials*, 40(17), 1511–1575. <https://doi.org/10.1177/0021998306067321>

- Hussain, K., Wijetunge, D. B., Grubnic, S., & Jackson, I. T. (1994). A comprehensive analysis of craniofacial trauma. *J Trauma*, 36(1), 34–47. <https://doi.org/10.1097/00005373-199401000-00006>
- Hutchison, I. L., Magennis, P., Shepherd, J. P., & Brown, A. E. (1998). The BAOMS United Kingdom survey of facial injuries part 1: aetiology and the association with alcohol consumption. British Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 36(1), 3–13. [https://doi.org/10.1016/s0266-4356\(98\)90739-2](https://doi.org/10.1016/s0266-4356(98)90739-2)
- Iida, S., Hassfeld, S., Reuther, T., Schweigert, H.-G., Haag, C., Klein, J., & Mühling, J. (2003). Maxillofacial fractures resulting from falls. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 31(5), 278–283. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1010-5182\(03\)00069-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1010-5182(03)00069-6)
- Istanbullu, H., Ahmed, S., Sheraz, M. A., & Rehman, I. U. (2013). Development and characterization of novel polyurethane films impregnated with tolfenamic acid for therapeutic applications. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/178973>
- Jadvar, H., Gamie, S., Ramanna, L., & Conti, P. S. (2004). Musculoskeletal system. *Seminars in Nuclear Medicine*, 34(4), 254–261. <https://doi.org/10.1053/j.semnuclmed.2004.06.002>
- Jaganathan, S. K., Prasath Mani, M., Ayyar, M., & Rathanasamy, R. (2019). Biomimetic electrospun polyurethane matrix composites with tailor made properties for bone tissue engineering scaffolds. *Polymer Testing*, 78, 105955. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105955>
- James, R., & Laurencin, C. T. (2016). Nanofiber technology: its transformative role in nanomedicine. *Nanomedicine (Lond)*, 11(12), 1499–1501. <https://doi.org/10.2217/nnm.16.44>
- Javidi, H., & Yadollahie, M. (2012). Post-traumatic stress disorder. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 3(1), 2–9.
- Jeon, H J, Simon, C. G., & Kim, G. H. (2014). A mini-review: Cell response to microscale, nanoscale, and hierarchical patterning of surface structure. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 102(7), 1580–1594. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33158>
- Jeon, Ho Jun, Lee, M., Yun, S., Kang, D., Park, K. ho, Choi, S., Choi, E., Jin, S., Shim, J. H.,

- Yun, W. S., Yoon, B. J., & Park, J. (2019). Fabrication and characterization of 3D-printed biocomposite scaffolds based on PCL and silanated silica particles for bone tissue regeneration. *Chemical Engineering Journal*, 360, 519–530. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.176>
- Johnell, O., & Kanis, J. A. (2006). An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*, 17(12), 1726–1733. <https://doi.org/10.1007/s00198-006-0172-4>
- Jovino-Silveira, R. C., Caldas, A. F., de Souza, E. H. A., & Gusmão, E. S. (2005). Primary reason for tooth extraction in a brazilian adult population. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 3(3), 151–157. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.a10638>
- Jung, J. H., Ree, M., & Kim, H. (2006). Acid- and base-catalyzed hydrolyses of aliphatic polycarbonates and polyesters. *Catalysis Today*, 115(1–4), 283–287. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2006.02.060>
- Kaavessina, M., Khanifatun, F., Ali, I., & Alzahrani, S. M. (2013). In-vitro biodegradability of poly(lactic acid)/hydroxyapatite biocomposites prepared by solvent-blending technique. In *Advanced Materials Research* (Vol. 626, pp. 631–635). <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.626.631>
- Kalajzic, I., Matthews, B. G., Torreggiani, E., Harris, M. A., Divieti Pajevic, P., & Harris, S. E. (2013). In vitro and in vivo approaches to study osteocyte biology. *Bone*, 54(2), 296–306. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.09.040>
- Kang, Y., Wang, C., Shi, X., Zhang, G., Chen, P., & Wang, J. (2018). Crystallization, rheology behavior, and antibacterial application of graphene oxide-graft-poly (l-lactide)/poly (l-lactide) nanocomposites. *Applied Surface Science*, 451, 315–324. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.04.271>
- Keane, T. J., & Badylak, S. F. (2014). Biomaterials for tissue engineering applications. *Seminars in Pediatric Surgery*, 23(3), 112–118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2014.06.010>
- Keivani, F., Shokrollahi, P., Zandi, M., Irani, S., Shokrolahi, F., & Khorasani, S. C. (2016). Engineered electrospun poly(caprolactone)/polycaprolactone-g-hydroxyapatite nanofibrous scaffold promotes human fibroblasts adhesion and proliferation. *Materials Science and Engineering C*, 68, 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.05.098>
- Keller, J. M., Sciadini, M. F., Sinclair, E., & O'Toole, R. V. (2012). Geriatric trauma:

- demographics, injuries, and mortality. *J Orthop Trauma*, 26(9), e161-5. <https://doi.org/10.1097/BOT.0b013e3182324460>
- Kim, H. W., Knowles, J. C., & Kim, H. E. (2004). Hydroxyapatite/poly(ϵ -caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. *Biomaterials*, 25(7–8), 1279–1287. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.07.003>
- Kim, J. (2014). Flood management in Sahn-Jee Stream and Cheon-Mee Stream of Jeju. *J. Disaster Prev*, 16, 16–19.
- Kim, J. I., Hwang, T. I., Aguilar, L. E., Park, C. H., & Kim, C. S. (2016). A Controlled Design of Aligned and Random Nanofibers for 3D Bi-functionalized Nerve Conduits Fabricated via a Novel Electrospinning Set-up. *Scientific Reports*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/doi:10.1038/srep23761>
- Kneser, U., Schaefer, D. J., Polykandriotis, E., & Horch, R. E. (2006). Tissue engineering of bone: the reconstructive surgeon's point of view. *J Cell Mol Med*, 10(1), 7–19. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2006.tb00287.x>
- Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907–2915. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>
- Kong, L., Gao, Y., Lu, G., Gong, Y., Zhao, N., & Zhang, X. (2006). A study on the bioactivity of chitosan/nano-hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *European Polymer Journal*, 42(12), 3171–3179. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2006.08.009>
- Krug, E. G., & Team, W. H. O. V. and I. P. (1999). *Injury : a leading cause of the global burden of disease / edited by E. Krug*. <https://doi.org/https://apps.who.int/iris/handle/10665/66160>
- Kumar, A., Negi, Y. S., Choudhary, V., & Bhardwaj, N. K. (2014). Microstructural and mechanical properties of porous biocomposite scaffolds based on polyvinyl alcohol, nano-hydroxyapatite and cellulose nanocrystals. *Cellulose*, 21(5), 3409–3426. <https://doi.org/10.1007/s10570-014-0339-7>
- Kumar, S., Nehra, M., Kedia, D., Dilbaghi, N., Tankeshwar, K., & Kim, K.-H. (2020). Nanotechnology-based biomaterials for orthopaedic applications: Recent advances and future prospects. *Materials Science and Engineering: C*, 106, 110154. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110154>

- Lakshman, L. R., Shalumon, K. T., Nair, S. V., Jayakumar, R., & Nair, S. V. (2010). Preparation of Silver Nanoparticles Incorporated Electrospun Polyurethane Nano-fibrous Mat for Wound Dressing. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/10601325.2010.508001*. <https://doi.org/10.1080/10601325.2010.508001>. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, Vol. 47, No. 10, October 2010, pp. 1012–1018
- Lao, L., Wang, Y., Zhu, Y., Zhang, Y., & Gao, C. (2011). Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite nanofibrous scaffolds fabricated by electrospinning for bone tissue engineering. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22(8), 1873–1884. <https://doi.org/10.1007/s10856-011-4374-8>
- Lee, A., Brown, D., & Wang, H.-L. (2009). Sandwich bone augmentation for predictable horizontal bone augmentation. *Implant Dentistry*, 18(4), 282–290. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3181ad8c6c>
- Lee, C.-Y., Chang, Y.-Y., Shieh, T.-Y., & Chang, C.-S. (2015). Reasons for permanent tooth extractions in Taiwan. *Asia-Pacific Journal of Public Health*, 27(2), NP2350–NP2357. <https://doi.org/10.1177/1010539512448814>
- Lee, H., Hwang, H., Kim, Y., Jeon, H., & Kim, G. (2014). Physical and bioactive properties of multi-layered PCL/silica composite scaffolds for bone tissue regeneration. *Chemical Engineering Journal*, 250, 399–408. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.04.009>
- Lee, S., Goh, B. T., Tideman, H., & Stoelinga, P. J. W. (2008). Modular endoprosthesis for mandibular reconstruction: A preliminary animal study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 37(10), 935–942. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2008.07.021>
- Leong, K. F., Chua, C. K., Sudarmadji, N., & Yeong, W. Y. (2008). Engineering functionally graded tissue engineering scaffolds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1(2), 140–152. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2007.11.002>
- Lesolang, R. R., Motloba, D. P., & Lalloo, R. (2009). Patterns and reasons for tooth extraction at the Winterveldt Clinic: 1998-2002. *SADJ: Journal of the South African Dental Association = Tydskrif van Die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging*, 64(5).
- Li, D., Sun, H., Jiang, L., Zhang, K., Liu, W., Zhu, Y., Fangteng, J., Shi, C., Zhao, L., & Yang, B. (2014). Enhanced biocompatibility of PLGA nanofibers with gelatin/nano-hydroxyapatite bone biomimetics incorporation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 6(12), 9402–9410. <https://doi.org/10.1021/am5017792>
- Li, J. J., Dunstan, C. R., Entezari, A., Li, Q., Steck, R., Saifzadeh, S., Sadeghpour, A., Field, J.

- R., Akey, A., Vielreicher, M., Friedrich, O., Roohani-Esfahani, S. I., & Zreiqat, H. (2019). A Novel Bone Substitute with High Bioactivity, Strength, and Porosity for Repairing Large and Load-Bearing Bone Defects. *Adv Healthc Mater*, 8(8), e1801298. <https://doi.org/10.1002/adhm.201801298>
- Li, J, Baker, B. A., Mou, X., Ren, N., Qiu, J., Boughton, R. I., & Liu, H. (2014). Biopolymer/Calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering. *Adv Healthc Mater*, 3(4), 469–484. <https://doi.org/10.1002/adhm.201300562>
- Li, Jiashen, Chen, Y., Mak, A. F. T., Tuan, R. S., Li, L., & Li, Y. (2010). A one-step method to fabricate PLLA scaffolds with deposition of bioactive hydroxyapatite and collagen using ice-based microporogens. *Acta Biomaterialia*, 6(6), 2013–2019. <https://doi.org/10.1016/J.ACTBIO.2009.12.008>
- Li, X, Liu, H., Wang, J., & Li, C. (2012). Preparation and characterization of PLLA/nHA nonwoven mats via laser melt electrospinning. *Materials Letters*, 73, 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.12.108>
- Li, Xiuyan, Liu, H., Wang, J., & Li, C. (2012). Preparation and characterization of PLLA/nHA nonwoven mats via laser melt electrospinning. *Materials Letters*, 73, 103–106. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2011.12.108>
- Liao, C., & Zhou, J. (2014). Replica-exchange molecular dynamics simulation of basic fibroblast growth factor adsorption on hydroxyapatite. *Journal of Physical Chemistry B*, 118(22), 5843–5852. <https://doi.org/10.1021/jp501463r>
- Liao, G., Jiang, S., Xu, X., & Ke, Y. (2012a). Electrospun aligned PLLA/PCL/HA composite fibrous membranes and their in vitro degradation behaviors. *Materials Letters*, 82, 159–162. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.05.085>
- Liao, G., Jiang, S., Xu, X., & Ke, Y. (2012b). Electrospun aligned PLLA/PCL/HA composite fibrous membranes and their in vitro degradation behaviors. *Materials Letters*, 82, 159–162. <https://doi.org/10.1016/J.MATLET.2012.05.085>
- Liu, Q., Ding, J., Mante, F. K., Wunder, S. L., & Baran, G. R. (2002). The role of surface functional groups in calcium phosphate nucleation on titanium foil: A self-assembled monolayer technique. *Biomaterials*, 23(15), 3103–3111. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00050-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00050-9)
- LiuXinhui, ZhuChao, LiYijiong, YanYueling, HouChuanyong, WangHua, YangYelin, GuanGuoping, & FengQingling. (2015). *The preparation and in vitro evaluations of a nanoscaled injectable bone repair material*. <https://doi.org/9>

- Liuyun, J., Chengdong, X., Lixin, J., & Lijuan, X. (2013). Degradation behavior of hydroxyapatite/poly(lactic-co-glycolic) acid nanocomposite in simulated body fluid. *Materials Research Bulletin*, 48(10), 4186–4190. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2013.06.074>
- Lobo Gajiwala, A., Agarwal, M., Puri, A., D'Lima, C., & Duggal, A. (2003). Reconstructing tumour defects: lyophilised, irradiated bone allografts. *Cell Tissue Bank*, 4(2–4), 109–118. <https://doi.org/10.1023/b:catb.0000007029.35287.37>
- Loh, Q. L., & Choong, C. (2013). Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*, 19(6), 485–502. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2012.0437>
- Lovmand, J., Justesen, J., Foss, M., Lauridsen, R. H., Lovmand, M., Modin, C., Besenbacher, F., Pedersen, F. S., & Duch, M. (2009). The use of combinatorial topographical libraries for the screening of enhanced osteogenic expression and mineralization. *Biomaterials*, 30(11), 2015–2022. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.12.081>
- Lü, X., Fan, Y., Gu, D., & Cui, W. (2007). Preparation and characterization of natural hydroxyapatite from animal hard tissues. In *Key Engineering Materials* (Vols. 342–343, pp. 213–216). <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-34147140099&partnerID=40&md5=b05b275eda1989595ab17ce5787f7b79>
- Lumelsky, N. L. (2007). Commentary: engineering of tissue healing and regeneration. *Tissue Eng*, 13(7), 1393–1398. <https://doi.org/10.1089/ten.2007.0100>
- Lye, K. W., Chin, F. K. C., Tideman, H., Merkkx, M. A. W., & Jansen, J. A. (2013). Effect of postoperative radiation therapy on mandibular reconstruction using a modular endoprosthesis - A pilot study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 41(6), 487–495. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2012.11.014>
- Lyons, R. A., Finch, C. F., McClure, R., van Beeck, E., & Macey, S. (2010). The injury List of All Deficits (LOAD) Framework--conceptualizing the full range of deficits and adverse outcomes following injury and violence. *Int J Inj Contr Saf Promot*, 17(3), 145–159. <https://doi.org/10.1080/17457300903453104>
- Ma, B., Han, J., Zhang, S., Liu, F., Wang, S., Duan, J., Sang, Y., Jiang, H., Li, D., Ge, S., Yu, J., & Liu, H. (2018). Hydroxyapatite nanobelt/polylactic acid Janus membrane with osteoinduction/barrier dual functions for precise bone defect repair. *Acta Biomater*, 71, 108–117. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.02.033>

- Ma, B., Zhang, S., Liu, R., Qiu, J., Zhao, L., Wang, S., Li, J., Sang, Y., Jiang, H., & Liu, H. (2017). Prolonged fluorescence lifetime of carbon quantum dots by combining with hydroxyapatite nanorods for bio-applications. *Nanoscale*, 9(6), 2162–2171. <https://doi.org/10.1039/c6nr05983j>
- Mahalingam, S., & Edirisinghe, M. (2013). Forming of polymer nanofibers by a pressurised gyration process. *Macromol Rapid Commun*, 34(14), 1134–1139. <https://doi.org/10.1002/marc.201300339>
- Mahalingam, S., Homer-Vanniasinkam, S., & Edirisinghe, M. (2019). Novel pressurised gyration device for making core-sheath polymer fibres. *Materials & Design*, 178, 107846. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.107846>
- Majambo, M. H., Sasi, R. M., Mumena, C. H., Museminari, G., Nzamukosha, J., Nzeyimana, A., & Rutaganda, E. (2013). Prevalence of Oral and Maxillofacial Injuries among Patients Managed at a Teaching Hospital in Rwanda. 2. <https://doi.org/https://www.ajol.info/index.php/rjhs/article/view/98513>
- Mamede, A. C., Carvalho, M. J., Abrantes, A. M., Laranjo, M., Maia, C. J., & Botelho, M. F. (2012). Amniotic membrane: From structure and functions to clinical applications. *Cell and Tissue Research*, 349(2), 447–458. <https://doi.org/10.1007/s00441-012-1424-6>
- Mandracci, P., Mussano, F., Rivolo, P., & Carossa, S. (2016). Surface Treatments and Functional Coatings for Biocompatibility Improvement and Bacterial Adhesion Reduction in Dental Implantology. *Coatings*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/coatings6010007>
- Mano, J. F., Silva, G. A., Azevedo, H. S., Malafaya, P. B., Sousa, R. A., Silva, S. S., Boesel, L. F., Oliveira, J. M., Santos, T. C., Marques, A. P., Neves, N. M., & Reis, R. L. (2007). Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. *J R Soc Interface*, 4(17), 999–1030. <https://doi.org/10.1098/rsif.2007.0220>
- Mansuri, F. A., Al-Zalabani, A. H., Zalat, M. M., & Qabshawi, R. I. (2015). Road safety and road traffic accidents in Saudi Arabia. A systematic review of existing evidence. *Saudi Med J*, 36(4), 418–424. <https://doi.org/10.15537/smj.2015.4.10003>
- Marcenes, W., Kassebaum, N. J., Bernabé, E., Flaxman, A., Naghavi, M., Lopez, A., & Murray, C. J. L. (2013). Global burden of oral conditions in 1990-2010: A systematic analysis. *Journal of Dental Research*, 92(7), 592–597. <https://doi.org/10.1177/0022034513490168>

- Marciani, R. D. (1999). Critical systemic and psychosocial considerations in management of trauma in the elderly. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 87(3), 272–280. [https://doi.org/10.1016/s1079-2104\(99\)70208-8](https://doi.org/10.1016/s1079-2104(99)70208-8)
- Martin, V., & Bettencourt, A. (2018). Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties. *Materials Science and Engineering: C*, 82, 363–371. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2017.04.038>
- Marycz, K., Smieszek, A., Targonska, S., Walsh, S. A., Szustakiewicz, K., & Wiglusz, R. J. (2020). Three dimensional (3D) printed polylactic acid with nano-hydroxyapatite doped with europium(III) ions (nHAp/PLLA@Eu³⁺) composite for osteochondral defect regeneration and theranostics. *Materials Science and Engineering: C*, 110, 110634. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2020.110634>
- Mathers, C. D., Vos, E. T., Stevenson, C. E., & Begg, S. J. (2001). The burden of disease and injury in Australia. *Bull World Health Organ*, 79(11), 1076–1084. <http://dx.doi.org/>
- McCormick, R. S., & Putnam, G. (2018). The management of facial trauma. *Surgery (Oxford)*, 36(10), 587–594. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2018.09.012>
- McGinnis, M., Larsen, P., Miloro, M., & Michael Beck, F. (1998). Comparison of Resorbable and Nonresorbable Guided Bone Regeneration Materials: A Preliminary Study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 13(1), 30–35.
- Mellado, P., McIlwee, H. A., Badrossamay, M. R., Goss, J. A., Mahadevan, L., & Parker, K. K. (2011). A simple model for nanofiber formation by rotary jet-spinning. *Applied Physics Letters*, 99(20), 203107. <https://doi.org/10.1063/1.3662015>
- Mellonig, J. T., Nevins, M., & Sanchez, R. (1998). Evaluation of a Bioabsorbable Physical Barrier for Guided Bone Regeneration. Part II. Material and a Bone Replacement Graft. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*, 18(2), 139–149.
- Merolli, A. (2019). Bone repair biomaterials in orthopedic surgery. In *Bone Repair Biomaterials* (pp. 301–327). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102451-5.00011-1>
- Milinkovic, I., & Cordaro, L. (2014). Are there specific indications for the different alveolar bone augmentation procedures for implant placement? A systematic review. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(5), 606–625. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.12.004>

- Miller, J. R., Hocking, A. M., Brown, J. D., & Moon, R. T. (1999). Mechanism and function of signal transduction by the Wnt/B-catenin and Wnt/Ca²⁺ pathways. *Oncogene*, 18(55), 7860–7872. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203245>
- Misch, C. M. (2010). Autogenous bone: Is it still the gold standard? *Implant Dentistry*, 19(5), 361. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3181f8115b>
- Misra, R. D. K., Thein-Han, W. W., Mali, S. A., Somani, M. C., & Karjalainen, L. P. (2010). Cellular activity of bioactive nanograined/ultrafine-grained materials. *Acta Biomaterialia*, 6(7), 2826–2835. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.12.017>
- Mondal, S., Mondal, A., Mandal, N., Mondal, B., Mukhopadhyay, S. S., Dey, A., & Singh, S. (2014). Physico-chemical characterization and biological response of Labeo rohita-derived hydroxyapatite scaffold. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(7), 1233–1240. <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1095-z>
- Mostafavi, A., Abudula, T., Russell, C. S., Mostafavi, E., Williams, T. J., Salah, N., Alshahrie, A., Harris, S., Basri, S. M. M., Mishra, Y. K., Webster, T. J., Memic, A., & Tamayol, A. (2021). In situ printing of scaffolds for reconstruction of bone defects. *Acta Biomaterialia*, 127, 313–326. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.03.009>
- Munhoz, M. A. S., Hirata, H. H., Plepis, A. M. G., Martins, V. C. A., & Cunha, M. R. (2018). Use of collagen/chitosan sponges mineralized with hydroxyapatite for the repair of cranial defects in rats. *Injury*, 49(12), 2154–2160. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2018.09.018>
- Murphy, W. L., McDevitt, T. C., & Engler, A. J. (2014). Materials as stem cell regulators. *Nat Mater*, 13(6), 547–557. <https://doi.org/10.1038/nmat3937>
- Murray, C. J. L., Vos, T., Lozano, R., Naghavi, M., Flaxman, A. D., Michaud, C., Ezzati, M., Shibuya, K., Salomon, J. A., Abdalla, S., Zonies, D., & Lopez, A. D. (2012). Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, 380(9859), 2197–2223. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61689-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61689-4)
- Musacchio, E., Perissinotto, E., Binotto, P., Sartori, L., Silva-Netto, F., Zambon, S., Manzato, E., Corti, M. C., Baggio, G., & Crepaldi, G. (2007). Tooth loss in the elderly and its association with nutritional status, socio-economic and lifestyle factors. *Acta Odontologica Scandinavica*, 65(2), 78–86. <https://doi.org/10.1080/00016350601058069>

- Nadkarni, J. B., Iyengar, K. P., Dussa, C., Watwe, S., & Vishwanath, K. (2005). Orthopaedic injuries following falls by hospital in-patients. *Gerontology*, 51(5), 329–333. <https://doi.org/10.1159/000086370>
- Natta, F. J. van, Hill, J. W., & Carothers, W. H. (2002). *Studies of Polymerization and Ring Formation. XXIII.1 ϵ -Caprolactone and its Polymers*. <https://doi.org/10.1021/ja01317a053>
- Navarro, M., Michiardi, A., Castano, O., & Planell, J. A. (2008). Biomaterials in orthopaedics. *J R Soc Interface*, 5(27), 1137–1158. <https://doi.org/10.1098/rsif.2008.0151>
- Nazir, F., Iqbal, M., Khan, A. N., Mazhar, M., & Hussain, Z. (2021). Fabrication of robust poly l-lactic acid/cyclic olefinic copolymer (PLLA/COC) blends: study of physical properties, structure, and cytocompatibility for bone tissue engineering. *Journal of Materials Research and Technology*, 13, 1732–1751. <https://doi.org/10.1016/J.JMRT.2021.05.073>
- Ngiam, M., Liao, S., Patil, A. J., Cheng, Z., Chan, C. K., & Ramakrishna, S. (2009). The fabrication of nano-hydroxyapatite on PLGA and PLGA/collagen nanofibrous composite scaffolds and their effects in osteoblastic behavior for bone tissue engineering. *Bone*, 45(1), 4–16. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.03.674>
- Nijst, C. L. E., Bruggeman, J. P., Karp, J. M., Ferreira, L., Zumbuehl, A., Bettinger, C. J., & Langer, R. (2007). Synthesis and characterization of photocurable elastomers from poly(glycerol-co-sebacate). *Biomacromolecules*, 8(10), 3067–3073. <https://doi.org/10.1021/bm070423u>
- Niu, Y., Chen, K. C., He, T., Yu, W., Huang, S., & Xu, K. (2014). Scaffolds from block polyurethanes based on poly(varepsilon-caprolactone) (PCL) and poly(ethylene glycol) (PEG) for peripheral nerve regeneration. *Biomaterials*, 35(14), 4266–4277. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.013>
- O'Brien, F. J. (2011). Biomaterials & scaffolds for tissue engineering. *Materials Today*, 14(3), 88–95. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
- Oh, B., & Lee, C. H. (2013). Nanofiber for cardiovascular tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv*, 10(11), 1565–1582. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.830608>
- Oh, S. H., Kang, S. G., Kim, E. S., Cho, S. H., & Lee, J. H. (2003). Fabrication and characterization of hydrophilic poly(lactic-co-glycolic acid)/poly(vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method. *Biomaterials*, 24(22), 4011–4021. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00284-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00284-9)

- Okamoto, K., Uchida, S., Ito, T., & Mizuno, N. (2007). Self-organization of all-inorganic dodecatungstophosphate nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society*, 129(23), 7378–7384. <https://doi.org/10.1021/ja070694c>
- Oliveira, M. S. N., Yeh, R., & McKinley, G. H. (2006). Iterated stretching, extensional rheology and formation of beads-on-a-string structures in polymer solutions. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1), 137–148. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jnnfm.2006.01.014>
- Ong, J. L., & Chan, D. C. N. (2000). Hydroxyapatite and their use as coatings in dental implants: A review. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 28(5–6), 667–707. <https://doi.org/10.1615/CritRevBiomedEng.v28.i56.10>
- Pan, H., Zheng, Q., Yang, S., & Guo, X. (2014). Effects of functionalization of PLGA-[Asp-PEG]_n copolymer surfaces with Arg-Gly-Asp peptides, hydroxyapatite nanoparticles, and BMP-2-derived peptides on cell behavior in vitro. *J Biomed Mater Res A*, 102(12), 4526–4535. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35129>
- Pan, R. H., Chang, N. T., Chu, D., Hsu, K. F., Hsu, Y. N., Hsu, J. C., Tseng, L. Y., & Yang, N. P. (2014). Epidemiology of orthopedic fractures and other injuries among inpatients admitted due to traffic accidents: a 10-year nationwide survey in Taiwan. *ScientificWorldJournal*, 2014, 637872. <https://doi.org/10.1155/2014/637872>
- Pandiyaraj, K. N., Ghobeira, R., Esbah Tabaei, P. S., Cools, P., De Geyter, N., Morent, R., & Deshmukh, R. R. (2021). Non-thermal plasma jet-assisted development of phosphorus-containing functional coatings on 3D-printed PCL scaffolds intended for bone tissue engineering. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 154, 110025. <https://doi.org/10.1016/J.JPCS.2021.110025>
- Park, S. H., Park, D. S., Shin, J. W., Kang, Y. G., Kim, H. K., & Yoon, T. R. (2012). Scaffolds for bone tissue engineering fabricated from two different materials by the rapid prototyping technique: PCL versus PLGA. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23(11), 2671–2678. <https://doi.org/10.1007/s10856-012-4738-8>
- Patel, A., Mukundan, S., Wang, W., Karumuri, A., Sant, V., Mukhopadhyay, S. M., & Sant, S. (2016). Carbon-based hierarchical scaffolds for myoblast differentiation: Synergy between nano-functionalization and alignment. *Acta Biomaterialia*, 32, 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.01.004>
- Peng, F., Shaw, M. T., Olson, J. R., & Wei, M. (2013). Influence of surface treatment and

- biomimetic hydroxyapatite coating on the mechanical properties of hydroxyapatite/poly(L-lactic acid) fibers. *J Biomater Appl*, 27(6), 641–649. <https://doi.org/10.1177/0885328211419873>
- Peng, H., Wang, J., Lv, S., Wen, J., & Chen, J. F. (2015). Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles prepared by a high-gravity precipitation method. *Ceramics International*, 41(10), 14340–14349. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.07.067>
- Pereira Rodrigues, I. C., Tamborlin, L., Rodrigues, A. A., Jardini, A. L., Ducati Luchessi, A., Maciel Filho, R., Najar Lopes, É. S., & Pellizzer Gabriel, L. (2020). Polyurethane fibrous membranes tailored by rotary jet spinning for tissue engineering applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(11), 48455. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.48455>
- Peres, M. A., Tsakos, G., Barbato, P. R., Silva, D. A. S., & Peres, K. G. (2012). Tooth loss is associated with increased blood pressure in adults - A multidisciplinary population-based study. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(9), 824–833. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01916.x>
- Petite, H., Viateau, V., Bensaid, W., Meunier, A., de Pollak, C., Bourguignon, M., Oudina, K., Sedel, L., & Guillemain, G. (2000). Tissue-engineered bone regeneration. *Nat Biotechnol*, 18(9), 959–963. <https://doi.org/10.1038/79449>
- Pham Dang, N., Barthélémy, I., & Bekara, F. (2019). From rigid bone plate fixation to stable dynamic osteosynthesis in mandibular and craniomaxillo-facial surgery: Historical evolution of concepts and technical developments. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, 120(3), 229–233. <https://doi.org/10.1016/J.JORMAS.2019.01.011>
- PHILIPSEN, & H. (2005). Odontogenic tumours. *WHO Classification of Head and Neck Tumours*, 283–327. <http://ci.nii.ac.jp/naid/10025927570/en/>
- Polak-Kraśna, K., Abaei, A. R., Shirazi, R. N., Parle, E., Carroll, O., Ronan, W., & Vaughan, T. J. (2021). Physical and mechanical degradation behaviour of semi-crystalline PLLA for bioresorbable stent applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 118, 104409. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104409>
- Prabhakaran, M. P., Venugopal, J., & Ramakrishna, S. (2009). Electrospun nanostructured scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater*, 5(8), 2884–2893. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.05.007>
- Qidwai, M., Sheraz, M. A., Ahmed, S., Alkhuraif, A. A., & Ur Rehman, I. (2014). Preparation and characterization of bioactive composites and fibers for dental applications. *Dental*

Materials, 30(10), e253–e263. <https://doi.org/10.1016/J.DENTAL.2014.05.022>

- Raghavendran, H. R. B., Natarajan, E., Mohan, S., Krishnamurthy, G., Murali, M. R., Parasuraman, S., Singh, S., & Kamarul, T. (2021). The functionalization of the electrospun PLLA fibrous scaffolds reduces the hydrogen peroxide induced cytokines secretion in vitro. *Materials Today Communications*, 26, 101812. <https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2020.101812>
- Rahmani Del Bakhshayesh, A., Annabi, N., Khalilov, R., Akbarzadeh, A., Samiei, M., Alizadeh, E., Alizadeh-Ghodsi, M., Davaran, S., & Montaseri, A. (2018). Recent advances on biomedical applications of scaffolds in wound healing and dermal tissue engineering. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 46(4), 691–705. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1349778>
- Rahmati, M., Pennisi, C. P., Budd, E., Mobasheri, A., & Mozafari, M. (2018). Biomaterials for Regenerative Medicine: Historical Perspectives and Current Trends. *Adv Exp Med Biol*, 1119, 1–19. https://doi.org/10.1007/5584_2018_278
- Raja, S., Byakod, G., & Pudakalkatti, P. (2009). Growth factors in periodontal regeneration. *International Journal of Dental Hygiene*, 7(2), 82–89. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00380.x>
- Rajkumar, M., Sundaram, N. M., & Rajendran, V. (2010). In-situ preparation of hydroxyapatite nanorod embedded poly (vinyl alcohol) composite and its characterization. *Int. J. Eng. Sci. Technol.*, 2(6), 2437–2444.
- Ramakrishna, S., Mayer, J., Wintermantel, E., & Leong, K. W. (2001). Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. *Composites Science and Technology*, 61(9), 1189–1224. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(00\)00241-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0266-3538(00)00241-4)
- Raucci, M. G., Guarino, V., & Ambrosio, L. (2010). Hybrid composite scaffolds prepared by sol-gel method for bone regeneration. *Composites Science and Technology*, 70(13), 1861–1868. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2010.05.030>
- Rezaei, Y., Moztarzadeh, F., Shahabi, S., & Tahriri, M. (2014). Synthesis, characterization, and in vitro bioactivity of sol-gel-derived $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MgO-SrO}$ bioactive glass. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 44(5), 692–701. <https://doi.org/10.1080/15533174.2013.783869>
- Rhee, S.-H., & Tanaka, J. (1999). Effect of citric acid on the nucleation of hydroxyapatite in a

- simulated body fluid. *Biomaterials*, 20(22), 2155–2160. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(99\)00118-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(99)00118-0)
- Ribeiro, C., Sencadas, V., Areias, A. C., Gama, F. M., & Lanceros-Méndez, S. (2015). Surface roughness dependent osteoblast and fibroblast response on poly(L-lactide) films and electrospun membranes. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 103(7), 2260–2268. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35367>
- Righetti, M. C., Gazzano, M., Delpouve, N., & Saiter, A. (2017). Contribution of the rigid amorphous fraction to physical ageing of semi-crystalline PLLA. *Polymer*, 125, 241–253. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.07.089>
- Roberts, T. T., & Rosenbaum, A. J. (2012). Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis*, 8(4), 114–124. <https://doi.org/10.4161/org.23306>
- Rohner, D., Hutmacher, D. W., Cheng, T. K., Oberholzer, M., & Hammer, B. (2003). In vivo efficacy of bone-marrow-coated polycaprolactone scaffolds for the reconstruction of orbital defects in the pig. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 66(2), 574–580. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.10037>
- Sachlos, E., & Czernuszka, J. T. (2003). Making tissue engineering scaffolds work. Review: the application of solid freeform fabrication technology to the production of tissue engineering scaffolds. *Eur Cell Mater*, 5, 29–40. <https://doi.org/10.22203/ecm.v005a03>
- Safadi, A., Kleinman, S., Gigi, D., Wengier, A., Oz, I., Abergel, A., Koren, I., & Ungar, O. J. (2020). Surgical management of odontogenic cysts involving the maxillary sinus- a retrospective study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 48(8), 800–807. <https://doi.org/10.1016/J.JCMS.2020.06.011>
- Samavedi, S., Whittington, A. R., & Goldstein, A. S. (2013). Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cell behavior. *Acta Biomater*, 9(9), 8037–8045. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.014>
- Sánchez-González, D. J., Méndez-Bolaina, E., & Trejo-Bahena, N. I. (2012). Platelet-rich plasma peptides: Key for regeneration. *International Journal of Peptides*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/532519>
- Scaffaro, R., Lopresti, F., & Botta, L. (2017). Preparation, characterization and hydrolytic degradation of PLA/PCL co-mingled nanofibrous mats prepared via dual-jet electrospinning. *European Polymer Journal*, 96, 266–277.

<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.09.016>

- Schlegel, K. A., Fichtner, G., Schultze-Mosgau, S., & Wiltfang, J. (2003). Histologic findings in sinus augmentation with autogenous bone chips versus a bovine bone substitute. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 18(1), 53–58.
- Schneider, O. D., Loher, S., Brunner, T. J., Uebersax, L., Simonet, M., Grass, R. N., Merkle, H. P., & Stark, W. J. (2008). Cotton wool-like nanocomposite biomaterials prepared by electrospinning: In vitro bioactivity and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 84(2), 350–362. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30878>
- Schollenberger, C. S., & Stewart, F. D. (1973). Thermoplastic polyurethane hydrolysis stability. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 29(1), 413–430. <https://doi.org/10.1002/apmc.1973.050290118>
- Schuckert, K. H., Jopp, S., & Teoh, S. H. (2009). Mandibular defect reconstruction using three-dimensional polycaprolactone scaffold in combination with platelet-rich plasma and recombinant human bone morphogenetic protein-2: de novo synthesis of bone in a single case. *Tissue Eng Part A*, 15(3), 493–499. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0033>
- Seeman, E., & Delmas, P. D. (2006). Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *New England Journal of Medicine*, 354(21), 2250–2261. <https://doi.org/10.1056/NEJMr053077>
- Sharma, A., Gupta, A., Rath, G., Goyal, A., Mathur, R. B., & Dhakate, S. R. (2013). *Electrospun composite nanofiber-based transmucosal patch for anti-diabetic drug delivery*. <https://doi.org/10.1039/C3TB20487A>
- Shegarfi, H., & Reikeras, O. (2009). Review article: bone transplantation and immune response. *Journal of Orthopaedic Surgery (Hong Kong)*, 17(2), 206–211. <https://doi.org/10.1177/230949900901700218>
- Shenoy, S. L., Bates, W. D., Frisch, H. L., & Wnek, G. E. (2005). Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer–polymer interaction limit. *Polymer*, 46(10), 3372–3384. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.03.011>
- Shields, L. B. E., Raque, G. H., Glassman, S. D., Campbell, M., Vitaz, T., Harpring, J., & Shields, C. B. (2006). Adverse Effects Associated With High-Dose Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Use in Anterior Cervical Spine Fusion. *Spine*, 31(5). https://journals.lww.com/spinejournal/Fulltext/2006/03010/Adverse_Effects_Associated

_With_High_Dose.9.aspx

- Simion, M., Misitano, U., Gionso, L., & Salvato, A. (1997). Treatment of Dehiscentes and Fenestrations Around Dental Implants Using Resorbable and Nonresorbable Membranes Associated with Bone Autografts: A Comparative Clinical Study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 12(2), 159–167.
- Singh, S., Bray, T. J. P., & Hall-Craggs, M. A. (2018). Quantifying bone structure, micro-architecture, and pathophysiology with MRI. *Clinical Radiology*, 73(3), 221–230. <https://doi.org/10.1016/J.CRAD.2017.12.010>
- Sivakumar, P. M., Cometa, S., Alderighi, M., Prabhawathi, V., Doble, M., & Chiellini, F. (2012). Chalcone embedded polyurethanes as a biomaterial: Synthesis, characterization and antibacterial adhesion. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 353–360. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.061>
- Smith, D., & Sueda, K. (2008). The killing of children by children as a symptom of national crisis: Reactions in Britain and Japan. *Criminology and Criminal Justice*, 8(1), 5–25. <https://doi.org/10.1177/1748895807085867>
- Sohn, H.-S., & Oh, J.-K. (2019). Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries. *Biomaterials Research*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0157-y>
- Soleymani Eil Bakhtiari, S., Karbasi, S., & Toloue, E. B. (2021). Modified poly(3-hydroxybutyrate)-based scaffolds in tissue engineering applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 986–998. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.10.255>
- Song, T., Hu, Y., Cui, Y., He, Z., Zhu, J., Wang, X., & Qiu, Z. (2018). [Application of biomimetic mineralized collagen bone graft material in rabbits posterolateral spinal fusion]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 32(9), 1137–1143. <https://doi.org/10.7507/1002-1892.201804119>
- Souza, D. C. de, Abreu, H. de L. V. de, Oliveira, P. V. de, Capelo, L. P., Passos-Bueno, M. R., & Catalani, L. H. (2019). A fast degrading PLLA composite with a high content of functionalized octacalcium phosphate mineral phase induces stem cells differentiation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 93, 93–104. <https://doi.org/10.1016/J.JMBBM.2019.02.003>
- Spitzer, R. S., Perka, C., Lindenhayn, K., & Zippel, H. (2002). Matrix engineering for osteogenic differentiation of rabbit periosteal cells using alpha-tricalcium phosphate

- particles in a three-dimensional fibrin culture. *J Biomed Mater Res*, 59(4), 690–696. <https://doi.org/10.1002/jbm.1277>
- Srnec, R., Divin, R., Skoric, M., Snasil, R., Krbec, M., & Necas, A. (2018). [Use of the Peptigel with Nanofibres in the Bone Defects Healing]. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech*, 85(5), 359–365.
- Stalvey, M. S., & Clines, G. A. (2013). Cystic fibrosis-related bone disease: Insights into a growing problem. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 20(6), 547–552. <https://doi.org/10.1097/01.med.0000436191.87727.ec>
- Suesca, E., Dias, A. M. A., Braga, M. E. M., de Sousa, H. C., & Fontanilla, M. R. (2017). Multifactor analysis on the effect of collagen concentration, cross-linking and fiber/pore orientation on chemical, microstructural, mechanical and biological properties of collagen type I scaffolds. *Materials Science and Engineering C*, 77, 333–341. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.243>
- Sugihara, S., Van Ginkel, A. D., Jiya, T. U., Van Royen, B. J., Van Diest, P. J., & Wuisman, P. I. J. M. (1999). Histopathology of retrieved allografts of the femoral head. *Journal of Bone and Joint Surgery - Series B*, 81(2), 336–341. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.81B2.9031>
- Sukegawa, S., Kanno, T., Nagano, D., Shibata, A., Sukegawa-Takahashi, Y., & Furuki, Y. (2016). The Clinical Feasibility of Newly Developed Thin Flat-Type Bioresorbable Osteosynthesis Devices for the Internal Fixation of Zygomatic Fractures: Is There a Difference in Healing Between Bioresorbable Materials and Titanium Osteosynthesis? *J Craniofac Surg*, 27(8), 2124–2129. <https://doi.org/10.1097/scs.00000000000003147>
- Sun, T.-W., Yu, W.-L., Zhu, Y.-J., Yang, R.-L., Shen, Y.-Q., Chen, D.-Y., He, Y.-H., & Chen, F. (2017). *Hydroxyapatite Nanowire@Magnesium Silicate Core-Shell Hierarchical Nanocomposite: Synthesis and Application in Bone Regeneration*. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b03532>
- Sundarrajan, S., Tan, K. L., Lim, S. H., & Ramakrishna, S. (2014). Electrospun Nanofibers for Air Filtration Applications. *Procedia Engineering*, 75, 159–163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.proeng.2013.11.034>
- Szustakiewicz, K., Stępak, B., Antończak, A. J., Maj, M., Gazińska, M., Kryszak, B., & Pigłowski, J. (2018a). Femtosecond laser-induced modification of PLLA/hydroxyapatite composite. *Polymer Degradation and Stability*, 149, 152–161. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMDEGRADSTAB.2018.01.015>

- Szustakiewicz, K., Stępak, B., Antończak, A. J., Maj, M., Gazińska, M., Kryszak, B., & Pięłowski, J. (2018b). Femtosecond laser-induced modification of PLLA/hydroxyapatite composite. *Polymer Degradation and Stability*, 149, 152–161. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2018.01.015>
- Taichman, R. S. (2005). Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. *Blood*, 105(7), 2631–2639. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-06-2480>
- Talal, A., McKay, I. J., Tanner, K. E., & Hughes, F. J. (2013). Effects of hydroxyapatite and PDGF concentrations on osteoblast growth in a nanohydroxyapatite-poly(lactic acid) composite for guided tissue regeneration. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(9), 2211–2221. <https://doi.org/10.1007/s10856-013-4963-9>
- Tanase, C. E., & Spiridon, I. (2014). PLA/chitosan/keratin composites for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 40, 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.03.054>
- Tay, F. R., Pashley, D. H., Williams, M. C., Raina, R., Loushine, R. J., Weller, R. N., Kimbrough, W. F., & King, N. M. (2005). Susceptibility of a polycaprolactone-based root canal filling material to degradation. I. Alkaline hydrolysis. *Journal of Endodontics*, 31(8), 593–598. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000152301.72828.61>
- Thomas, M., Arora, A., & Katti, D. S. (2014). Surface hydrophilicity of PLGA fibers governs in vitro mineralization and osteogenic differentiation. *Materials Science and Engineering C*, 45, 320–332. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.08.074>
- Thompson, H. J., McCormick, W. C., & Kagan, S. H. (2006). Traumatic Brain Injury in Older Adults: Epidemiology, Outcomes, and Future Implications. *J Am Geriatr Soc*, 54(10), 1590–1595. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00894.x>
- Tian, L., Tang, N., Ngai, T., Wu, C., Ruan, Y., Huang, L., & Qin, L. (2019). Hybrid fracture fixation systems developed for orthopaedic applications: A general review. *Journal of Orthopaedic Translation*, 16, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jot.2018.06.006>
- Tiaw, K. S., Goh, S. W., Hong, M., Wang, Z., Lan, B., & Teoh, S. H. (2005). Laser surface modification of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) membrane for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 26(7), 763–769. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.03.010>

- Tihan, T. G., Ionita, M. D., Popescu, R. G., & Iordachescu, D. (2009). Effect of hydrophilic-hydrophobic balance on biocompatibility of poly(methyl methacrylate) (PMMA)-hydroxyapatite (HA) composites. *Materials Chemistry and Physics*, 118(2–3), 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2009.03.019>
- Tobita, M., Uysal, C. A., Guo, X., Hyakusoku, H., & Mizuno, H. (2013). Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytotherapy*, 15(12), 1517–1526. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.007>
- Toien, K., Bredal, I. S., Skogstad, L., Myhren, H., & Ekeberg, O. (2011). Health related quality of life in trauma patients. Data from a one-year follow up study compared with the general population. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 19, 22. <https://doi.org/10.1186/1757-7241-19-22>
- Toivari, M., Helenius, M., Suominen, A. L., Lindqvist, C., & Thoren, H. (2014). Etiology of facial fractures in elderly Finns during 2006-2007. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 118(5), 539–545. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2014.06.016>
- Tonda-Turo, C., Boffito, M., Cassino, C., Gentile, P., & Ciardelli, G. (2016). Biomimetic polyurethane - Based fibrous scaffolds. *Materials Letters*, 167, 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2015.12.117>
- Toogood, P., Huang, A., Siebuhr, K., & Miclau, T. (2018). Minimally invasive plate osteosynthesis versus conventional open insertion techniques for osteosynthesis. *Injury*, 49, S19–S23. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(18\)30297-3](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(18)30297-3)
- Toti, P., Marchionni, S., Menchini-Fabris, G. B., Marconcini, S., Covani, U., & Barone, A. (2017). Surgical techniques used in the rehabilitation of partially edentulous patients with atrophic posterior mandibles: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 45(8), 1236–1245. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.04.011>
- Tran, S. D., Bakkar, M. O., Sumita, Y., & Kishimoto, N. (2019). Regenerative dentistry in periodontics. *Saudi Dental Journal*, 31(3), 301–302. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2019.05.002>
- Unnithan, A. R., Barakat, N. A., Pichiah, P. B., Gnanasekaran, G., Nirmala, R., Cha, Y. S., Jung, C. H., El-Newehy, M., & Kim, H. Y. (2012). Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun polyurethane-dextran nanofiber mats containing ciprofloxacin HCl. *Carbohydr Polym*, 90(4), 1786–1793. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.07.071>

- Urciuolo, F., Imparato, G., Guaccio, A., Mele, B., & Netti, P. A. (2012). Novel strategies to engineering biological tissue in vitro. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 811, pp. 223–244). https://doi.org/10.1007/978-1-61779-388-2_15
- van Dijkhuizen-Radersma, R., Moroni, L., Apeldoorn, A. van, Zhang, Z., & Grijpma, D. (2008). Chapter 7 - Degradable polymers for tissue engineering. In C. van Blitterswijk, P. Thomsen, A. Lindahl, J. Hubbell, D. F. Williams, R. Cancedda, J. D. de Bruijn, & J. Sohier (Eds.), *Tissue Engineering* (pp. 193–221). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370869-4.00007-0>
- Venugopal, J., Prabhakaran, M. P., Zhang, Y., Low, S., Choon, A. T., & Ramakrishna, S. (2010). Biomimetic hydroxyapatite-containing composite nanofibrous substrates for bone tissue engineering. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 368(1917), 2065–2081. <https://doi.org/10.1098/rsta.2010.0012>
- Vicenti, G., Bizzoca, D., Nappi, V. M., Carrozzo, M., Miolla, M. P., Ottaviani, G., Solarino, G., & Moretti, B. (2020). Minimally invasive osteosynthesis technique in the treatment of transverse patellar fractures in the elderly. *Injury*, 51, S50–S55. <https://doi.org/10.1016/J.INJURY.2020.01.012>
- Vieira, S., Vial, S., Reis, R. L., & Oliveira, J. M. (2017). Nanoparticles for bone tissue engineering. *Biotechnology Progress*, 33(3), 590–611. <https://doi.org/10.1002/btpr.2469>
- Viozzi, C. F. (2017). Maxillofacial and Mandibular Fractures in Sports. *Clin Sports Med*, 36(2), 355–368. <https://doi.org/10.1016/j.csm.2016.11.007>
- Virk, M. S., & Lieberman, J. R. (2012). Biologic adjuvants for fracture healing. *Arthritis Research and Therapy*, 14(5). <https://doi.org/10.1186/ar4053>
- Wang, Q., Yan, J., Yang, J., & Li, B. (2016). Nanomaterials promise better bone repair. *Materials Today*, 19(8), 451–463. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2015.12.003>
- Wang, W., & Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*, 2(4), 224–247. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007>
- Wang, Y.-W., Wu, Q., & Chen, G.-Q. (2003). Reduced mouse fibroblast cell growth by increased hydrophilicity of microbial polyhydroxyalkanoates via hyaluronan coating. *Biomaterials*, 24(25), 4621–4629. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00356-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00356-9)

- Wang, Y., Pan, J., Han, X., Sinka, C., & Ding, L. (2008). A phenomenological model for the degradation of biodegradable polymers. *Biomaterials*, 29(23), 3393–3401. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.042>
- Wang, Y. W., Wu, Q., & Chen, G. Q. (2003). Reduced mouse fibroblast cell growth by increased hydrophilicity of microbial polyhydroxyalkanoates via hyaluronan coating. *Biomaterials*, 24(25), 4621–4629. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00356-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00356-9)
- Watcharajittanont, N., Tabrizian, M., Putson, C., Pripatnanont, P., & Meesane, J. (2020). Osseointegrated membranes based on electro-spun TiO₂/hydroxyapatite/polyurethane for oral maxillofacial surgery. *Materials Science and Engineering: C*, 108, 110479. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.110479>
- Weitz, R. T., Harnau, L., Rauschenbach, S., Burghard, M., & Kern, K. (2008). Polymer nanofibers via nozzle-free centrifugal spinning. *Nano Letters*, 8(4), 1187–1191. <https://doi.org/10.1021/nl080124q>
- White, J. M., Jurczyk, J., & Van Horn, R. M. (2021). Physical structure contributions in pH degradation of PEO-b-PCL films. *Polymer Degradation and Stability*, 183, 109468. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109468>
- Wu, B. J., Kuo, L. H., DePuydt, J. M., Haugen, G. M., Haase, M. A., & Salamanca-Riba, L. (1996). Growth and characterization of II-VI blue light-emitting diodes using short period superlattices. *ApPhL*, 68, 379–381. <https://doi.org/doi:10.1063/1.116691>
- Xie, L., Yu, H., Yang, W., Zhu, Z., & Yue, L. (2016). Preparation, in vitro degradability, cytotoxicity, and in vivo biocompatibility of porous hydroxyapatite whisker-reinforced poly(L-lactide) biocomposite scaffolds. *J Biomater Sci Polym Ed*, 27(6), 505–528. <https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1140613>
- Xin, R., Leng, Y., Chen, J., & Zhang, Q. (2005). A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. *Biomaterials*, 26(33), 6477–6486. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.028>
- Xu, T., Yang, H., Yang, D., & Yu, Z. Z. (2017). Polylactic Acid Nanofiber Scaffold Decorated with Chitosan Islandlike Topography for Bone Tissue Engineering. *ACS Appl Mater Interfaces*, 9(25), 21094–21104. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b01176>
- Yamamoto, K., Kuraki, M., Kurihara, M., Matsusue, Y., Murakami, K., Horita, S., Sugiura, T., & Kirita, T. (2010). Maxillofacial Fractures Resulting From Falls. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 68(7), 1602–1607. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2009.09.029>

- Yang, F., Murugan, R., Wang, S., & Ramakrishna, S. (2005). Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering. *Biomaterials*, 26(15), 2603–2610. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.051>
- Yang, S., Leong, K.-F., Du, Z., & Chua, C.-K. (2001). The design of scaffolds for use in tissue engineering. Part I. Traditional factors. *Tissue Engineering*, 7(6), 679–689. <https://doi.org/10.1089/107632701753337645>
- Yi, F., & La Van, D. A. (2008). Poly(glycerol sebacate) nanofiber scaffolds by core/shell electrospinning. *Macromolecular Bioscience*, 8(9), 803–806. <https://doi.org/10.1002/mabi.200800041>
- Zakaria, S. M., Sharif Zein, S. H., Othman, M. R., & Jansen, J. A. (2013). Hydroxyapatite nanoparticles: Electrospinning and calcination of hydroxyapatite/polyvinyl butyral nanofibers and growth kinetics. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 101 A(7), 1977–1985. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34506>
- Zhang, H., Mao, X., Du, Z., Jiang, W., Han, X., Zhao, D., Han, D., & Li, Q. (2016). Three dimensional printed macroporous polylactic acid/hydroxyapatite composite scaffolds for promoting bone formation in a critical-size rat calvarial defect model. *Sci Technol Adv Mater*, 17(1), 136–148. <https://doi.org/10.1080/14686996.2016.1145532>
- Zhang, Q., Lv, S., Lu, J., Jiang, S., & Lin, L. (2015). Characterization of polycaprolactone/collagen fibrous scaffolds by electrospinning and their bioactivity. *Int J Biol Macromol*, 76, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.063>
- Zhang, Qiang, Lv, S., Lu, J., Jiang, S., & Lin, L. (2015). Characterization of polycaprolactone/collagen fibrous scaffolds by electrospinning and their bioactivity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.01.063>
- Zhang, Qiang, Wu, W., Qian, C., Xiao, W., Zhu, H., Guo, J., Meng, Z., Zhu, J., Ge, Z., & Cui, W. (2019). Advanced biomaterials for repairing and reconstruction of mandibular defects. *Materials Science and Engineering: C*, 103, 109858. <https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2019.109858>
- Zhang, R., & Ma, P. X. (1999). Poly(alpha-hydroxyl acids)/hydroxyapatite porous composites for bone-tissue engineering. I. Preparation and morphology. *J Biomed Mater Res*, 44(4), 446–455. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(19990315\)44:4<446::aid-jbm11>3.0.co;2-f](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(19990315)44:4<446::aid-jbm11>3.0.co;2-f)

- Zhang, Y., Lim, C. T., Ramakrishna, S., & Huang, Z. M. (2005). Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *J Mater Sci Mater Med*, 16(10), 933–946. <https://doi.org/10.1007/s10856-005-4428-x>
- Zhao, D., Huang, Y., Ao, Y., Han, C., Wang, Q., Li, Y., Liu, J., Wei, Q., & Zhang, Z. (2018). Effect of pore geometry on the fatigue properties and cell affinity of porous titanium scaffolds fabricated by selective laser melting. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 88, 478–487. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2018.08.048>
- Zhu, A. P., Chan-Park, M. B., & Gao, J. X. (2006). Foldable micropatterned hydrogel film made from biocompatible PCL-b-PEG-b-PCL diacrylate by UV embossing. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 76(1), 76–84. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30348>
- Zhu, Y., Wang, Z., Zhou, H., Li, L., Zhu, Q., & Zhang, P. (2017). An injectable hydroxyapatite/poly(lactide-co-glycolide) composite reinforced by micro/nano-hybrid poly(glycolide) fibers for bone repair. *Materials Science and Engineering: C*, 80, 326–334. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.121>
- Zomorodian, A., Garcia, M. P., Moura E Silva, T., Fernandes, J. C. S., Fernandes, M. H., & Montemor, M. F. (2015). Biofunctional composite coating architectures based on polycaprolactone and nanohydroxyapatite for controlled corrosion activity and enhanced biocompatibility of magnesium AZ31 alloy. *Materials Science and Engineering C*, 48, 434–443. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.12.027>