

**CARMELITA DE FREITAS SANTOS**

**POTENCIAL OSTEOGÊNICO DE *SCAFFOLD* DE  
HIDROXIAPATITA SUBSTITUÍDA POR SÍLICA PARA O  
REPARO DE DEFEITO ÓSSEO CRÍTICO**



Salvador-Bahia  
2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PROCESSOS INTERATIVOS DOS  
ÓRGÃOS E SISTEMAS**



**CARMELITA DE FREITAS SANTOS**

**POTENCIAL OSTEOGÊNICO DE *SCAFFOLD* DE HIDROXIAPATITA  
SUBSTITUÍDA POR SÍLICA PARA O REPARO DE DEFEITO ÓSSEO  
CRÍTICO**

Salvador – Bahia  
2024

**CARMELITA DE FREITAS SANTOS**

**POTENCIAL OSTEOGÊNICO DE *SCAFFOLD* DE HIDROXIAPATITA  
SUBSTITUÍDA POR SÍLICA PARA O REPARO DE DEFEITO ÓSSEO  
CRÍTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabela Cerqueira Barreto.

Coorientador: Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel.

Salvador – Bahia

2024

Ficha catalográfica: Keite Birne de Lira CRB-5/1953

Santos, Carmelita de Freitas

Potencial osteogênico de *scaffold* de hidroxiapatita substituída por sílica para o reparo de defeito ósseo crítico. / [Manuscrito]. Carmelita de Freitas Santos. Salvador, 2024.

77 f.: il.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabela Cerqueira Barreto.

Coorientador: Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, 2024.

1. Biomateriais 2. Hidroxiapatita. 3. *Metania reticulata*. 4. Regeneração óssea. 5. Sílica. I. Barreto, Isabela Cerqueira. II. Miguel, Fúlvio Borges. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós- Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD 616.71 21 ed.



---


## TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO

**Carmelita de Freitas Santos**

POTENCIAL OSTEOGÊNICO DE *SCAFFOLD* DE HIDROXIAPATITA SUBSTITUÍDA  
POR SÍLICA PARA O REPARO DE DEFEITO ÓSSEO CRÍTICO


Salvador, Bahia, 20 de dezembro de 2024

Comissão examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **ISABELA CERQUEIRA BARRETO**  
Data: 12/02/2025 18:08:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Profa. Dra. Isabela Cerqueira Barreto (Examinadora interna)

Documento assinado digitalmente  
 **IORRANA INDIRA DOS ANJOS RIBEIRO**  
Data: 13/02/2025 14:06:49-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Profa. Dra. Iorrana Índira dos Anjos Ribeiro (Examinadora interna)

Documento assinado digitalmente  
 **GEORGE GONCALVES DOS SANTOS**  
Data: 13/02/2025 20:02:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. George Gonçalves dos Santos (Examinador externo)

Dedico este trabalho a meus pais, Clementina e Antonio, pelo amor, pelo apoio incondicional e pelos valores que me transmitiram ao longo da vida. A meu irmão, Antonio Filho, pela amizade, companheirismo e incentivo constante. E a meu filho Sergio, que ilumina minha jornada com seu sorriso e me inspira a buscar sempre o melhor. A vocês toda minha gratidão e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, autor e consumidor de minha fé, pela força e sabedoria concedidas em todos os momentos de minha trajetória e pela inspiração para persistir na busca do conhecimento.

A meus pais, Clementina de Freitas Santos e Antonio Conceição dos Santos, pelo amor, carinho e cuidado, e por sempre acreditarem em mim. Sem o exemplo de perseverança e dedicação de vocês, nada disso seria possível.

A meu irmão, Antonio Conceição dos Santos Filho, e minha cunhada, Diana Célia Leal Silva Lima, pela amizade, companheirismo e incentivo em cada etapa desse caminho.

A meu filho, Sergio Santos de Jesus, e a minha nora, Ana Beatriz Nunes Santos, que, com carinho e incentivo, renovam minha determinação a cada dia e me motivam a dar o melhor de mim.

A minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabela Cerqueira Barreto, por seu direcionamento, sua paciência e confiança em meu trabalho, além da compreensão e dos cuidados dedicados ao longo desta jornada, que foram fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa.

A meu coorientador, Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel, pela valiosa contribuição a meu desenvolvimento intelectual e acadêmico. Suas orientações e conselhos não só enriqueceram este trabalho, mas também foram fundamentais para minha trajetória de formação.

Ao Prof. Dr. Marcelo Henrique Prado da Silva, que cedeu o biomaterial utilizado nesta pesquisa, cuja parceria foi essencial para seu desenvolvimento e para as conclusões desta dissertação.

Às alunas do PIBIC, Amanda Dourado Moreno, Maria Rafaella Caires e Ana Clara Carvalho, pelo apoio em etapas importantes deste projeto e pela dedicação no auxílio às atividades de pesquisa.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Chenia Frutuoso, por me apresentar ao Prof. Dr. Fúlvio Borges Miguel, revelando, com sua indicação, a confiança depositada na minha capacidade de realizar esta pesquisa. Sua ajuda foi essencial para que eu trilhasse esse caminho.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Iorrana Índira dos Anjos Ribeiro, pelo apoio e disponibilidade em momentos decisivos para o aprimoramento desta pesquisa.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Maria Guerreiro Braga da Silva, pela valiosa orientação e contribuição ao longo da realização deste trabalho.

A Gloriene Carvalho de Jesus, pela parceria e ajuda na realização dos experimentos, essenciais para as conclusões desta dissertação.

A Izamir Resende Junior Borges Miguel, pela colaboração nas figuras que ilustram esta dissertação e pelo talento e paciência na elaboração das imagens.

A meu colega e amigo Felipe Chaimsohn Gonçalves da Silva, por seu companheirismo e apoio durante nossa jornada acadêmica. Sua amizade tornou esse percurso mais leve e significativo.

Agradeço ao Prof. Dr. Roberto Paulo Correia de Araújo pelos os ensinamentos, que foram de grande importância ao longo do mestrado.

À coordenadora da Pós-Graduação, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elisângela de Jesus Campos e aos professores do Programa, pelas as orientações e apoio durante esta etapa.

Também expressei minha gratidão aos animais utilizados na pesquisa, que foram essenciais para o avanço do conhecimento científico e para os resultados desta dissertação.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu chegasse até aqui, meus sinceros agradecimentos.



*“Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque no além, para onde tu vais, não há obra, nem projetos, nem conhecimento, nem sabedoria alguma”*

Eclesiastes 9:10

SANTOS, C. de F. **Potencial osteogênico de *scaffold* de hidroxiapatita substituída por sílica para o reparo de defeito ósseo crítico**. 2024. 77f. Dissertação (Mestrado)- Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2024.

## RESUMO

**Introdução:** O tecido ósseo possui capacidade regenerativa, porém perdas ósseas extensas requerem intervenções para a restauração da funcionalidade e da estética dos indivíduos acometidos por essas lesões. Nessa direção, a hidroxiapatita (HA) e o silício (Si) têm sido utilizados no desenvolvimento de biomateriais projetados para substituir ou regenerar o tecido ósseo. A HA é uma cerâmica que permite substituições iônicas em sua estrutura cristalina, com vistas ao incremento de sua bioatividade e sua capacidade regenerativa. O Si é um oligoelemento que, ao se combinar com oxigênio (O<sub>2</sub>), forma o dióxido de silício (SiO<sub>2</sub>), também conhecido como sílica. Quando o Si é associado a outros elementos, forma diversos tipos de silicatos. Quando incorporado à estrutura da HA, na forma de ânions de silicato, melhora o desempenho biológico do biomaterial, com o aumento de sua biocompatibilidade, osteocondutividade e bioatividade. **Objetivo:** Avaliar o comportamento biológico e o potencial osteogênico da HA substituída por sílica (SiHA) no reparo de defeito ósseo crítico. **Material e métodos:** A amostra foi composta por 24 animais, que foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos experimentais, doze animais em cada um deles, nos pontos biológicos de 15 e 45 dias no período pós-implantação: i) GHA – defeito ósseo crítico realizado em calvária de rato com a implantação de *scaffolds* de HA; ii) GSiHA – defeito ósseo crítico realizado em calvária de rato com implantação de *scaffolds* de HA com sílica em concentração de 5%. **Resultados:** A análise histológica demonstrou que, em todos os pontos biológicos, nos dois grupos experimentais, ocorreu neoformação óssea entre os biomateriais, sendo mais evidente no GSiHA. Além disso, o biomaterial preencheu toda a extensão do defeito ao longo do experimento. Ambos os grupos apresentaram tecido conjuntivo, com diferenças na organização. No grupo GHA, o tecido conjuntivo era frouxo e com presença de edema aos 15 e 45 dias, enquanto, no GSiHA, permaneceu delgado, com deposição desordenada de fibras colágenas durante todo o experimento. Observou-se também inflamação crônica granulomatosa aos 15 e 45 dias, mais discreta aos 45 dias e acompanhada de angiogênese. **Conclusão:** Os biomateriais, HA e SiHA, demonstraram ser biocompatíveis, osteocondutores e bioativos, com potencial osteogênico mais evidente no SiHA.

**Palavras-chave:** Biomateriais; hidroxiapatita; *metania reticulata*; regeneração óssea; sílica.

SANTOS, C. de F. Osteogenic potential of silica-replaced hydroxyapatite *scaffold* for repair of critical bone defects. 2024. 77f. Dissertation (Master's degree) - Health Sciences Institute, Federal University of Bahia, Salvador, 2024.

## ABSTRACT

**Introduction:** Bone tissue has regenerative capacity, but extensive bone loss requires interventions to restore functionality and aesthetics in individuals affected by these injuries. In this sense, hydroxyapatite (HA) and silicon (Si) have been used to develop biomaterials designed to replace or regenerate bone tissue. HA is a ceramic that allows ionic substitutions in its crystalline structure to increase its bioactivity and regenerative capacity. When combined with oxygen (O<sub>2</sub>), Si is a trace element that forms silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>), also known as silica. When Si is associated with other elements, it forms several types of silicates. When incorporated into the HA structure in the form of silicate anions, it improves the biological performance of the biomaterial, increasing its biocompatibility, osteoconductivity and bioactivity. **Objective:** To evaluate the biological behaviour and osteogenic potential of HA substituted by silica (SiHA) in the repair of critical bone defects. **Material and Methods:** The sample consisted of 24 animals, which were randomly distributed into two experimental groups, twelve animals in each of them, at the biological points of 15 and 45 days in the post-implantation period: i) GHA - critical bone defect performed in rat calvaria with the implantation of HA scaffolds; ii) GSiHA - critical bone defect performed in rat calvaria with implantation of HA scaffolds with silica at a concentration of 5%. **Results:** Histological analysis demonstrated that, at all biological points, in both experimental groups, bone neoformation occurred between the biomaterials, more evident in GSiHA. Furthermore, the biomaterial filled the entire defect throughout the experiment. Both groups presented connective tissue, with differences in organisation. In the GHA group, the connective tissue was loose and edematous at 15 and 45 days, while in the GSiHA group, it remained thin, with disordered deposition of collagen fibres throughout the experiment. Chronic granulomatous inflammation was also observed at 15 and 45 days, more discreet at 45 days and accompanied by angiogenesis. **Conclusion:** The biomaterials, HA and SiHA, proved biocompatible, osteoconductive and bioactive, with osteogenic potential more evident in SiHA.

**Keywords:** Biomaterials; hydroxyapatite; *metania reticulata*; bone regeneration; silica.

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Classificação dos CaPs de acordo com a razão molar	36
<b>Quadro 2</b>	Distribuição dos animais de acordo com o grupo e ponto biológico	50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Células especializadas do tecido ósseo	24
<b>Figura 2</b>	Representação esquemática do papel do RANK, RANKL e OPG na atividade das células ósseas	25
<b>Figura 3</b>	Fases da remodelação óssea	27
<b>Figura 4</b>	Regeneração óssea mediada por <i>scaffolds</i> : biodegradação e reabsorção, angiogênese e formação do tecido ósseo	33
<b>Figura 5</b>	Célula unitária hexagonal da hidroxiapatita	38
<b>Figura 6</b>	Rede cristalina da hidroxiapatita substituída com sílica	39
<b>Figura 7</b>	Unidade básica dos tetraedros de sílica (SiO <sub>4</sub> )	41
<b>Figura 8</b>	Ação da biossílica em osteoblastos e osteoclastos	44
<b>Figura 9</b>	Etapas da implantação do biomaterial GHA e GSiHA	51
<b>Figura 10</b>	Fotomicrografias do GHA no ponto biológico de 15 dias	54
<b>Figura 11</b>	Fotomicrografias do GHA no ponto biológico de 45 dias	55
<b>Figura 12</b>	Fotomicrografias do GSiHA aos 15 dias	57
<b>Figura 13</b>	Fotomicrografias do GSiHA aos 45 dias	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Fosfato de cálcio amorfo
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
AsO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Íons de arseniato
Ba <sup>2</sup>	Íons de bário
BMPs	Proteínas morfogenéticas ósseas
Ca <sup>2+</sup>	Íon cálcio
Cd <sup>2+</sup>	Íons de cádmio
CGMN	Células gigantes multinucleadas
Co <sup>2+</sup>	Íons de cobalto
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Carbonato
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CPPD	Pirofosfato de cálcio
Cu <sup>2+</sup>	Íon de cobre
DCPD	Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado
DRX	Difração de raios X
Fe <sup>2+</sup>	Íon ferroso
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier
HA	HA pura
H <sup>+</sup>	Hidrogênio
HA	Hidroxiapatita
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina
IL-1	Interleucina 1
IME	Instituto Militar de Engenharia
K <sup>+</sup>	Íon potássio
LBTB	Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais
M-CSF	Fator estimulante de colônia de fagócito mononuclear
MEC	Matriz extracelular
MEV	Microscopia eletrônica de varredura

Mg <sup>2+</sup>	Íons de magnésio
Mn <sup>2+</sup>	Íons de manganês
mRNA	RNA mensageiro
Na <sup>+</sup>	Íons de sódio
NFATc1	Fator nuclear de células T ativadas c1
NF-kappa beta	Fator de transcrição NF-kappa β
Ni <sup>2+</sup>	Íons de níquel
OCP	Fosfato octacálcico
OH <sup>-</sup>	Íons de hidroxila
OPG	Osteoprotegerina
P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup>	Pirofosfato
Pb <sup>2+</sup>	Íons de chumbo
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Metafosfato
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	Fosfato
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	Ortofosfato
PTH	Paratormônio
RANK	Receptor ativador de fator nuclear kappa- β
RANKL	Ligante do receptor do fator nuclear kappa-β
Ras	Proteínas ativadoras – GTPase
Si	Silício
SiO <sub>2</sub>	Dióxido de silício
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	Silicato
TCP	Fosfato tricálcico
TeCP	Fosfato tetracálcico
TGF-β	Fator de crescimento transformador β
TNF-α	Fator de necrose tumoral α
UFBA	Universidade Federal da Bahia
VEGF	Fator de crescimento endotelial
SiHA	HA substituída por sílica

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	16
<b>2 OBJETIVOS</b>	19
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	20
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b>	21
3.1 TECIDO ÓSSEO E SUAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	22
3.2 INFLAMAÇÃO, ANGIOGÊNESE E REPARO ÓSSEO	28
3.3 BIOMATERIAIS	29
3.4 HIDROXIAPATITA	36
3.5 SILÍCIO	40
<b>3.5.1 <i>Metania reticulata</i></b>	47
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b>	48
4.1 BIOMATERIAIS	49
4.2 ETAPAS CIRÚRGICAS E LABORATORIAIS	49
<b>5 RESULTADOS</b>	52
5.1 GHA	53
5.2 GSiHA	56
<b>6 DISCUSSÃO</b>	59
<b>7 CONCLUSÃO</b>	64
<b>REFERÊNCIAS</b>	66
<b>ANEXO A-</b> Aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde) (CEUA/ICS.UFBA)	77





## 1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é do tipo conjuntivo especializado, mineralizado e com excelente potencial regenerativo. Suas células especializadas, sob a influência de fatores de crescimento e de hormônios, diferenciam-se para as vias condrogênicas ou osteogênicas, com promoção da síntese, manutenção e reabsorção. Entretanto, seu potencial regenerativo se torna limitado quando existe um vasto comprometimento vascular ou perda tecidual extensa. Nessas situações, ocorre a substituição parcial ou total por tecido conjuntivo fibroso cicatricial, o que ocasiona danos funcionais ou estéticos (Reis *et al.*, 2019).

Diante da necessidade de promover a regeneração óssea, em casos de perdas significativas, existem estratégias de tratamento que podem ser empregadas. Dentre as opções disponíveis, podem ser utilizados enxertos ósseos do tipo autógeno, homogêneo e heterógeno, ou ainda biomateriais. Todos os enxertos, apesar de sua eficácia, apresentam limitações, como a disponibilidade insuficiente de material na área doadora, o risco de reações imunológicas e possibilidade de infecções (Pape; Evans; Kobbe, 2010; Wubneh *et al.*, 2018). Em razão dessas limitações, inerentes a cada tipo de enxerto ósseo, são necessários o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de biomateriais, projetados para assumir uma forma que possa direcionar, mediante interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnósticos (Zhang; Williams, 2019).

Os enxertos são classificados, de acordo com sua origem, em naturais ou sintéticos, e, quanto a sua composição química, em metais, cerâmicas, polímeros ou compósitos. Os biomateriais cerâmicos, amplamente utilizados para o tratamento de defeitos ósseos, possuem características específicas, como biocompatibilidade, osteocondução e biodegradação (Zhu; Luo; Liu, 2020). Nesse contexto, a hidroxiapatita (HA) é um biomaterial cerâmico com fórmula química  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , cuja estrutura permite substituições iônicas capazes de modificar propriedades como solubilidade e bioatividade (Adamski; Siuta, 2021).

Uma das possíveis substituições na estrutura da HA é a incorporação de sílica na forma de ânions silicato. Essa substituição promove a bioatividade do biomaterial, o que contribui para estimulação da neoformação óssea. Recursos naturais ricos em sílica, como a esponja de água doce da espécie *Metania reticulata*, representam uma alternativa promissora para o desenvolvimento de novos biomateriais. A sílica, aplicada como substituto, na estrutura da HA, sob a forma de ânions silicatos, tem demonstrado biocompatibilidade, osteocondução e bioatividade, quando comparada à HA pura. Essa abordagem pode contribuir para direcionar

novos caminhos para a regeneração óssea (Bose *et al.*, 2013; Ciriminna; Laine; Pagliaro, 2023; Diab *et al.*, 2017; Ribeiro *et al.*, 2020).

A substituição da HA, por meio de fontes naturais de sílica de alta disponibilidade, provenientes da esponja de água doce *Metania reticulata*, torna-se uma estratégia promissora para a regeneração óssea. Portanto, o objetivo desta pesquisa é avaliar o comportamento biológico e o potencial osteogênico da SiHA no reparo de defeito ósseo crítico.

*Objetivos*

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o comportamento biológico e o potencial osteogênico da SiHA no reparo de defeito ósseo crítico.

### **2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO**

Analisar, histomorfologicamente, por microscopia de luz, o reparo de defeito ósseo crítico em calvária de rato, com implantação de *scaffold* de SiHA e HA, nos pontos biológicos de 15 e 45 dias.



### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 TECIDO ÓSSEO E SUAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

O tecido ósseo é o principal constituinte do sistema esquelético. Seu desenvolvimento ocorre desde o período fetal e segue em constante atividade ao longo da vida do indivíduo. Possui estrutura rígida, porém dinâmica, com capacidade notável de alterar sua forma por adaptação e remodelação mediante a presença de algum estresse mecânico. Esse é um tecido do tipo conjuntivo especializado, constituído por células próprias, formado por uma matriz extracelular (MEC) mineralizada, que proporciona sustentação e proteção aos órgãos vitais. Funciona como sistema de alavanca para os músculos esqueléticos e reservatório de diversos íons do organismo, principalmente cálcio e fosfato (Manzini *et al.*, 2021; Wubneh *et al.*, 2018).

Esse tecido consiste em uma matriz formada por componentes orgânicos e inorgânicos. A fração orgânica possui cerca de 35% do peso seco desse tecido e é composta por proteínas colagênicas e não colagênicas, proteoglicanos e glicosaminoglicanos, sintetizados pelos osteoblastos. A proteína de colágeno tipo I é responsável por conferir resistência ao tecido ósseo e representa a maior fração da porção orgânica, cerca de 80% a 90%. A tripla hélice do colágeno tipo I é formada pela união das cadeias  $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ , codificadas pelos genes *Colla1* e *Colla2*, respectivamente. Essas hélices se organizam em fibras colagênicas, que, em sequência, se agrupam para formar as fibras de colágeno, as quais serão depositadas na MEC não mineralizada, conhecida como matriz osteoide (Chavez *et al.*, 2023). As proteínas não colagênicas, como a osteonectina, sialoproteína óssea, osteopontina e osteocalcina, sintetizadas pelos osteoblastos, são fundamentais no processo de organização dos cristais de HA e na regulação da mineralização óssea (Si *et al.*, 2020).

A fração orgânica contém glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Os primeiros são polissacarídeos com unidades repetidas de dissacarídeos, compostos por um monossacarídeo do tipo N-acetilglicosamina ou N-acetilgalactosamina, e o outro, em sua maioria, por ácido urônico. Eles desempenham funções significativas na morfogênese, homeostase e como marcadores biológicos do tecido ósseo. Já os proteoglicanos são macromoléculas que se ligam a uma proteína por meio das cadeias de glicosaminoglicanos, estão presentes em diversas regiões do tecido ósseo e desenvolvem papel importante nas fases da formação, como

proliferação e deposição da matriz orgânica, mineralização e remodelação. Dentre eles, a decorina e os biglicanos, moléculas menores e ricas em leucina, desenvolvem função importante em diversas fases da formação e manutenção do tecido ósseo, como na proliferação celular das células osteogênicas, na deposição da matriz osteoide e na remodelação óssea (Coulson-Thomas *et al.*, 2015; Listik *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2020; Waddington *et al.*, 2003).

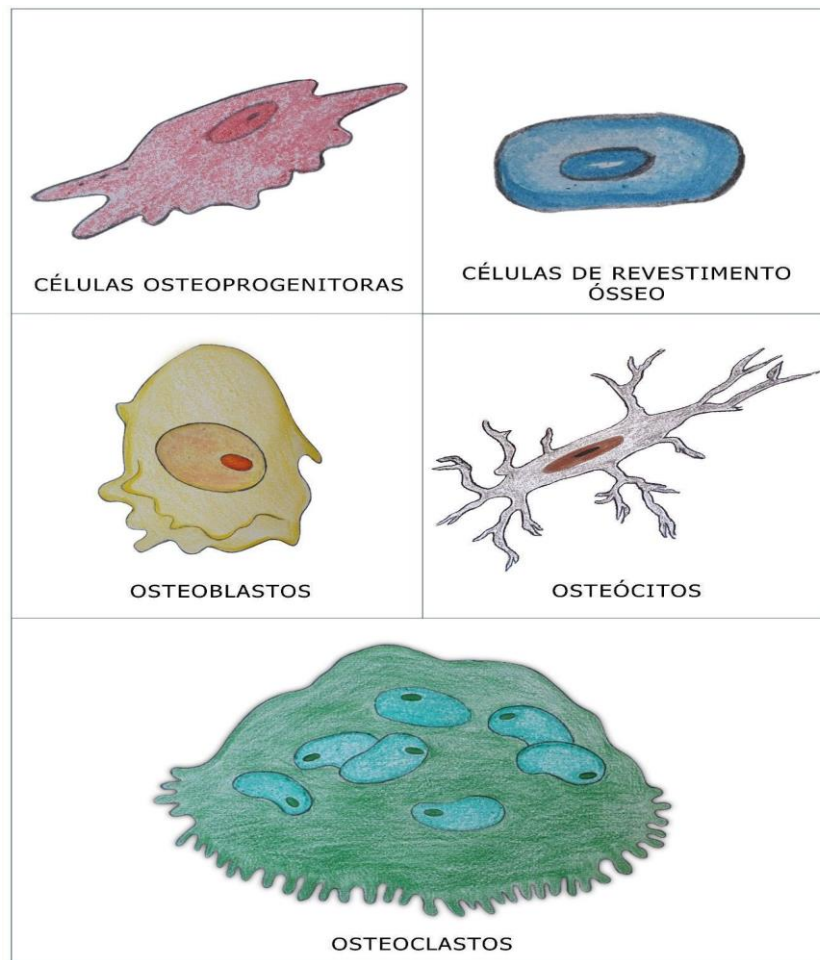
Por sua vez, a fração inorgânica é responsável por 65% do peso seco do tecido ósseo, composta, em sua maior parte, por íons cálcio e fosfato, que formam os cristais de HA, cuja composição química estequiométrica é  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Além disso, são encontrados, nessa fração, em menores proporções, outros íons, como bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato, que contribuem para a manutenção dos níveis séricos ideais desses elementos e da saúde e integridade óssea (Manzini *et al.*, 2021; Waddington *et al.*, 2003).

Quanto à sua constituição, o tecido ósseo é formado por células osteoprogenitoras, osteoblastos, células de revestimento ósseo, osteócitos e osteoclastos (Figura 1). As primeiras são derivadas de células mesenquimais embrionárias, possuem formato fusiforme e notável potencial de diferenciação em osteoblastos. Essas células se apresentam mais ativas durante a fase de crescimento, remodelação e reparo do tecido ósseo (Hart *et al.*, 2020). Os osteoblastos, por sua vez, sintetizam matriz osteoide, composta, predominantemente, por colágeno tipo I. Essa célula é derivada das células-tronco mesenquimais, localizadas na superfície óssea, dispostas lado a lado, e exibem formato cúbico quando estão em intensa atividade. Entretanto, em baixa atividade, essas células passam a ter formato achatado, com citoplasma reduzido, se mantêm dispostas lado a lado e são denominadas de células de revestimento ósseo (Buck; Dumanian, 2012; Burr; Akkus, 2019; Florencio-Silva *et al.*, 2015).

Em paralelo, os osteócitos são células ósseas maduras, oriundas dos osteoblastos, que ficaram aprisionados dentro de lacunas na matriz osteoide. Essas células possuem prolongamentos citoplasmáticos interconectados por junções comunicantes, que se acomodam em espaços estreitos, semelhantes a túneis, denominados de canalículos. E, assim, ocorre a movimentação de íons e pequenas moléculas entre essas células. Ademais, são responsáveis pela captação de sinais mecânicos e por auxiliar na atividade entre osteoblastos e osteoclastos para a manutenção do metabolismo do tecido ósseo (Capulli; Paone; Rucci, 2014; Yin *et al.*, 2019).



**Figura 1** – Células especializadas do tecido ósseo.



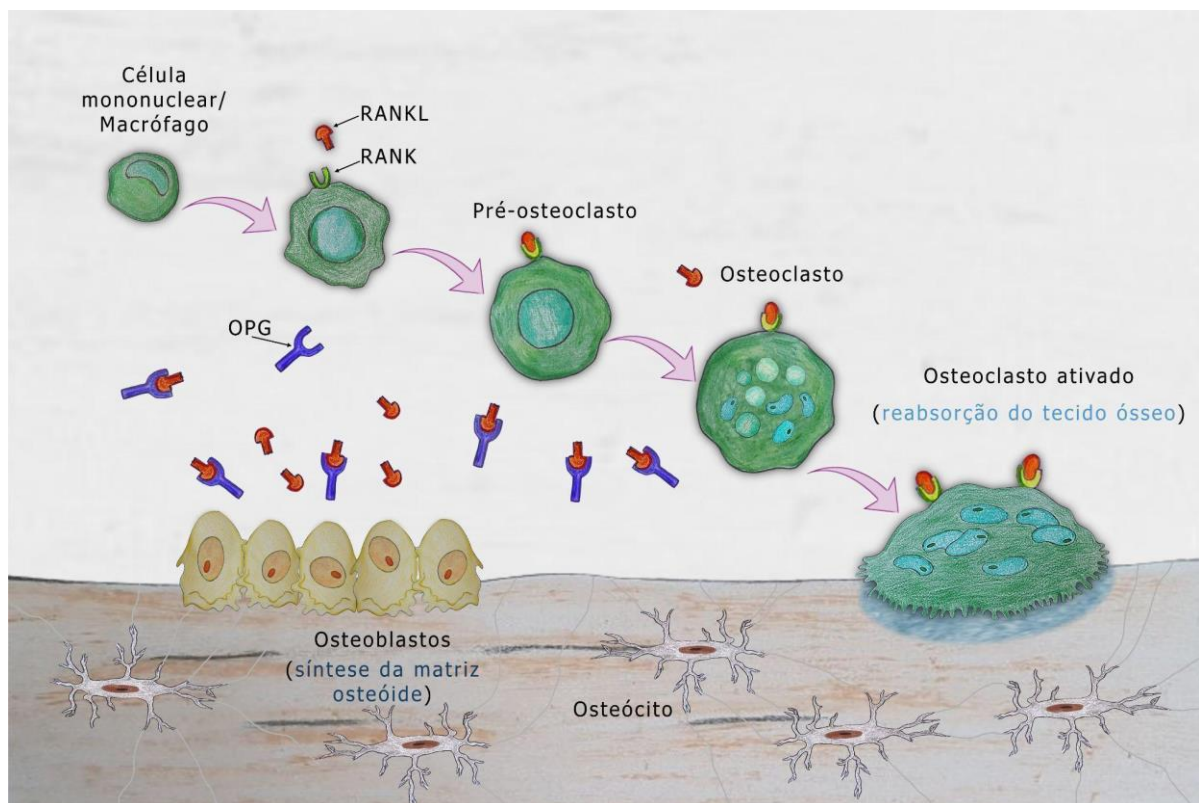
Legenda: células osteoprogenitoras, células de revestimento ósseo, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos.

Fonte: elaborada pela autora.

Os osteoclastos são células móveis, gigantes, com origem nas células multinucleadas hematopoiéticas. São encontrados nas lacunas de Howship, fazem parte do sistema mononuclear fagocitário e apresentam ação polarizadora na remodelação óssea. A atividade dessa célula é regulada por três moléculas sinalizadoras, que controlam sua diferenciação: fator estimulante de colônia de fagócito mononuclear (*macrophage colony-stimulating factor* - M-CSF), que se liga a um receptor no macrófago, induz a formação do precursor do osteoclasto, que, por consequência, resulta na expressão do receptor que ativará o fator nuclear kappa- $\beta$  (*receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$*  -RANK); ligante do receptor do fator nuclear kappa- $\beta$  (*receptor activator of nuclear factor kappa- $\beta$  ligand* - RANKL), que se liga ao receptor RANK nos precursores dos osteoclastos e estimula sua fusão e, por

consequente, a reabsorção do tecido ósseo; e ainda a osteoprotegerina (OPG), que se liga ao RANKL e impede sua ligação com o RANK e leva à redução da atividade dos osteoclastos. Dessa forma, RANKL, RANK e OPG regulam o metabolismo do tecido ósseo (Figura 2) (Kenkre; Bassett, 2018; Omi; Mishina, 2022; Raggatt; Partridge, 2010).

**Figura 2** – Representação esquemática do papel do RANK, RANKL e OPG na atividade das células ósseas.



Fonte: elaborada pela autora.

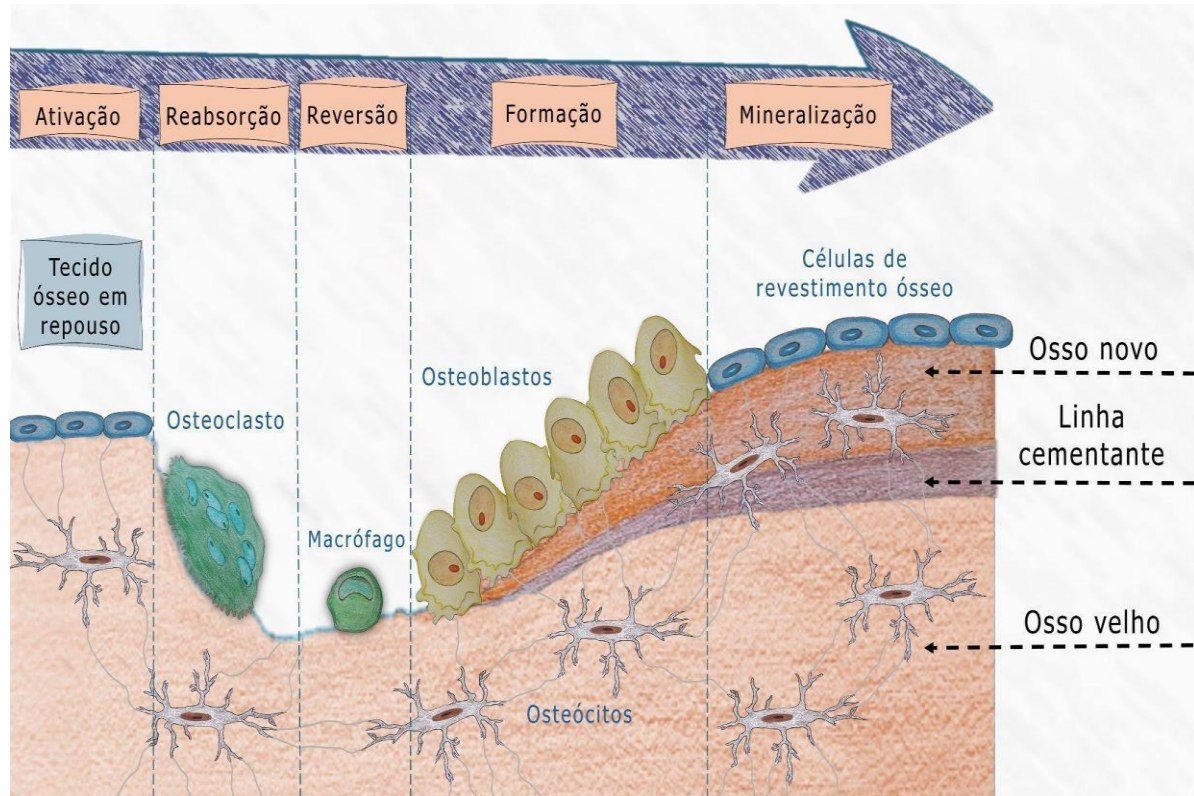
O tecido ósseo é dinâmico, vascularizado e innervado, apresenta adaptação contínua para manter o desenvolvimento ósseo, a regulação e a homeostase. Nesse contexto, dois mecanismos estão inseridos: modelação e remodelação óssea. O primeiro é responsável pelo desenvolvimento e pela adaptação desse tecido e ocorre principalmente durante o crescimento, com formação e reabsorção óssea em diferentes locais e com alteração do formato e do tamanho dos ossos. A remodelação é um mecanismo contínuo, que ocorre na superfície óssea e envolve a reabsorção do tecido ósseo antigo e a nova formação óssea, com manutenção da integridade e homeostase. Essa interação é regulada pelo sistema RANK, RANKL e por meio da osteoclastogênese pela proteína OPG, a qual possui capacidade de se

ligar ao RANKL e impedir a ativação e a diferenciação dos osteoclastos (Hauge *et al.*, 2001; Katsimbri, 2017; Kenkre; Bassett, 2018; Omi; Mishina, 2022; Raggatt; Partridge, 2010; Tolar; Teitelbaum; Orchard, 2004; Yang; Liu, 2021; Yu; Qiu; Deng, 2003).

A remodelação óssea ocorre por meio de fases distintas, embora de forma simultânea em diferentes regiões do tecido: ativação, reabsorção, reversão, formação e terminação (Figura 3). A ativação é a primeira fase desse mecanismo e ocorre quando um sinal é detectado, seja por meio de tensão mecânica, que pode causar alterações na estrutura do tecido ósseo, ou por mudanças hormonais, como a ação do paratormônio (PTH). As atividades diárias dos indivíduos geram tensões mecânicas nos ossos, que emitem sinais por meio dos osteócitos e são traduzidos em sinais biológicos, com o início da remodelação. Em casos de lesões ósseas, os osteócitos entram em apoptose, o que resulta na redução dos níveis do fator de crescimento transformador beta (*transforming growth factor beta* – TGF- $\beta$ ) e no aumento da osteoclastogênese (Katsimbri, 2017).

Na fase de reabsorção, os sinais emitidos pelos osteócitos ativam a formação e o recrutamento de osteoclastos, os quais vão se fixar na superfície do tecido ósseo e darão início ao processo de degradação, com formação das lacunas de Howship. Esse mecanismo envolve enzimas, como a anidrase carbônica II, a qual contribui para a dissolução da fração mineral óssea, a H<sup>+</sup>-ATPase, que bombeia H<sup>+</sup> para as lacunas, e as proteases, catepsina K e metaloproteinases, que desempenham função importante na degradação do colágeno. Na fase de reversão da remodelação óssea, ocorre a preparação da superfície para a deposição de novo tecido. Em sequência, na fase de formação, os osteoblastos sintetizam a matriz osteoide e, na última fase, a mineralização é concluída, e essas células se transformam em células de revestimento ósseo, se diferenciam em osteócitos ou sofrem apoptose (Delaissé *et al.*, 2003; Yasuda, 2021).

**Figura 3** – Fases da remodelação óssea.



Legenda: diagrama do ciclo de remodelação óssea – ativação, reabsorção, reversão, formação e mineralização.  
 Fonte: elaborada pela autora.

Durante a formação do tecido ósseo, sinais moleculares e fatores bioquímicos são essenciais para estimular a diferenciação de células mesenquimais em células osteogênicas. Dentre esses fatores, destacam-se as proteínas morfogenéticas ósseas (*bone morphogenetic proteins* – BMPs), o fator de crescimento endotelial vascular (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), o fator de crescimento de fibroblastos (*fibroblast growth factor* – FGF), o fator de crescimento derivado das plaquetas (*platelet-derived growth factor* – PDGF), o IGF, o PTH e o TGF- $\beta$  (Cho; Gerstenfeld; Einhorn, 2002; Dimitriou; Tsiridis; Giannoudis, 2005; Anusuya *et al.*, 2016; Bandyopadhyay *et al.*, 2006; Einhorn; Gerstenfeld, 2015; Khan; Bostrom; Lane, 2000).

### 3.2 INFLAMAÇÃO, ANGIOGÊNESE E REPARO ÓSSEO

O tecido ósseo, por apresentar mecanismos reparadores semelhantes à osteogênese embrionária, evidencia excelente capacidade regenerativa. Esse mecanismo é dinâmico e complexo, envolvendo várias moléculas e fatores de crescimento, MEC, células, vasos sanguíneos e nutrientes. Durante o reparo, a inflamação é essencial, pois elimina os agentes agressores ou restos teciduais. A fase aguda se inicia imediatamente após uma invasão de micro-organismos ou trauma e, geralmente, é resolvida em curto período de tempo. Essa resposta se caracteriza pela exsudação de líquido e proteínas plasmáticas, e pela emigração de leucócitos, predominantemente, neutrófilos polimorfonucleares. Essas células migram para o local da lesão para fagocitar e eliminar o agente nocivo e os restos teciduais (Dimitriou; Tsiridis; Giannoudis, 2005; Lin *et al.*, 2014; Fullerton; Gilroy, 2016; Walters; Pountos; Giannoudis, 2018).

Nesse estágio inicial, ocorre a dilatação dos capilares com aumento do fluxo sanguíneo e modificações na estrutura dos microvasos, o que possibilita a formação do edema e a diapedese leucocitária com o surgimento dos sinais cardinais da inflamação, como vermelhidão, dor, calor e edema. Em casos de inflamação aguda exacerbada, pode haver uma intensificação desses processos, com maior destruição tecidual e perda de funcionalidade na área comprometida (Fullerton; Gilroy, 2016; Loi *et al.*, 2016; Walters; Pountos; Giannoudis, 2018; Pajarinen *et al.*, 2019; Maruyama *et al.*, 2020; Brassolatti *et al.*, 2023).

Aproximadamente 24 horas após o início da lesão, o infiltrado inflamatório é gradualmente substituído por células mononucleares, especialmente, macrófagos e linfócitos, característicos da inflamação crônica. A resolução completa ocorre quando o estímulo nocivo é neutralizado pelos mediadores químicos ou eliminado, assim como os restos teciduais. A permanência do agente agressor ou falha no mecanismo resolutivo estende a fase crônica da resposta inflamatória por longos períodos e altera o processo de reparo tecidual. No que se refere ao tecido ósseo, quando há fraturas, o prolongamento dessa fase ocorre devido à presença de infecção, corpo estranho ou condições sistêmicas que dificultam o reparo tecidual, como, por exemplo, diabetes mellitus ou doenças autoimunes (Mosser; Edwards, 2008; Brown *et al.*, 2012; Fullerton; Gilroy, 2016; Walters; Pountos; Giannoudis, 2018; Pajarinen *et al.*, 2019; Maruyama *et al.*, 2020; Brassolatti *et al.*, 2023).

Durante a fase crônica da resposta inflamatória, os monócitos que migram para área lesionada se diferenciam em macrófagos com fenótipo M1, pró-inflamatório, os quais secretam mediadores químicos, quimiotáticos, como, por exemplo, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucinas, especialmente, IL-1 e IL-6, que ampliam a resposta tecidual. A evolução desse processo culmina com a mudança fenotípica dos macrófagos M1 para M2, que contribuem para o reparo tecidual por secretar mediadores químicos que favorecem a proliferação celular e a formação de novos vasos, a saber: TGF- $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-13, angiopoietina, FGF e VEGF. Esse último mecanismo é denominado angiogênese, fundamental para a consolidação do reparo tecidual. O surgimento desses novos vasos fornece suprimento sanguíneo, oxigênio e nutrientes, como glicose, aminoácidos, vitaminas e ácidos graxos, bem como facilita a remoção de resíduos metabólicos e possibilita a chegada de células essenciais nessa fase resolutiva (Tonnesen; Feng; Clark, 2000; Niu; Chen; Wu, 2023).

Nessa fase, essa resposta pode se apresentar como inflamação crônica granulomatosa, a qual é caracterizada pela presença de maior quantidade de macrófagos, bem como de células gigantes multinucleadas (CGMN), originárias da fusão desses fagócitos. Nesse sentido, esse tipo de reação é comum em casos de resposta à implantação de biomateriais (Brown *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2014; Walters; Pountos; Giannoudis, 2018; Maruyama *et al.*, 2020).

Em alguns casos, o tecido lesionado pode ser substituído por fibrose, especialmente quando esse tecido não possui capacidade regenerativa. Tal premissa pode ser exemplificada quando há comprometimento extenso do tecido ósseo, devido à ausência de MEC e insuficiente vascularização. Isso acarreta limitações funcionais e estéticas, com impactos na qualidade de vida do indivíduo e ao erário. Em tais situações, a perda óssea extensa necessita de tratamentos que estimulem a regeneração e o restabelecimento da anatomia e das funções perdidas. Uma das alternativas para tratar essas condições envolve a aplicação de enxertos ou biomateriais (Tonnesen; Feng; Clark, 2000; Niu; Chen; Wu, 2023).

### 3.3 BIOMATERIAIS

A medicina regenerativa busca estratégias de tratamento para tecidos lesionados por meio do manejo e da expansão do potencial regenerativo dos diversos tecidos. No contexto da regeneração tecidual óssea, a bioengenharia tecidual busca o desenvolvimento de técnicas,

enxertos e biomateriais para o incremento ósseo, e, para esse fim, se utiliza de fundamentos da medicina, da engenharia, da física e das ciências biológicas (Walmsley *et al.*, 2016).

Dentre as possíveis estratégias, podem ser utilizados os enxertos autógenos, homogêneos e heterogêneos. O enxerto autógeno, considerado como padrão-ouro, é obtido por meio do próprio indivíduo. Essa técnica envolve a remoção de tecido ósseo de uma área doadora para uma receptora, o que proporciona suprimento direto de MEC, células da linhagem osteoblástica e suprimento vascular, com menor risco de reação de corpo estranho, o que confere maior possibilidade de sucesso à transferência. Embora, esse tipo de enxerto ofereça vantagens significativas, ele não é totalmente isento de complicações. Podem ocorrer desvantagens, como infecções, área doadora insuficiente diante da extensão da perda óssea, morbidade associada a complicações pós-cirúrgicas e redução do volume ósseo enxertado (Pape; Evans; Kobbe, 2010). No enxerto do tipo homogêneo, sua obtenção ocorre a partir de indivíduos diferentes, porém da mesma espécie, e sua obtenção ocorre por meio de banco de ossos, sem necessidade de remoção da área doadora do próprio indivíduo. Porém apresenta elevado risco de infecção e transmissão de doenças infectocontagiosas (Contar *et al.*, 2009; Tanaka *et al.*, 2008). Por fim, o enxerto heterogêneo possui características similares aos homogêneos, porém é obtido de espécies diferentes, como, por exemplo: o enxerto de origem bovina, que possui elevada utilização para a regeneração óssea. No entanto, o uso de enxertos bovinos pode apresentar desvantagens, como o risco de reações imunológicas e a necessidade de rigoroso processamento para garantir sua segurança e biocompatibilidade (Develioglu *et al.*, 2010).

Devido às limitações associadas aos enxertos autógenos, homogêneos e heterogêneos, como disponibilidade limitada de material, morbidade da área doadora e riscos de infecção ou rejeição, houve um impulso significativo no desenvolvimento de biomateriais. Os biomateriais, são dispositivos que interagem com sistemas biológicos e utilizados, como, por exemplo, em aplicações diagnósticas e terapêuticas. Esses materiais, de origem natural ou sintética, são aplicados de forma temporária ou permanente nos tecidos lesionados ou perdidos. Na bioengenharia tecidual óssea, esses biomateriais podem ser metálicos, poliméricos, cerâmicos ou compósitos e se apresentam sob a forma de sólidos, géis, *scaffolds*, pastas e esponjas. O objetivo da implantação desses materiais é estimular a migração, a diferenciação e a adesão de células ósseas para promover a regeneração óssea (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

A evolução dos biomateriais, ao longo do tempo, demonstra um progresso contínuo em direção a soluções mais eficazes para a regeneração tecidual e pode ser categorizada em

gerações. A primeira geração foi desenvolvida com o objetivo de minimizar as reações imunogênicas entre o material e o tecido substituído. Esses biomateriais, conhecidos como bioinertes, tinham uma interação mínima com o tecido circundante, quando aplicados no organismo. Como resultado, eles não favoreciam a formação de tecido ósseo e, frequentemente, levavam ao desenvolvimento de fibrose. Como exemplos, incluem-se metais (titânio e ligas de titânio, aço inoxidável e ligas de cobalto-cromo), polímeros sintéticos (polimetilmetacrilato) e cerâmicas (alumina e zircônia) (Sinhoreti; Vitti; Correr-Sobrinho, 2013).

Na segunda geração, o enfoque principal foi dirigido aos materiais bioativos e biodegradáveis, como os fosfatos de cálcio de origem sintética ou natural, como, por exemplo, osso bovino, corais e algas, bem como vidros bioativos à base de sílica. A terceira geração tem como objetivo a regeneração tecidual funcional, para promover uma resposta celular favorável quanto à diferenciação e à proliferação de células no mecanismo de reparo. Nesse contexto, foram desenvolvidas estratégias como o uso de fatores solúveis, incluídos os fatores de crescimento, citocinas e hormônios, e fatores insolúveis, como moléculas da MEC e adaptações das propriedades mecânicas. Além disso, fatores externos, como nível de carga mecânica e tensão de cisalhamento, também são considerados importantes nesse contexto (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015). Além disso, temos a quarta geração denominada como de biomateriais inteligentes, que podem se apresentar em formatos de hidrogéis e nanomateriais, e com estruturas distintas, na qual cada molécula tem uma ação específica dentro do sistema. Esses materiais são projetados para desempenhar funções complexas, porém de maneira coordenada, na busca de assemelhar-se com os sistemas biológicos (Amukarimi; Ramakrishna; Mozafari, 2021).

Na medicina regenerativa, as propriedades dos biomateriais, como biocompatibilidade, bioatividade, biodegradabilidade, bioreabsorção, osteocondução, osteoindução e osteointegração, são fundamentais para garantir bons resultados na integração entre o material e o tecido substituído. A biocompatibilidade é um fator essencial na interação entre o biomaterial, a MEC e as células, pois se refere a sua capacidade de adaptação ao meio biológico, sem provocar respostas adversas, como reações alérgicas ou inflamação exacerbada, com vistas à redução de complicações pós-operatórias (Menezes; Freitas; Gonçalves, 2009; Nascimento; Lombello, 2016).

A bioatividade é caracterizada pela solubilização do biomaterial nos fluidos teciduais, com liberação de íons para o meio, propriedade presente nas biocerâmicas. Esses íons interagem ativamente com os componentes moleculares e celulares, o que favorece a



regeneração óssea (Eliaz; Metoki, 2017). Por sua vez, a biodegradabilidade é a capacidade de um biomaterial se decompor ao longo do tempo, sendo gradualmente substituído por tecido ósseo (Oliveira *et al.*, 2010). Já a biorreabsorção, propriedade atribuída a algumas cerâmicas, como os fosfatos de cálcio, refere-se à interação do biomaterial com o meio biológico e sua degradação, com substituição por tecido ósseo ou conjuntivo fibroso (Zong *et al.* 2024).

A osteocondução é o fenômeno osteogênico pelo qual um biomaterial serve de arcabouço para o desenvolvimento de tecido ósseo sobre sua superfície e no interior de seu arranjo tridimensional. Isso ocorre devido à angiogênese e à diferenciação de células mesenquimais em células da linhagem osteogênica, fatores essenciais à formação óssea no leito receptor. As cerâmicas, como a HA, o fosfato tricálcio (TCP) e os biovidros são osteocondutores pela sua capacidade de íntima associação ao tecido ósseo, o que favorece a osteointegração (Albrektsson; Johansson, 2001). A osteoindução, por sua vez, favorece a diferenciação local das células mesenquimais em osteoblastos e, assim, possibilita neoformação óssea quando o biomaterial é implantado em locais extraósseos (Eliaz; Metoki, 2017).

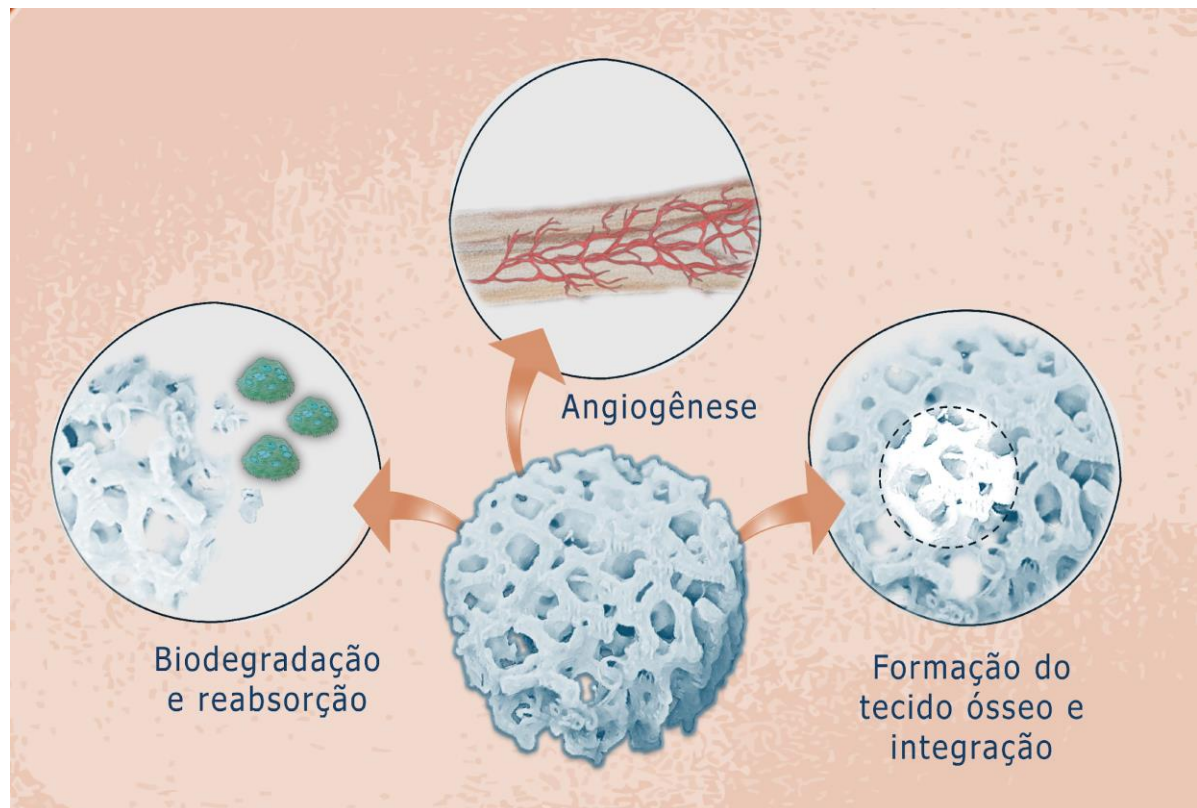
Ainda nesse contexto, a osteointegração é o mecanismo pelo qual um biomaterial se conecta diretamente ao tecido ósseo, com a formação de uma ligação estrutural e funcional, sem a interposição de tecido conjuntivo fibroso. Nesse âmbito, a angiogênese cria um ambiente favorável à regeneração óssea, pois os vasos sanguíneos recém-formados possibilitam o fornecimento de suprimentos essenciais, como oxigênio, fatores de crescimento e células osteoprogenitoras. Além disso, possibilita a remoção de subprodutos do metabolismo, como lactato, ureia e dióxido de carbono (Albrektsson; Johansson, 2001).

Os biomateriais podem ser desenvolvidos em diversos formatos, como partículas, filmes, fibras, membranas e *scaffolds*, cada um adaptado às necessidades específicas da aplicação biomédica. Entre esses, os *scaffolds* se destacam por fornecerem suporte estrutural que facilita a regeneração no tecido, como o osso, além de promoverem a angiogênese. Essas estruturas tridimensionais mimetizam a matriz extracelular natural e oferecem um ambiente propício para adesão, proliferação e diferenciação celular, essenciais para o sucesso da engenharia tecidual (Figura 4) (Dec; Modrzejewski; Pawlik, *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2010).

Quanto ao ciclo dos *scaffolds*, no mecanismo da regeneração óssea, estão inseridas as seguintes etapas: biodegradação e reabsorção, angiogênese, formação do tecido ósseo e integração. A primeira está relacionada com a interação do *scaffolds* com células osteogênicas por meio de sua porosidade, o que favorece substituição gradativa por novo tecido ósseo.

Logo em seguida, a angiogênese, por meio da formação de novos vasos sanguíneos, fornecerá nutrientes e oxigênio para que ocorra a regeneração do tecido. A última etapa envolve a formação do tecido, com a integração do *scaffold* no meio biológico (Nikolova; Chavali, 2019).

**Figura 4** – Regeneração óssea mediada por *scaffolds*: biodegradação e reabsorção, angiogênese e formação do tecido ósseo.



Fonte: elaborada pela autora.

Os biomateriais são classificados, de acordo com a sua origem, em natural ou sintético; ou, quanto a sua composição química, como metálicos, polímeros, cerâmicas e compósitos (Sinhoreti; Vitti; Correr-Sobrinho, 2013). Os metais são amplamente utilizados na bioengenharia tecidual óssea, devido a sua alta resistência à fratura e capacidade de estabilizar tecidos submetidos a grandes cargas de tração e compressão. Dentre os metais mais comuns, estão as ligas de titânio, ligas de cromo-cobalto e o aço inoxidável. Esse último é conhecido por sua resistência à corrosão e biocompatibilidade, e é frequentemente utilizado em fixadores ortopédicos. Comparado ao aço inoxidável, o titânio e suas ligas oferecem maior biocompatibilidade, resistência superior à corrosão, baixa densidade, baixo módulo de elasticidade e melhor osteointegração (Dewey; Harley, 2021).

Além do tipo citado acima, também existem os biomateriais poliméricos, que são macromoléculas de alta massa molar, formadas pela ligação de unidades menores chamadas monômeros, que se repetem ao longo de uma cadeia principal. Eles podem ser de origem natural ou sintética. Os primeiros são biocompatíveis, biodegradáveis e não tóxicos, e os exemplos incluem proteínas, como colágeno, elastina, albumina e fibrina; e polissacarídeos, como quitosana, ácido hialurônico, alginato e celulose (Dec; Modrzejewski; Pawlik, 2022).

O colágeno, uma proteína fibrosa e o principal componente da MEC orgânica, atua como um suporte natural para as células do tecido ósseo, o qual estimula a formação e o crescimento do tecido. Suas propriedades, associadas com sua biocompatibilidade e estabilidade, são fundamentais para a síntese de biomateriais de diferentes formas e aplicações, como, por exemplo; suportes para crescimento celular; membranas e géis para hemostasia; e esponjas para utilização em queimaduras. Além disso, esse polímero oferece um suporte estrutural e desempenha uma função essencial na formação de tecidos e órgãos, na orientação de diversas moléculas e nas expressões funcionais das células. Nesse contexto, o colágeno é uma matéria-prima adequada, com ampla aplicação clínica, especialmente na bioengenharia tecidual óssea (Fan *et al.*, 2022)

Por sua vez, os polímeros sintéticos são facilmente adaptáveis, permitem manipulação em termos de tamanho, forma e propriedades mecânicas, a exemplo da viscoelasticidade. Os principais tipos desses polímeros são: poliamidas, polietileno, poliésteres e polipropileno. Esses biomateriais apresentam vantagens, como a degradação controlada, o que possibilita a síntese consistente e reprodutível. No entanto, apesar de suas propriedades funcionais favoráveis, podem causar reações adversas durante a degradação, o que resulta em inflamação persistente no paciente (Pires; Bierhalz; Moraes, 2015).

Nas últimas décadas, há um crescente interesse pelos biomateriais cerâmicos devido a suas propriedades, dentre as quais se destacam a semelhança com a fração inorgânica do tecido ósseo, biocompatibilidade e bioatividade, que são essenciais para potencializar a regeneração óssea. Esse grupo de materiais são compostos inorgânicos que, devido a suas propriedades cristalográficas e sua biocompatibilidade, encontram aplicação em diversas áreas da saúde, incluídos os dispositivos para reconstrução maxilofacial, próteses ortopédicas, instrumentos de diagnóstico, traqueias artificiais e válvulas cardíacas (Eliaz; Metoki, 2017).

Essas cerâmicas podem ser classificadas em bioinertes, bioativas e biorreabsorvíveis. As bioinertes, como alumina e zircônia, são projetadas para ser quimicamente estáveis, não induzir respostas imunogênicas significativas e nem suscitar a mínima inflamação nos tecidos circundantes. As bioativas interagem diretamente com o tecido ósseo, promovem a adesão do

biomaterial e estimulam a regeneração óssea. Exemplos notáveis incluem a HA, biovidros e vitrocerâmicas. E ainda: as cerâmicas biorreabsorvíveis se integram ao metabolismo do organismo e se degradam gradualmente por processos biológicos ou químicos, sendo absorvidas e substituídas pelo tecido ósseo. Como exemplo dessas cerâmicas, está incluso o TCP (Sinhoreti; Vitti; Correr-Sobrinho, 2013).

Dentre os biomateriais cerâmicos, os CaPs fazem parte de um grupo de minerais que contêm cátions de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) combinados com ortofosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), metafosfato ( $\text{PO}_3^-$ ) ou pirofosfato ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ), e, ocasionalmente, íons de hidrogênio ( $\text{H}^+$ ) ou hidróxido ( $\text{OH}^-$ ). O CaP constitui cerca de 60% do peso do osso, como seu principal componente inorgânico, e cerca de 90% do esmalte dentário. Essa família de biomateriais possui alto potencial para aplicações clínicas, especialmente em tratamentos para regeneração de defeitos ósseos críticos. Eles podem ser sintetizados por métodos de precipitação em condições alcalinas ou ácidas, compostos por íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  (Costa *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2012).

A razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo varia de 0,5 a 2,0, o que permite a classificação de diferentes formas de CaP (Quadro 1). Uma razão atômica Ca/P entre 1,5 e 1,67 é denominada apatitas, como a HA. Vale destacar que valores menores da razão molar Ca/P indicam que esses CaP são mais solúveis e apresentam maior taxa de degradação (Costa *et al.*, 2009).

**Quadro 1** – Classificação dos CaPs de acordo com a razão molar

<b>Classificação dos CaPs de acordo com a razão molar</b>		
<b>Fosfato de cálcio</b>	<b>Fórmula química</b>	<b>Ca/P</b>
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{CaO}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico ( $\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$\text{CaHPO}_4$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.4 HIDROXIAPATITA

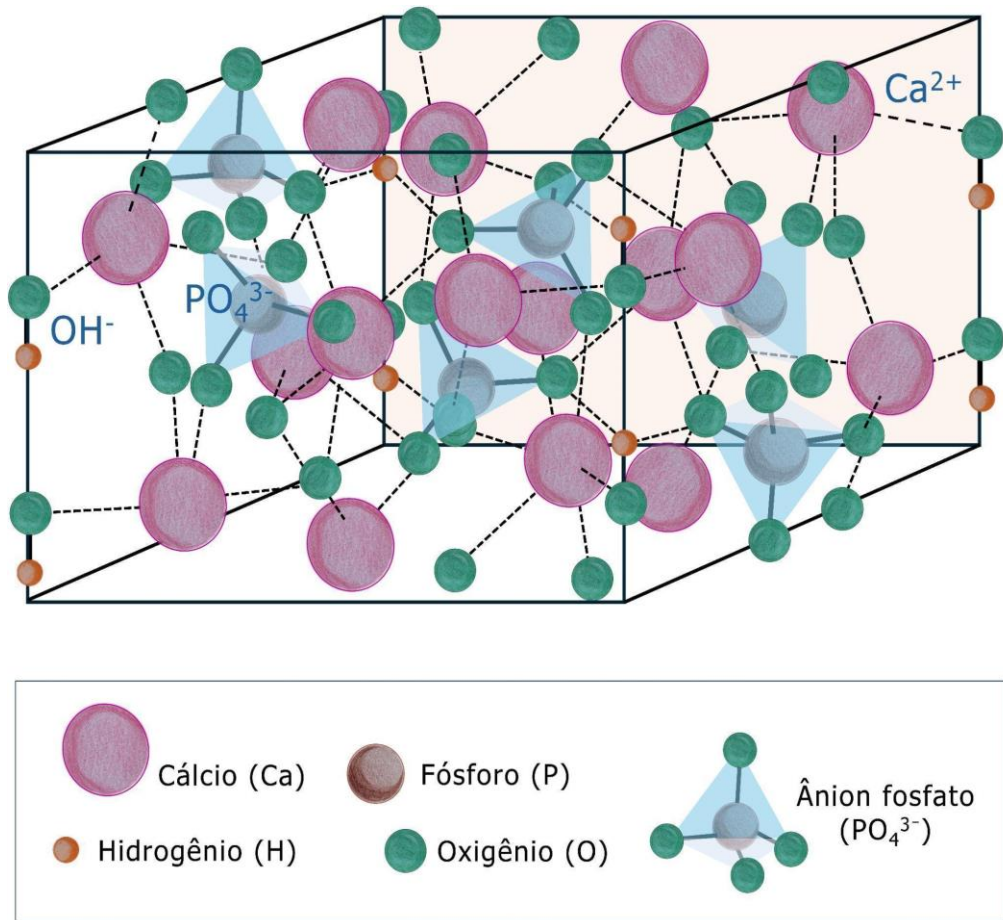
A HA é um biomaterial cerâmico, composto por fosfato de cálcio (CaP) e hidroxila (OH), representado pela composição química estequiométrica  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  e estrutura cristalina. Essa cerâmica apresenta fase inorgânica semelhante à do tecido ósseo, e, dentre suas propriedades, se incluem biocompatibilidade, osteocondução e osseointegração, que a tornam um material fundamental na regeneração óssea. No entanto, sua fragilidade e baixa tenacidade à fratura, que variam conforme a rota de síntese utilizada, limitam seu uso em áreas de alto impacto mecânico (Arcos; Vallet-Regí, 2020). Nesse sentido, para superar essas limitações, algumas estratégias são usadas. Dentre elas, destacam-se, dopagem com íons e a modificação estrutural da HA, as quais têm sido exploradas para melhorar suas propriedades em aplicações biomédicas.

Na bioengenharia tecidual óssea, biomateriais à base de HA são amplamente utilizados para promover a neoformação óssea. A estrutura porosa desse biomaterial, similar à do tecido ósseo, oferece um ambiente favorável para o crescimento celular e vascularização, o que otimiza a regeneração de defeitos ósseos críticos. Além disso, a HA apresenta propriedades osteocondutoras e de osseointegração que facilitam a adesão e o crescimento do tecido ósseo sobre o material, essencial para o sucesso de implantes e próteses. Na ortopedia, a HA é empregada para revestir próteses metálicas, o que estabelece uma interface biocompatível entre o implante e o tecido ósseo. Na odontologia, suas aplicações são diversas, o que inclui a prevenção da perda óssea alveolar após exodontias, tratamento de áreas com reabsorção óssea e o revestimento de pinos de titânio em implantes (Mondal *et al.*, 2023).

Quanto à origem da HA, ela pode ser natural ou sintética. Ambas as formas apresentam porosidade e contribuem significativamente em aplicações clínicas nas diversas áreas da medicina, odontologia, bioengenharia de tecidos e em pesquisas científicas. A origem natural desse mineral provém, principalmente, dos tecidos biológicos, e sua formação está relacionada à atividade dos osteoblastos que sintetizam matriz orgânica, composta, principalmente, por colágeno do tipo I e atua como suporte para deposição da HA. Além disso, esse mineral pode ser encontrado também em ossos bovinos, espécies marinhas e em ovos, uma vez que a casca do ovo possui uma estrutura rica em minerais como o carbonato de cálcio e HA (Gomes *et al.*, 2012).

A sua fórmula estequiométrica  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , similar à composição inorgânica de ossos e dentes, apresenta-se como uma célula unitária hexagonal, com um grupo espacial  $P6_3$ , densidade de 3,16 Kg/m<sup>3</sup>, e seus parâmetros de rede são  $a = b = 0,9423$  nm e  $c = 0,6875$  nm. A célula unitária hexagonal é composta por 10 íons de cálcio, localizados em sítios não equivalentes: quatro estão localizados no sítio I, tetraédricos ( $\text{Ca}_1$ ), ao longo de colunas paralelas no eixo C, e os outros seis no sítio II, octaédrico ( $\text{Ca}_2$ ) e estão relacionados a dois grupos OH. Os íons hidroxila ficam abaixo dos triângulos de cálcio, e os quatros átomos de oxigênio, em relação à direção C, dois estão em planos perpendiculares e dois estão paralelos a essa direção (Figura 5) (Guastaldi; Aparecida, 2010).

**Figura 5** – Célula unitária hexagonal da hidroxiapatita.



Fonte: elaborada pela autora.

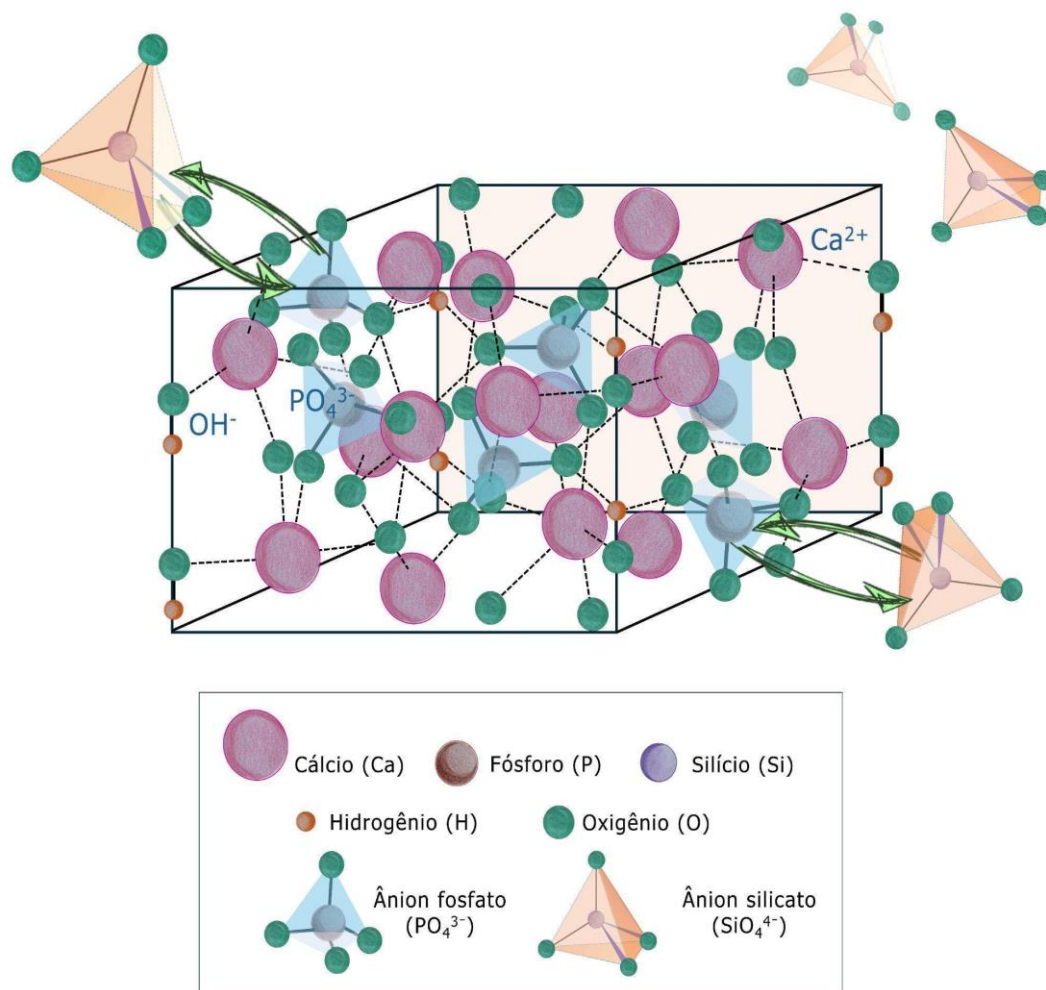
A crescente demanda por biomateriais que proporcionem suporte ou reparem o tecido ósseo, associada à elevada incidência de falhas em suas aplicações, tem levado a bioengenharia tecidual a desenvolver pesquisas em busca de soluções que melhorem a relação entre o meio biológico e o material implantado, visto ser necessário que haja reabsorção ao longo do tempo no mecanismo da regeneração óssea (Shojai *et al.*, 2013). Nesse contexto, para melhorar a sua bioatividade, a HA permite substituições por ânions ou cátions em sua estrutura, com capacidade de abranger metade dos elementos da tabela periódica em sua composição e, dessa forma, desempenhar papel semelhante ao das apatitas biológicas (Arcos; Vallet-Regí, 2020).

A fórmula estequiométrica da HA, Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>, permite substituições nas posições dos íons cálcio (Ca<sup>2+</sup>), que podem ser substituídos por metais monovalentes e divalentes, como K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>; nos grupo

fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), por arsenato, sulfato, vanadato, carbonato e silicato; e, nos grupos hidroxilas, por cloro e flúor. Algumas substituições podem mudar os parâmetros de rede ( $a = b = 0,9423$  nm e  $c = 0,6875$  nm). Logo, podem provocar a redução da cristalinidade e da estabilidade da HA, com aumento de sua solubilidade (Guastaldi; Aparecida, 2010).

Dentre as substituições da HA, uma das cerâmicas mais interessantes, que melhoram sua bioatividade é a HA substituída por Si (SiHA):  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6_{2x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2x}$ . O SiHA apresenta uma melhor biocompatibilidade e se liga rápido ao tecido ósseo após o implante, com osteointegração do biomaterial e redução em falhas de implantes. Na SiHA, os ânions silicato ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) substituem diretamente os ânions fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) na rede cristalina da apatita (Figura 6) (Arcos; Vallet-Regí, 2020; Palard; Champion; Foucaud, 2008; Ribeiro *et al.*, 2020).

**Figura 6** – Rede cristalina da hidroxiapatita substituída com sílica.



Legenda: diagrama esquemático das redes de HA e Si-HA. Ânions silicato ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) substituem os ânions fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) na estrutura cristalina da apatita.

Fonte: elaborada pela autora.

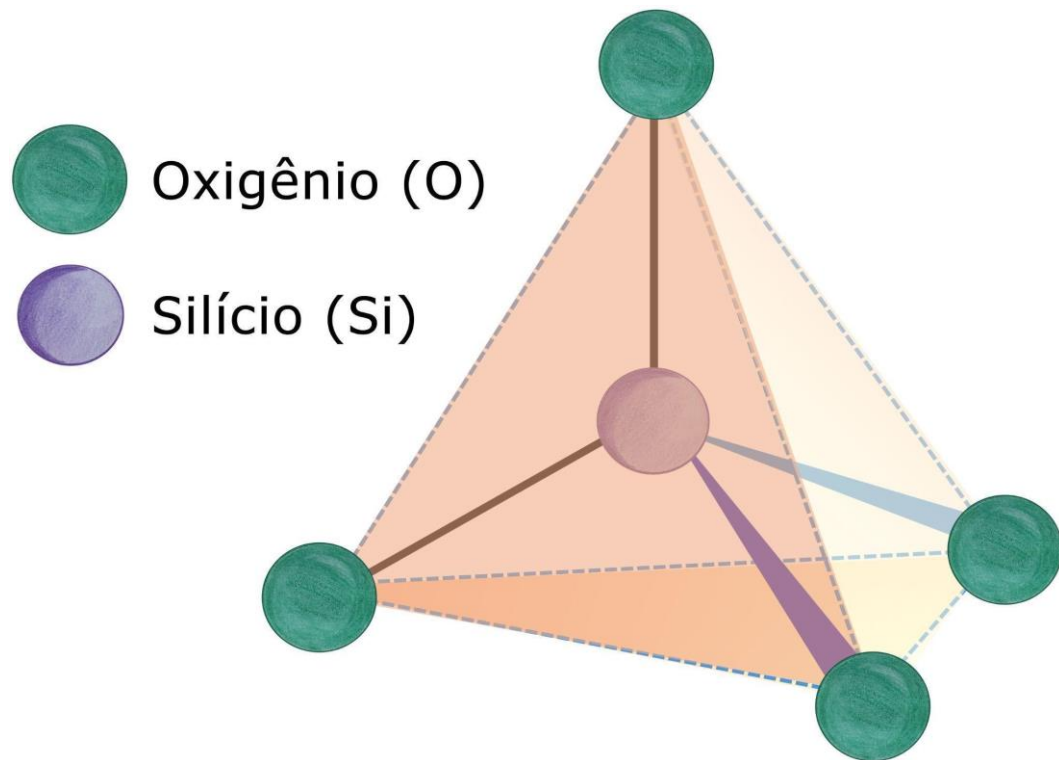


### 3.5 SILÍCIO

O termo silício é oriundo do latim *sílex* ou *silicis*, que significa pedra dura. Esse material se apresenta na natureza como um sólido rígido, com brilho metálico e coloração próxima ao cinza escuro. Sua composição, na superfície terrestre, é de 27,7% em relação aos inúmeros elementos químicos que podem ser extraídos de fontes naturais. O Si, quando estabelece uma ligação com átomos de O, forma o dióxido de silício ( $\text{SiO}_2$ ), e essa estrutura formada pode se associar a outros elementos, como magnésio, potássio, alumínio, ferro e cálcio, para formar silicatos. Essencialmente, a unidade tetraédrica apresenta fórmula química  $\text{SiO}_4$ , na qual é formada por um átomo de Si ligado a quatro átomos de O. Essa estrutura exibe uma configuração cristalina de perfil amorfo (Schleier; Galitesi; Ferreira, 2014).

O equilíbrio tetraédrico do composto  $\text{SiO}_4$  ocorre quando os raios catiônicos e aniônicos apresentam uma variação entre 0,225 à 0,414, ou seja, o tamanho desses átomos influencia diretamente nas ligações químicas formadas e no número de ânions que podem se associar ao redor dos cátions. Nesse contexto, o  $\text{SiO}_4$  apresenta uma razão entre os raios de Si e O em torno de 0,29 Å, com o raio do silício 0,40 Å e o do oxigênio 1,40 Å. Essas propriedades determinam o tipo de coordenação tetraédrica e, conseqüentemente, influenciam na energia de ligação desses átomos para a formação da rede cristalina tridimensional, tanto relacionadas aos átomos de O como pelos grupos tetraedros próximos, que formam o arranjo cristalino e diferentes estruturas (Figura 7) (Gomes; Furtado; Souza, 2018; Schleier; Galitesi; Ferreira, 2014).

**Figura 7** – Unidade básica dos tetraedros de sílica ( $\text{SiO}_4$ ).



Fonte: elaborada pela autora.

A sílica pode se apresentar sem modificações em sua unidade estrutural, em diferentes formas: cristalinas e amorfas. As cristalinas, em sua forma natural, são representadas por quartzo, tridimita e cristobalita, e seus átomos de O e Si estão dispostos em grupos que influenciam na estabilidade do cristal; e, quando sintetizados, formam estruturas denominadas coesita e stishovita. A sílica amorfa pode ser encontrada na natureza em terras diatomáceas, ou a partir de algas, do arroz, da cana-de-açúcar e de esponjas. Nas esponjas marinhas ou de água doce, o Si é absorvido pelas raízes desses organismos e armazenado nas paredes da epiderme dessas estruturas sob a forma de sílica em gel. Além disso, a presença desse material na estrutura desses organismos confere resistência mecânica necessária para sua sobrevivência no meio ambiente (Gomes; Furtado; Souza, 2018).

Na bioengenharia tecidual, os biomateriais à base de Si são amplamente investigados para aplicações clínicas, pois, devido a sua elevada capacidade de facilitar as interações com células osteogênicas, estimulam a adesão e a proliferação celular, além de promoverem melhorias na bioatividade e osteocondutividade, com favorecimento da mineralização do tecido ósseo. De fato, o Si é reconhecido como um elemento fundamental na classe das

cerâmicas, amplamente utilizado como substituto na estrutura cristalina da HA, o que lhe confere melhor bioatividade e proporciona condições favoráveis para um melhor desempenho (Arcos; Vallet-Regí, 2020).

Diferentes estudos indicam que os biomateriais que apresentam SiHA possibilitam uma maior atividade de osteoblastos, devido à substituição de íons fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ) por íons silicato ( $\text{SiO}_4^{-4}$ ). O Si substitui o grupo  $\text{PO}_4^{-3}$ , na estrutura estequiométrica da HA, com formação dos íons ( $\text{SiO}_4^{-4}$ ), associado à vacância da hidroxila ( $\text{OH}^-$ ), representada pela fórmula:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6-x(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_2$  (Queiroz *et al.*, 2012). Ademais, essa substituição também tem papel fundamental na osteointegração, propriedade biológica já evidenciada em estudos que investigaram o desempenho desses biomateriais em ensaios *in vivo* e *in vitro* (Arcos; Vallet-Regí, 2020; Tian *et al.*, 2008). Honda *et al.* (2012), relatam que o Si influencia a proliferação e a morfologia dos osteoblastos e, por consequência, a ação biológica da HA, o que o torna uma ótima alternativa para a regeneração óssea. O Si, na substituição da estrutura cristalina da HA, proporciona melhoria da bioatividade, em comparação a HA pura (Bose *et al.*, 2013; Tian *et al.*, 2008).

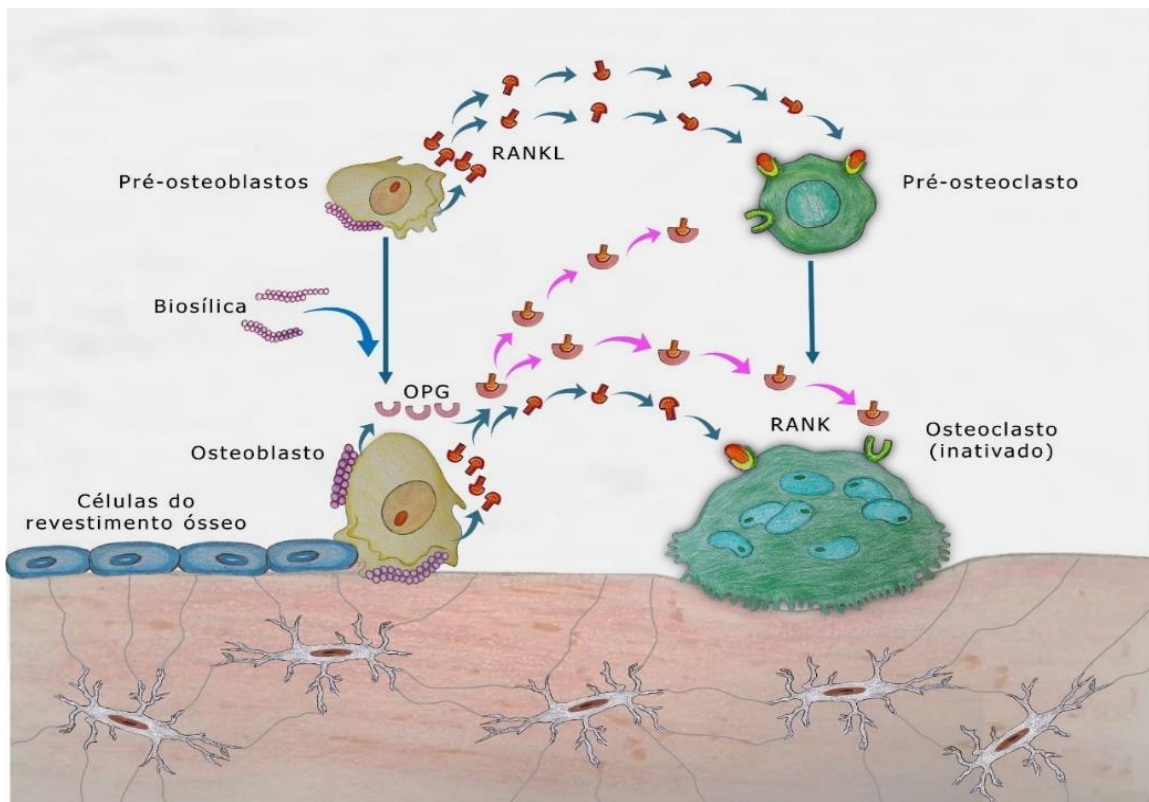
O Si, ao longo das décadas, tem demonstrado propriedades ideais para a formação do tecido ósseo e a mineralização, as quais incluem bioatividade, osseointegração e biodegradação. O pesquisador Carlisle (1970) foi um dos primeiros a investigar o uso do Si em suas pesquisas, as quais constataram que a deficiência de Si, na formação do tecido ósseo, impedia o desenvolvimento adequado desse tecido em ratos e galinhas. Reffitt *et al.* (2003) identificaram que a interação do Si com o biomaterial favorece a síntese de colágeno do tipo I, a proliferação de osteoblastos e a obtenção do reparo ósseo. Khan *et al.* (2014) também constataram que a presença de Si, como substituto em CaPs, melhora sua bioatividade (Bose *et al.* 2013; Porter, 2006).

Além disso, o silício é encontrado nos ossos e no tecido conjuntivo em pequenas porções e desenvolve função biológica no corpo humano. Em estudos pré-clínicos com modelo animal, foi observado que a ausência do Si pode afetar a formação do tecido ósseo, e isso ocorre porque esse elemento se encontra presente nas fases iniciais da mineralização óssea (Bose *et al.*, 2013). Em CaPs substituídos por Si, sua presença estimula a atividade biológica e aumenta a solubilidade do biomaterial, o que leva a uma superfície mais negativa, com uma microestrutura mais delgada e transformação do biomaterial em uma apatita, semelhante, biologicamente, ao tecido ósseo. As primeiras aplicações de Si em CaPs foram investigadas como uma forma de estabilizar o  $\beta$ -TCP, sinterizado em altas temperaturas, para

evitar a formação de  $\alpha$ -TCP, que é uma forma mais solúvel e instável de CaP (Porter, 2006; Zhou *et al.*, 2017).

Em estudos de SiHA, com *scaffolds* implantados de diferentes concentrações, em defeito ósseo em fêmur de coelho, os resultados mostraram que houve aumento do crescimento do tecido ósseo, em comparação com a HA pura (Hing *et al.*, 2006). Outro estudo, que também investigou a SiHA, porém em grânulos, com o mesmo modelo animal, encontrou resultados semelhantes, o que reforça a resposta positiva desse elemento na bioatividade do biomaterial na remodelação óssea após a implantação (Patel *et al.*, 2002). Estudos indicam que nanopartículas de sílica possuem um grande potencial na diferenciação de osteoblastos, especialmente quando apresentam um diâmetro específico de 50 nm. Essas partículas podem ativar a proteína RANKL, que desempenha um papel fundamental no mecanismo de reabsorção óssea. Quando o RANKL se liga à OPG, sua função de estimular a diferenciação dos osteoclastos é inibida, o que contribui para o equilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea. Além disso, a biossílica, um material biológico composto por SiO<sub>2</sub> originado de organismos vivos, como esponjas marinhas, também tem despertado interesse devido a suas propriedades bioativas. O seu mecanismo consiste na interação direta com os osteoblastos, com estimulação da OPG e bloqueio da relação do RANK com RANKL, o que inibe a ativação dos osteoclastos. Dessa forma, materiais à base SiHA, nanopartículas de sílica e biossílica, demonstram potencial osteogênico em promover a regeneração óssea e a regulação do equilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea (Figura 8) (Zhou *et al.*, 2017).

**Figura 8** – Ação da biossílica em osteoblastos e osteoclastos.



Legenda – A ação da biossílica em osteoblastos, osteoclastos e seus progenitores aumenta a expressão de OPG nos osteoblastos.

Fonte: elaborada pela autora.

O Si estimula a proliferação e diferenciação dos osteoblastos, a diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais e a mineralização do tecido ósseo. Sugere-se que o mecanismo do reparo ósseo, induzido pelo Si, seja possivelmente causado pela síntese ou estabilização do colágeno, a proteína mais abundante na matriz óssea. Além das vantagens osteogênicas da substituição de Si em CaPs, vários estudos recentes observaram que o Si também pode ter capacidades angiogênicas. Em um estudo com biomaterial de silicato de cálcio sem fósforo, os resultados indicaram a presença de expressão de VEGF induzida por Si. Da mesma forma, outro estudo, que utilizou um silicato de cálcio em defeito de fêmur de coelho, também demonstrou angiogênese quando implantado em CaPs (Bose *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2017).

A teoria de dissolução-reprecipitação da apatita foi aplicada para explicar o papel biológico do Si em biomateriais cerâmicos durante a formação do tecido ósseo. Nesse processo, a apatita biológica começa a se precipitar, na proximidade da superfície do revestimento cerâmico, devido à dissolução de íons de cálcio e fosfato, o que aumenta a

concentração desses íons localmente. A partir dessa modificação na superfície da cerâmica, proteínas e osteoblastos se aderem, o que promove a formação de novo tecido ósseo (Porter, 2006). O Si demonstra ser essencial para promover a dissolução controlada do biomaterial ao redor do tecido, o que facilita a regeneração óssea. Estudos indicam que a reprecipitação da apatita ocorre de forma mais rápida quando o biomaterial cerâmico contém substituições por Si, e isso se deve ao fato de que desse mineral aumenta a solubilidade da HA, o que a torna mais bioativa. Além disso, a SiHA apresenta grânulos menores e menos ordenados, em comparação com a HA estequiométrica, o que melhora sua solubilidade e influencia positivamente a topografia do biomaterial (Khan *et al.*, 2014; Porter, 2006).

Esse mecanismo de dissolução e reprecipitação do Si facilita a formação da apatita e também exerce uma função fundamental na mineralização óssea. Nesse contexto, a presença de Si na mineralização óssea demanda menores quantidades para conferir estabilidade à apatita biológica, o que favorece o crescimento do novo tecido ósseo. O Si exerce função essencial no metabolismo do tecido conjuntivo, e sua ausência pode resultar em menor proliferação de osteoblastos e um comprometimento na função de reabsorção dos osteoclastos. Nesse contexto, os biomateriais à base de SiHA têm impacto significativo na diferenciação dos osteoblastos, especificamente na interação entre a interface do biomaterial e o tecido ósseo, o que demonstra a importância desse íon na promoção de processos regenerativos (Porter; Best; Bonfield, 2004).

A presença de silício (Si) na mineralização óssea é crucial, pois requer quantidades reduzidas para garantir a estabilidade da apatita biológica, favorecendo, assim, o crescimento do novo tecido ósseo. O Si desempenha um papel fundamental no metabolismo do tecido conjuntivo, sendo sua ausência associada à diminuição da proliferação de osteoblastos e ao comprometimento da função de reabsorção dos osteoclastos. Nesse contexto, biomateriais à base de hidroxiapatita (HA) com substituição por Si têm um impacto relevante na diferenciação dos osteoblastos, especialmente na interação entre a interface do biomaterial e o tecido ósseo, destacando a importância do Si na promoção de processos regenerativos (Porter; Best; Bonfield, 2004).

O desempenho dos osteoblastos em biomateriais cerâmicos substituídos por Si foi analisado em uma pesquisa, em que eles foram divididos em grupos, com diferentes concentrações de HA, substituída por Si, em 0,8% e 1,5% no formato de discos. Esses biomateriais foram avaliados em culturas celulares *in vitro*, com utilização de marcadores, como proteína total, colágeno tipo I, fosfatase alcalina, osteocalcina e contagem de osteoblastos. As amostras foram obtidas de células osteoblásticas humanas coletadas de

pacientes submetidos a cirurgia de quadril ao longo de 27 dias. A partir do 7º dia, uma solução de hidrocortisona foi aplicada em dias alternados, para simular os efeitos fisiológicos dos marcadores analisados (Botelho *et al.*, 2006; Khan *et al.*, 2014).

Entre os marcadores medidos, a proteína total apresentou maior significância no grupo com HA substituída por 0,8% de Si, ao longo dos 27 dias, em comparação com os outros biomateriais. A expressão do colágeno tipo I também foi mais alta nessa concentração, e a fosfatase alcalina, analisada em conjunto com o colágeno tipo I, mostrou uma maior integração e proliferação celular. A liberação de osteocalcina alcançou níveis mais elevados na concentração de 0,8% de Si. De modo geral, a HA substituída por Si se manteve constante, em termos de proliferação celular e mineralização ao longo do período, com o desempenho da concentração de 0,8% superior em comparação com a concentração de 1,5% (Botelho *et al.*, 2006)

O silício apresenta uma ampla gama de aplicações biomédicas voltadas para o reparo ósseo, visto que é considerado um componente essencial na mineralização óssea. Esse elemento é fundamental para o desenvolvimento e a proliferação de células osteogênicas, especialmente em estágios iniciais da mineralização (Reffitt *et al.*, 2003). Esse elemento também é frequentemente utilizado em cerâmicas do tipo biovidro, devido a sua capacidade de promover a mineralização do tecido ósseo. No entanto, apesar da importância do Si, ainda não há um padrão específico estabelecido para as propriedades mecânicas dos biomateriais bioativos substituídos por Si no reparo ósseo, especialmente quando se trata de defeitos que exigem suporte para cargas mecânicas. Nesse sentido, para que um biomaterial seja idealmente bioativo, é necessário que ele possua semelhança com a estrutura, morfologia e função do tecido ósseo, o que garante biocompatibilidade com o ambiente circundante (Botelho *et al.*, 2006; Porter *et al.*, 2004; Porter; Best; Bonfield, 2004; Vallet-Regí; Arcos 2005).

A síntese da SiHA pode ocorrer por meio de procedimento Sol-gel, métodos hidrotérmicos, síntese por estado sólido, cristalização controlada, precipitação aquosa e método cerâmico. A combinação da HA, tem sido realizada de diferentes formas, como, por exemplo, em nanopartículas de SiO<sub>2</sub>, pasta e cimento à base de HA. Há pesquisas com sílica-gel, que utilizaram Ca e P, e comprovaram serem eficazes como indutores de HA (Vallet-Regí; Arcos, 2005). A composição de CaPs substituídos por Si, em relação a suas fases, depende, significativamente, da razão CaP, da substituição do Si na estrutura cristalina da HA, do método de síntese de introdução de Si ao CaP e das condições de sinterização (Vallet-Regí; Arcos 2005).

### 3.5.1 *Metania reticulata*

O Sistema de Informação sobre a Biodiversidade Brasileira (SiBBR) e o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) classificam a taxonomia da *Metania reticulata* da seguinte forma: Reino Animalia, Filo Porifera, Classe Demospongiae, Subclasse Heteroscleromorpha, Ordem Spongillida, Família Metaniidae e Gênero *Metania*. Essa esponja de água doce é encontrada em abundância no Rio Negro, em Amazonas e, durante o período de cheia, cresce e pode ser facilmente colhida às margens do rio. Além disso destaca-se como uma fonte promissora de sílica, que é uma forma de SiO<sub>2</sub> produzida por organismos vivos, com alto potencial para diversas aplicações tecnológicas, como sistemas de liberação de medicamentos e suportes catalíticos. O seu processo de purificação envolve soluções oxidantes e tratamentos térmicos, o que resulta em sílica de alta pureza, uma alternativa de baixo custo em relação à extração mineral convencional (Lacerda *et al.*, 2013; Washington, 2015).

A *Metania reticulata* pode ser utilizada como biomaterial para o reparo ósseo, pois a sílica derivada das esponjas apresenta um grande potencial para a regeneração de defeitos ósseos críticos. Esse potencial não ocorre pela aplicação direta da esponja como um arcabouço, mas pela síntese de uma forma de sílica que será incorporada à estrutura da HA, o que representa uma alternativa natural para aplicações na medicina regenerativa, com vistas ao reparo ou à substituição tecidual (INPA, 2024; Lacerda *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2020; SiBBR, 2024). Nesse sentido, a combinação da HA com sílica aumenta sua bioatividade, favorece a adsorção de proteínas, a incorporação de células osteoprogenitoras e o reparo ósseo, se comparada a estudos anteriores que utilizaram apenas a HA (Adamski; Siuta, 2021; Lacerda *et al.*, 2013; Ribeiro *et al.*, 2020; Washington, 2015).



*Material e métodos*

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi desenvolvido de acordo com as normas regulamentadoras de pesquisa em animais, pelo CEUA, Lei nº 11.794/2008, após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais, do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA), número do protocolo 2419171122 (Anexo A). Trata-se de um estudo de intervenção, de experimentação animal, que foi realizado no Biotério de ratos e camundongos do ICS da UFBA e Laboratório de Bioengenharia Tecidual e Biomateriais (LBTB) do ICS da UFBA.

### 4.1 BIOMATERIAIS

Os biomateriais utilizados neste estudo foram fornecidos por pesquisadores do Instituto Militar de Engenharia do Rio de Janeiro (IME-RJ), sob a coordenação do Prof. Dr. Marcelo Henrique Prado da Silva. O método adotado para a síntese da HA substituída por sílica se baseia na rota descrita por Ribeiro *et al.* (2020).

### 4.2 ETAPAS CIRÚRGICAS E LABORATORIAIS

A amostra foi composta por 24 ratos machos (*Rattus norvegicus*) da linhagem *Wistar*, com massa corporal entre 300 e 350 g com, aproximadamente, três meses de idade, fornecidos e mantidos no biotério do ICS da UFBA. Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, para compor dois grupos experimentais, com seis animais em cada, avaliados nos pontos biológicos de 15 e 45 dias (Quadro 2): GHA – defeito ósseo crítico, realizado em calvária de rato com a implantação de *scaffold* de hidroxiapatita pura; GHA – Si: defeito ósseo crítico, realizado em calvária de rato com implantação de *scaffold* de hidroxiapatita parcialmente substituída por 5% de sílica.

Em consideração aos princípios dos 3Rs, sigla que significa reduzir, reutilizar e reciclar, (Liguori *et al.*, 2017; Naik *et al.*, 2023), este estudo não considerou o grupo de controle negativo, defeito ósseo crítico sem implantação de biomaterial, uma vez que esse resultado já

consta em publicações realizadas pelo grupo de pesquisa (Miguel *et al.*, 2006; Monção *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2024; Santos *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2024).

**Quadro 2** – Distribuição dos animais de acordo com o grupo e ponto biológico

<b>Ponto biológico</b>	<b>15d</b>	<b>45d</b>	<b>Total</b>
<b>Grupo</b>			
<b>GHA</b>	06	06	12
<b>GSiHA</b>	06	06	12
<b>Total</b>	12	12	24

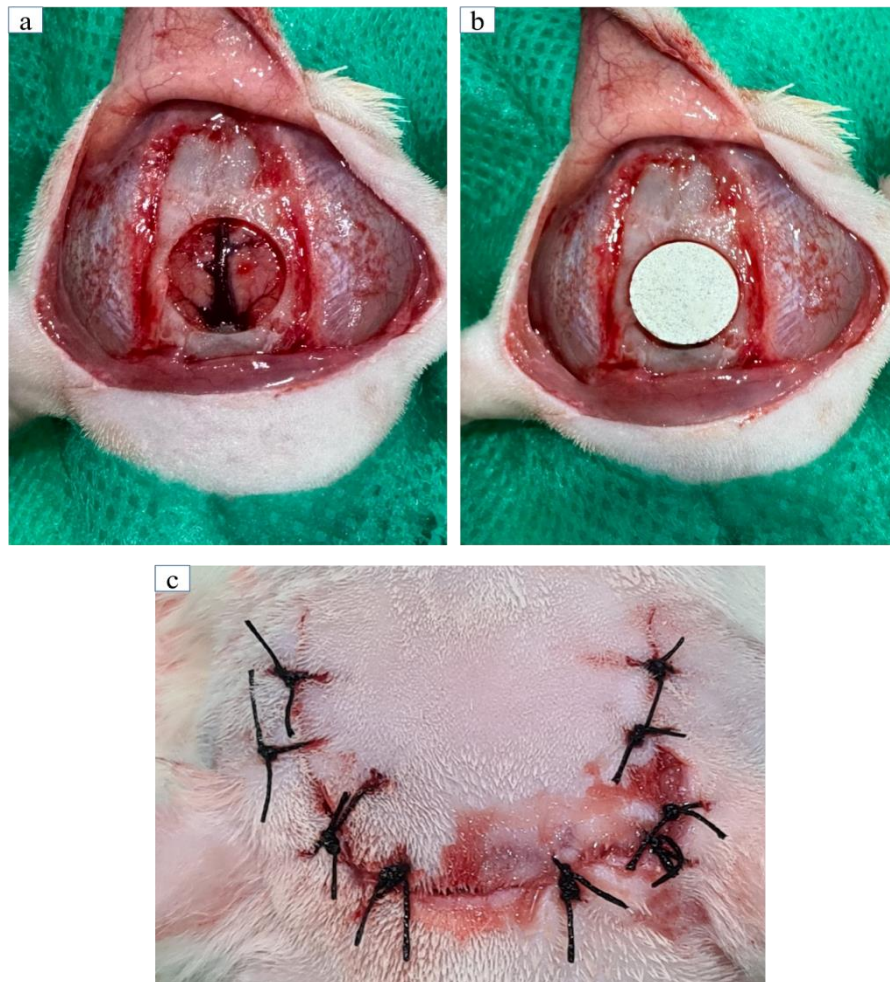
Fonte: elaborado pela autora.

Os animais, mantidos em jejum de quatro horas, foram submetidos a anestesia e analgesia por via intramuscular, posicionados em decúbito ventral para a realização de tricotomia e assepsia na região da calvária. Em seguida, foi feita uma incisão cutânea bicoronal, remoção do periósteo e exposição do tecido ósseo para a criação de um defeito ósseo crítico de aproximadamente 8,5 mm (Figura 9 a), com utilização de uma fresa trefina, entre os vértices das suturas anterior e posterior, com remoção da díploe (Figura 9 a), conforme é descrito por Ribeiro *et al.* (2024). Na sequência, o biomaterial foi implantado (Figura 9 b). As suturas foram realizadas com pontos simples, utilizando-se fio de nylon 4,0 (Figura 09 c). Durante a fase de experimento, os animais foram mantidos em condições ambientais controladas de temperatura e luminosidade, em caixas plásticas identificadas, com forro de maravalha de pinus autoclavada e receberam ração sólida e água *ad libitum*.

Após 15 e 45 dias de pós-operatório, os animais foram eutanasiados por meio de injeção letal de cloridrato de quetamina via peritoneal. A calvária foi removida e fixada em formoldeído a 4% por 48 horas e, posteriormente, reduzida com o auxílio de um disco de carborundum acoplado a um mandril e uma microrretífica. No LBTB (ICS-UFBA), foi realizado o início do processamento histológico das amostras, que foram descalcificadas em ácido nítrico a 7% por aproximadamente 2 horas. As demais etapas foram realizadas no Instituto de Patologia Geral e Cutânea SC/ LTDA (IPAC), que compreendeu a inclusão em blocos de parafina e cortes em lâminas com espessura de 5,0 µm. Em seguida, as lâminas foram montadas e coradas com hematoxilina e eosina (HE), além de *picrosirius red* (PIFG)

para destaque das proteínas colagênicas. A análise das lâminas foi realizada no LBTB, com o microscópio (DM6B, Leica®, Wetzlar, Alemanha) e câmera fotográfica (DFC310FX – Leica®, Wetzlar, Alemanha), para avaliar, por meio da histomorfologia, os seguintes aspectos: neoformação do tecido ósseo, aspecto do biomaterial, deposição de tecido conjuntivo, resposta inflamatória e angiogênese.

**Figura 9** – Etapas da implantação do biomaterial GHA e GSiHA



Legenda – Confeção do defeito ósseo (Figura 9a). Implantação do biomaterial (Figura 9b). Retalho cirúrgico reposicionado e suturado (Figura 9c).  
Fonte: elaborada pela autora.

*Resultados*

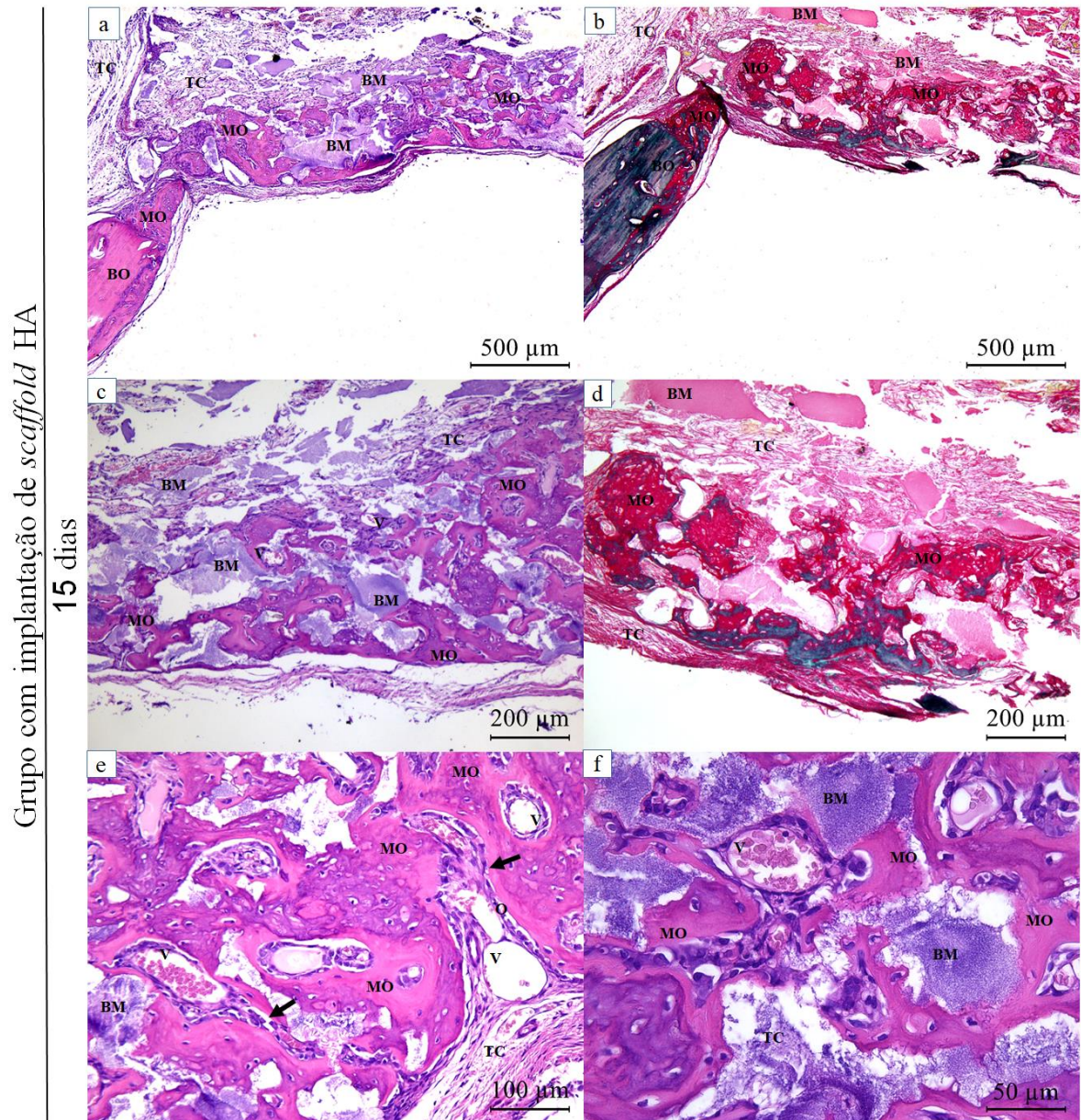
## 5 RESULTADOS

### 5.1 GHA

Aos 15 dias, foi observada neoformação de matriz osteoide reacional associada às bordas do defeito, com crescimento centrípeto em maior espessura nas proximidades do osso remanescente (Figura 10a e 10b). Em algumas áreas, tanto na periferia quanto em regiões mais centrais do defeito, também ocorreu a formação de matriz osteoide (Figuras 10a a 10f). Foi observada a presença de osteoblastos na superfície da matriz (Figura 10e). Dentro dessa matriz, identificaram-se áreas mais organizadas, caracterizadas por um padrão lamelar e com presença de osteócitos em seu interior (Figuras 10c, 10e, 10f). O biomaterial preencheu toda a extensão do defeito (Figuras 10a a 10f) e, nesse período, foi permeado por tecido conjuntivo, apresentando-se frouxo, com discreto edema, com fibras colágenas pouco organizadas e com maior densidade nas proximidades do biomaterial (Figuras 10a a 10f). Observou-se a presença de inflamação crônica granulomatosa moderada (Figuras 10a a 10c) e vasos sanguíneos neoformados (Figuras 10c, 10e, 10f).

Aos 45 dias, nas proximidades das bordas do defeito, houve neoformação óssea reativa reparativa (Figura 11a). Além disso, a matriz osteoide neoformada encontrava-se madura, com formação de lamelas (Figuras 11a, 11c, 11 e, 11f) e presença de osteócitos em seu interior (Figuras 11a a 11f). Essa matriz interagiu, em alguns sítios, diretamente com o biomaterial, com presença de matriz osteoide em permeio a ele (Figuras 11a a 11 f). O *scaffold* de HA preencheu toda a extensão do defeito ósseo (Figuras 11d, 11e, 11f); o tecido conjuntivo apresentou-se frouxo e com discreto edema (Figuras, 11b, 11c, 11d, 11f). A inflamação crônica granulomatosa, em regiões próximas ao biomaterial, estava discreta (Figuras 11a a 11f). Observou-se presença de vasos sanguíneos (Figuras 11c, 11d, 11e, 11f).

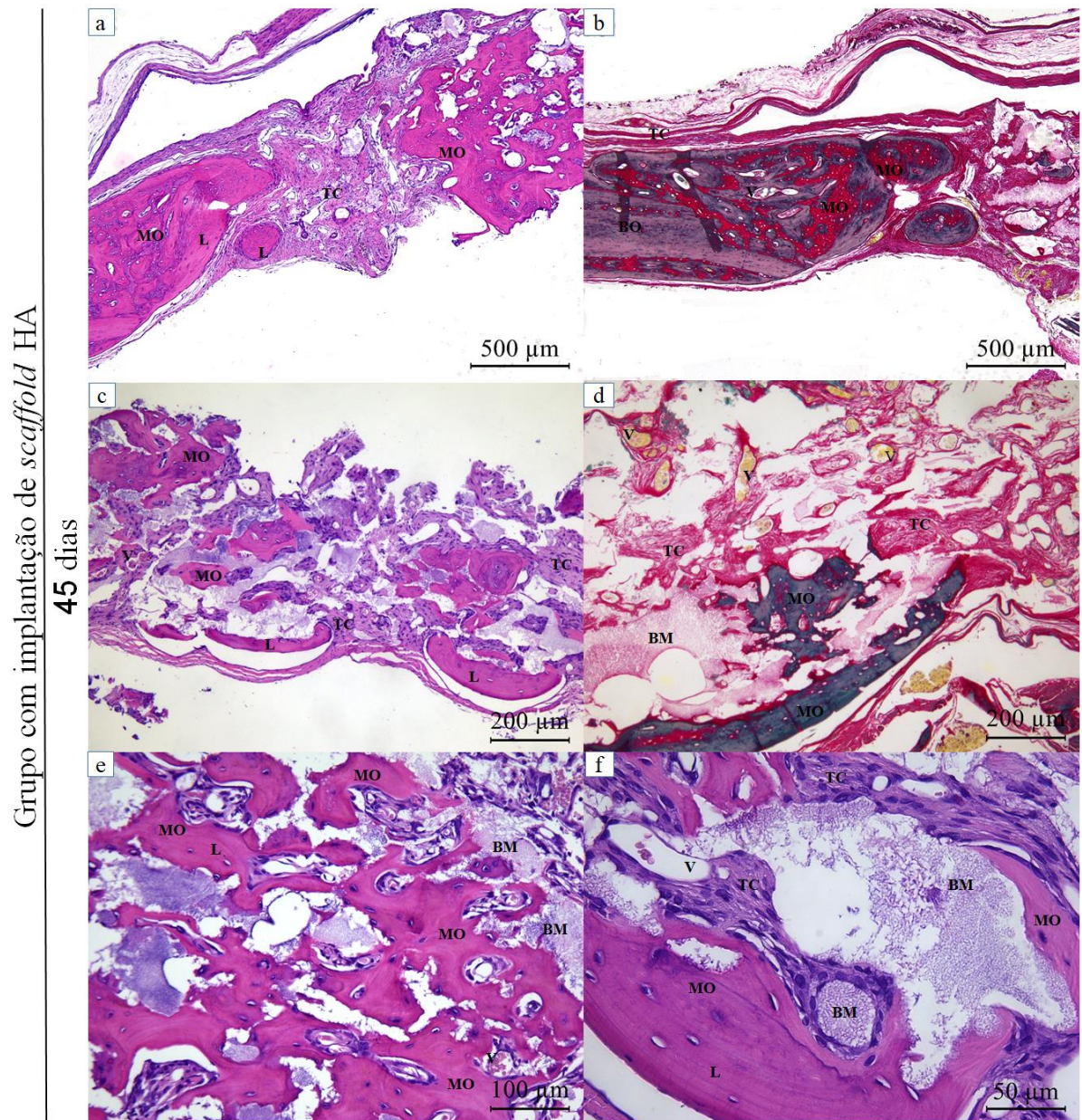
**Figura 10** – Fotomicrografias do GHA no ponto biológico de 15 dias.



Legenda – Matriz osteoide neoformada (MO) nas proximidades da borda óssea (BO) e em permeio ao biomaterial (BM). Osteoblastos destacados com seta. Ao longo do defeito ósseo, ocorreu preenchimento do defeito com o biomaterial. Discreto edema e inflamação em tecido conjuntivo fibroso (TC) e vasos sanguíneos (V). Coloração: HE (a, c, e, f) e PIFG (b e d).

Fonte: elaborada pela autora.

**Figura 11** – Fotomicrografias do GHA no ponto biológico de 45 dias.



Legenda – Nas adjacências da borda óssea (BO), presença de matriz osteoide (MO) reacional e em direção centrípeta em permeio ao biomaterial (BM). Organização de lamelas (L). Preenchimento do defeito com o BM ao longo do defeito ósseo. Tecido conjuntivo fibroso (TC) com discreta inflamação granulomatosa e presença de vasos sanguíneos (V). Coloração: HE (a, c, e, f) e PIFG (b e d).

Fonte: elaborada pela autora.

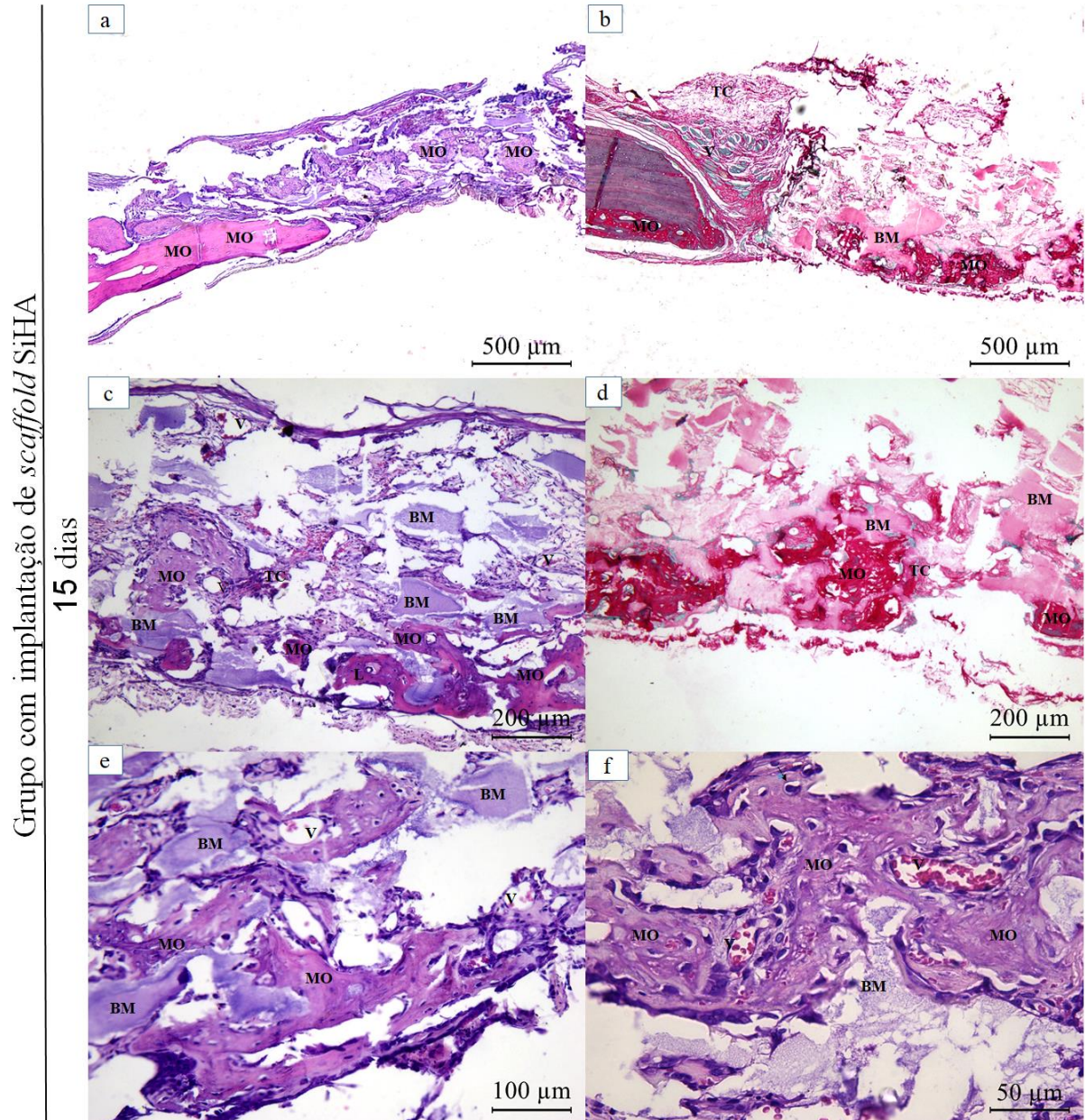


## 5.2 GSiHA

Na análise histológica, aos 15 dias, foi evidenciada neoformação de matriz osteoide em permeio ao biomaterial, que se encontrava maturada, com formação de lamelas e presença de osteócitos em seu interior (Figuras 12a a 12f). Nesse ponto biológico, o biomaterial preencheu toda a extensão do defeito (Figuras 12a a 12f). O tecido conjuntivo delgado, na área remanescente do defeito, apresentou-se frouxo, com deposição de fibras colágenas desordenadas (Figuras 12b e 12d). A resposta inflamatória, nesse ponto biológico, mostrou-se discreta e com presença de proliferação vascular (Figuras 12b, 12c, 12e, 12f).

Aos 45 dias, foi mais evidente a neoformação de matriz osteoide maturada em permeio ao biomaterial, com lamelas mais organizadas e presença de osteócitos (Figuras 13a, 13e, 13f). O biomaterial preencheu toda a extensão do defeito ósseo (13a a 13f). O tecido conjuntivo (TC) encontrava-se delgado na área remanescente do defeito com formação de fibras colágenas desalinhas (Figuras 13e e 13f). A resposta inflamatória, nesse ponto biológico, mostrou-se discreta, com presença de infiltrado inflamatório disperso e discreta proliferação vascular (Figuras 13b, 13c, 13e e 13f).

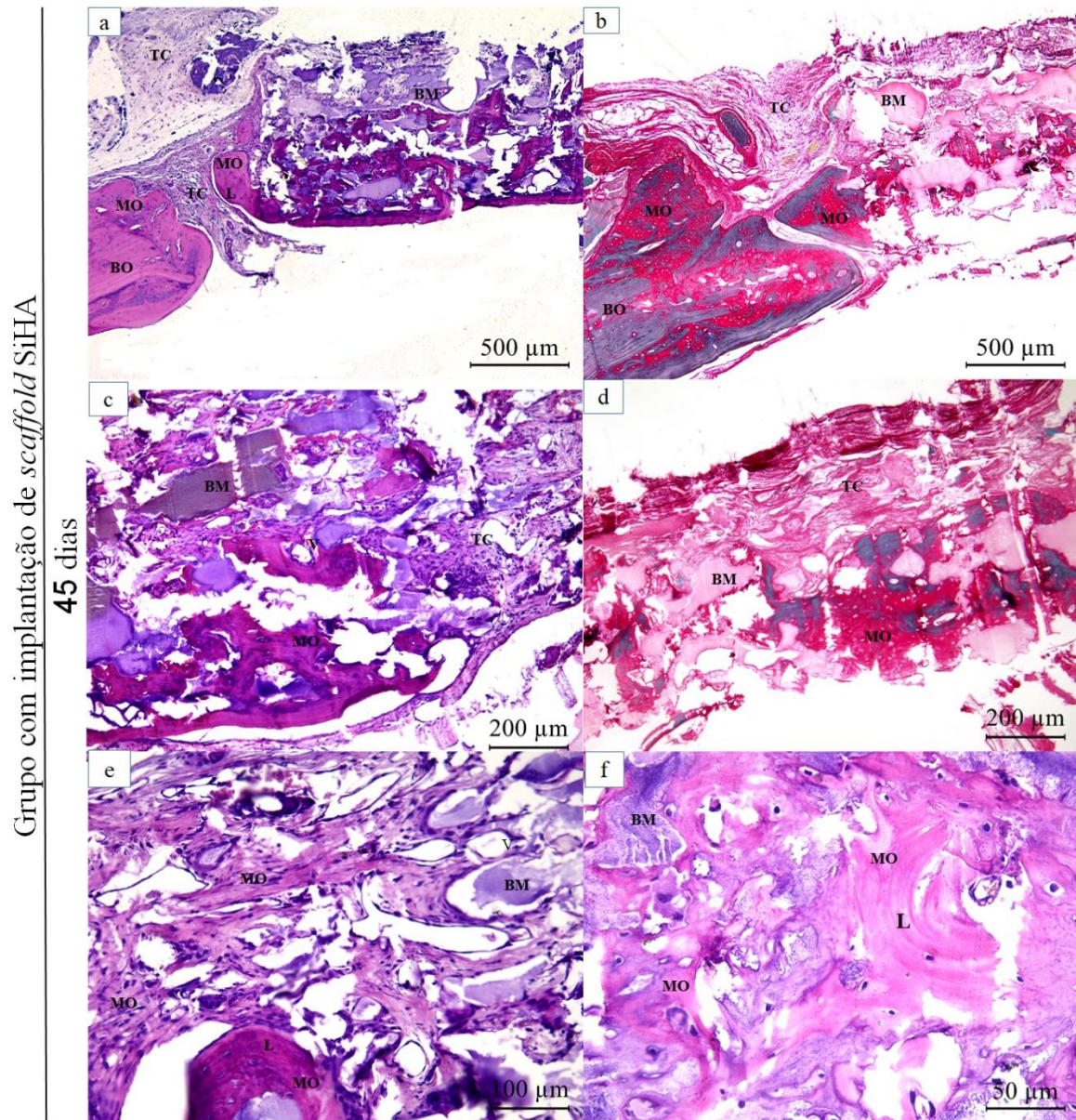
**Figura 12** – Fotomicrografias do GSiHA aos 15 dias.



Legenda – Formação de matriz osteoide neoformada (MO) nas proximidades da borda óssea (BO) e em permeio ao biomaterial (BM). Preenchimento do defeito com o BM ao longo do defeito ósseo. Tecido conjuntivo (TC) com discreto edema e presença de vasos sanguíneos (V). Coloração HE (a, c, e, f), PIFG (b e d).

Fonte: elaborada pela autora.

**Figura 13** – Fotomicrografias do GSiHA aos 45 dias.



Legenda – Formação de matriz osteoide reativa e reparativa nas proximidades da borda óssea (BO), bem como a presença de neoformação óssea envolvendo o biomaterial (BM). Além disso, identifica-se a maturação da matriz osteoide e organização de lamelas (L) e o preenchimento do defeito com o biomaterial ao longo do defeito ósseo. Coloração: HE (a, c, e, f,) e PIFG (b e d).

Fonte: elaborada pela autora.

*Discussão*

## 6 DISCUSSÃO

A SiHA se destaca como um biomaterial promissor no reparo de lesões ósseas, devido a sua bioatividade, pois apresenta capacidade notável em promover a formação de tecido ósseo. Sua composição química e sua estrutura tridimensional oferecem um ambiente favorável à regeneração óssea, com estímulo à osteocondução e à osteointegração. Para melhor compreensão dessas propriedades, é comum recorrer ao uso de modelos de animais em estudos *in vivo*, os quais permitem investigar a eficácia de novos biomateriais para avaliar seu potencial osteogênico na regeneração óssea (Asadipour *et al.*, 2019).

Neste estudo, foi escolhido o rato como modelo experimental para a criação de defeito ósseo crítico em calvária, o qual é amplamente utilizado devido a suas vantagens, como baixo custo, alta reprodutibilidade e praticidade, características corroboradas pelos achados de McGovern, Griffin e Hutmacher (2018) e Brassolatti *et al.* (2023). Além disso, a calvária é frequentemente selecionada como sítio anatômico para avaliação do potencial osteogênico de biomateriais, pois apresenta desafios importantes à regeneração óssea, relacionados ao fornecimento sanguíneo reduzido, o que limita a ação de moléculas de sinalização, nutrientes e fatores de crescimento, e leva ao comprometimento do mecanismo de reparo. Tais aspectos estão de acordo com os estudos de Cardoso, Souza e De Zoppa (2019) e Hixon e Miller (2022).

Em lesões de dimensões críticas, a regeneração desse tecido é limitada pela ausência de um arcabouço adequado, o que impede a migração de células ósseas do tecido remanescente nas bordas em direção à região central do defeito. Essa limitação resulta na formação de tecido fibroso cicatricial, o que compromete a funcionalidade do tecido ósseo em reparo. Estudos, como os de Santos *et al.* (2019), Santos *et al.* (2024), Ribeiro *et al.* (2024) e Silva *et al.* (2024) confirmaram que defeitos preenchidos apenas por coágulo sanguíneo apresentam restrições à regeneração óssea, o que demonstra a necessidade de estratégias terapêuticas para a promoção de um reparo eficaz.

Os GHA e GSiHA, aos 15 e 45 dias de pós-operatório, demonstraram biocompatibilidade, osteocondução e bioatividade, evidenciadas pela presença de osteoblastos ativos dispostos ao longo da superfície da matriz óssea, o que evidencia intensa atividade osteogênica, com deposição de matriz osteoide. Essa deposição foi mais proeminente no GSiHA, que apresentou maior maturação da matriz osteoide, lamelas mais organizadas e presença de osteócitos. Esses achados estão em consonância com os de Roh *et al.* (2016), que

observaram maior formação do tecido ósseo em defeito criado na calvária de rato no grupo tratado com implantação de grânulos de HA, substituídos com Si e  $\beta$ -TCP, em comparação ao grupo de controle.

Kim *et al.* (2017) investigaram a regeneração óssea em defeitos críticos na calvária de coelho, com a aplicação do biomaterial em grânulos com e sem adição de silício. Os resultados demonstraram que o osso neoformado se desenvolveu diretamente na superfície e entre os grânulos do biomaterial, com uma formação óssea mais evidente no grupo com silício. Além disso, a neoformação óssea ocorreu não apenas nas margens do defeito, mas também ao redor dos grânulos, com a quantidade de tecido ósseo maduro superior no SiHA. Da mesma forma, Calvo-Guirado *et al.* (2015) observaram maior formação óssea em defeito de tamanho crítico em calvária de coelho com a aplicação de grânulos de HA/ $\beta$ -TCP dopado com sílica. Cruz *et al.* (2024), em um estudo com rata osteoporótica, observaram que *scaffolds* compostos por biossílica e colágeno tipo I promoveram maior formação de tecido ósseo trabecular, especialmente após 30 dias, o que evidenciou melhor regeneração óssea em comparação ao grupo de controle. Lu *et al.* (2024) analisaram diferentes concentrações de sílica a 2%, 4%, 6% e 8%, *in vitro*, para dopagem de *scaffold* de fosfato de cálcio bifásico. Dentre essas concentrações, foi escolhida a de 4% para validação desse achado em estudo *in vivo* com defeito realizado na tíbia de rato. Os resultados demonstraram formação do tecido ósseo em todo o defeito.

No preenchimento do defeito ósseo com o biomaterial, é desejável que haja interação eficaz com o tecido lesionado, com o objetivo de favorecer a integração, remodelação e restauração funcional do tecido. No presente estudo, o biomaterial preencheu toda a extensão do defeito, o qual funcionou como um arcabouço tridimensional, essencial para suportar o crescimento celular e a deposição de matriz óssea. Esses achados são consistentes com os resultados observados por Almeida *et al.* (2020), Grossi-Oliveira *et al.* (2020) e Santos *et al.* (2024), que usaram biomateriais de diferentes formatos e que preencheram toda a extensão do defeito. A resposta do tecido conjuntivo foi satisfatória em todos os grupos, evidenciada pela formação de tecido conjuntivo fibroso ao redor dos biomateriais. No entanto, observou-se que, no grupo GSiHA, a deposição das fibras colágenas ocorreu de forma mais delgada ao longo de todo o período experimental, com pouco edema. Esse achado sugere uma resposta tecidual mais organizada e menos inflamatória nesse grupo, o que pode estar associado a uma melhor integração do biomaterial com o tecido circundante. Resultados semelhantes foram relatados por Silva *et al.* (2024), o que reforça a hipótese de que o SiHA pode favorecer um mecanismo de reparo mais equilibrado, sem causar reação inflamatória exacerbada.

A implantação do biomaterial em ambos os grupos induziu uma resposta inflamatória inicial, caracterizada pela presença de neutrófilos e macrófagos. Esse tipo de inflamação é esperado nas fases iniciais do estudo, pois demonstra a interação inicial entre o biomaterial e o meio biológico. No GHA, houve resposta inflamatória crônica granulomatosa moderada aos 15 dias, enquanto, no grupo GSiHA, essa resposta foi mais discreta, o que sugere que a substituição por sílica pode atuar positivamente na modulação do mecanismo inflamatório. Esse achado é consistente com o estudo de Alvarez Echazú *et al.* (2022), que, ao avaliarem um compósito de quitosana com sílica em rato *Wistar* com defeito na tíbia, não detectaram inflamação significativa ou células gigantes multinucleadas após 14 dias de implantação, o que evidenciou biocompatibilidade do biomaterial.

Ambos os grupos experimentais deste estudo apresentaram uma redução na intensidade da resposta inflamatória ao longo do tempo, aspecto fundamental para a progressão da regeneração tecidual. Isso demonstra que os biomateriais são biocompatíveis, fator essencial para promover sua integração ao tecido e favorecer a regeneração óssea. Os trabalhos de Almeida *et al.* (2020), Alvarez Echazú *et al.* (2022), Brassolatti *et al.* (2023) e Santos *et al.* (2019), também destacaram a importância de uma resposta inflamatória controlada para a eficácia da regeneração óssea.

A formação de vasos sanguíneos, ao longo do defeito ósseo, é critério essencial para a neoformação óssea. Nesse contexto, a angiogênese foi mais evidente no GSiHA, o que sugere que a sílica proporcionou um microambiente mais eficaz para a vascularização e regeneração óssea. Aos 15 dias, vasos neoformados foram identificados nas bordas e no centro do defeito, enquanto, aos 45 dias, a vascularização estava mais desenvolvida, o que proporcionou a integração funcional do tecido regenerado. Esses resultados estão em consonância com os estudos de Casarrubios *et al.* (2020), que avaliaram a eficácia de *scaffolds* macroporosos de SiHA cristalinas e nanocristalinas com adição de VEGF para a regeneração óssea, em um modelo de ovelha osteoporótica. Esses pesquisadores observaram que as microestruturas cristalinas favoreceram um melhor microambiente para a formação de vasos sanguíneos, em comparação com as estruturas nanocristalinas.

Kanniyappan *et al.* (2024) investigaram o desenvolvimento de *scaffolds* de nanocompósitos em uma rede polimérica composta por *Konjac glucomannan*, para o tratamento de defeitos ósseos na tíbia de rato, em grupos tratados com e sem a adição de sílica mesoporosa. Em seus resultados, esses pesquisadores observaram que o grupo tratado com a incorporação sílica revelou melhor desempenho na formação de vasos sanguíneos, em comparação com o grupo de controle.

Os resultados promissores deste estudo comprovam a biocompatibilidade, a osteocondução e a bioatividade do SiHA, evidenciando seu potencial para a regeneração óssea. O comportamento favorável desse biomaterial, demonstrado por neoformação óssea, resposta inflamatória adequada e estímulo à angiogênese, reforça a presença de propriedades essenciais para um reparo ósseo eficaz. Esses achados abrem caminho para novos estudos em diferentes modelos experimentais, com vistas a aprimorar as propriedades do SiHA e a viabilização de sua aplicação em ensaios clínicos.



*Conclusão*

## **7 CONCLUSÃO**

Aos 15 e 45 dias de avaliação, ambos os biomateriais demonstraram potencial osteogênico, com maior destaque para o SiHA. Além disso, tanto a HA quanto o SiHA apresentaram biocompatibilidade, osteocondutividade e bioatividade, características essenciais para sua aplicação em terapias regenerativas.

*Referências*

## REFERÊNCIAS

- ADAMSKI, R.; SIUTA, D. Mechanical, structural, and biological properties of chitosan/hydroxyapatite/silica composites for bone tissue engineering. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 7, p. 1976, 2021. DOI: 10.3390/molecules26071976.
- ALBREKTSSON, T.; JOHANSSON, C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **European Spine Journal**, Germany, v. 10, supl. 2, p. S96–S101, out. 2001. DOI: 10.1007/s005860100282.
- ALMEIDA, R. S. *et al.* Regeneração de defeito ósseo crítico após implantação de fosfato de cálcio bifásico ( $\beta$ -fosfato tricálcico/pirofosfato de cálcio) e vidro bioativo fosfatado. **Cerâmica**, São Paulo, v. 66, n.378, p. 119-125, 2020. DOI: 10.1590/0366-69132020663782707.
- ALVAREZ ECHAZÚ, M. I. *et al.* Synthesis and evaluation of a chitosan-silica-based bone substitute for tissue engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 23, n. 21, p. 13379, 2 Nov. 2022. DOI: 10.3390/ijms232113379.
- AMUKARIMI, S.; RAMAKRISHNA, S.; MOZAFARI, M. Smart biomaterials—a proposed definition and overview of the field. **Current Opinion in Biomedical Engineering**, v. 19, p. 100311, 2021. DOI: 10.1016/j.cobme.2021.100311.
- ANUSUYA, G. S. *et al.* Bone morphogenetic proteins: Signaling periodontal bone regeneration and repair. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, India, v. 8, supl. 1, p. S39-S41, 2016. DOI: 10.4103/0975-7406.191964.
- ARCOS, D.; VALLET-REGÍ, M. Substituted hydroxyapatite coatings of bone implants. **Journal of Materials Chemistry B**, Cambridge, v. 8, n. 9, p. 1781-1800, 2020. DOI: 10.1039/c9tb02710f.
- ASADIPOUR, K. *et al.* Characterization and biological properties of a novel synthesized silicon-substituted hydroxyapatite derived from eggshell. **International Journal of Artificial Organs**, Estados Unidos, v. 42, n. 2, p. 95-108, 2019. DOI: 10.1177/0391398818806159.
- BANDYOPADHYAY, S. *et al.* Genetic analysis of the roles of BMP2, BMP4, and BMP7 in limb patterning and skeletogenesis. **PLoS Genetics**, Estados Unidos, v. 2, n. 12, p. e216, 2006. DOI: 10.1371/journal.pgen.0020216.
- BOTELHO, M. *et al.* Resposta de osteoblastos humanos à hidroxiapatita substituída por silício. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Estados Unidos, v. 79A, n. 3, 2006. DOI: 10.1002/jbm.a.30806.
- BOSE, S. *et al.* Understanding of dopant-induced osteogenesis and angiogenesis in calcium phosphate ceramics. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 31, n. 10, p. 594–605, Oct. 2013. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.06.005.

- BRASSOLATTI, P. *et al.* Systemic and local inflammatory response after implantation of biomaterial in critical bone injuries. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 38, p. e383823, 2023. DOI: 10.1590/acb383823.
- BROWN, B. N. *et al.* Macrophage phenotype as a predictor of constructive remodeling following the implantation of biologically derived surgical mesh materials. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 8, n. 3, p. 978-987, 2012. DOI: 10.1016/j.actbio.2011.11.031.
- BUCK, D. W.; DUMANIAN, G. A. Bone biology and physiology: Part I. The fundamentals. **Plastic and Reconstructive Surgery**, Estados Unidos, v. 129, n. 6, p. 1314-1320, 2012. DOI: 10.1097/PRS.0b013e31824ec354.
- BURR, D. B.; AKKUS, O. Bone morphology and organization. *In:\_\_\_\_\_*. **Basic and Applied Bone Biology**. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019. p. 3–26. DOI: 10.1016/B978-0-12-813259-3.00001-4.
- CALVO-GUIRADO, J. L. *et al.* Biphasic  $\beta$ -TCP mixed with silicon increases bone formation in critical site defects in rabbit calvaria. **Clinical Oral Implants Research**, Denmark, v. 26, n. 8, p. 891–897, 2015. DOI: 10.1111/clr.12413.
- CARDOSO, M. N.; SOUZA, A. F. de; DE ZOPPA, A. L. do V. Large animals as experimental models of critical size bone defects studies: a protocol for a systematic review. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 12, n. 5, p. e10912541509, 2023. DOI: 10.33448/rsd-v12i5.41509.
- CAPULLI, M.; PAONE, R.; RUCCI, N. Osteoblast and osteocyte: Games without frontiers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 561, p. 3-12, 2014. DOI: 10.1016/j.abb.2014.05.003.
- CARLISLE, E. Silicon: a possible factor in bone calcification. **Science**, Philadelphia, v. 167, n. 3916, p. 279-280, 1970. DOI: 10.1126/science.167.3916.279.
- CASARRUBIOS, L. *et al.* Silicon substituted hydroxyapatite/VEGF scaffolds stimulate bone regeneration in osteoporotic sheep. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 101, p. 544-553, 2020. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.10.033.
- CHAVEZ, M. B. *et al.* Bone sialoprotein is critical for alveolar bone healing in mice. **Journal of Dental Research**, India, v. 102, n. 2, p. 187-196, 2023. DOI: 10.1177/00220345221126716.
- CHO, T.; GERSTENFELD, L.; EINHORN, T. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 17, n. 3, p. 513-520, 2002. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.3.513.
- CIRIMINNA, R.; LAINE, R. M.; PAGLIARO, M. Biobased silicon and biobased silica: Two production routes whose time has come. **ChemSusChem**, Germany, v. 16, n. 19, p. e202300762, 2023. DOI: 10.1002/cssc.202300762.

- CONTAR, C. *et al.* Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Estados Unidos, v. 67, n. 6, p. 1280-1285, 2009. DOI: 10.1016/j.joms.2008.11.010.
- COSTA, A. *et al.* Hidroxiapatita: obtenção, caracterização e aplicações. **REMAP**, Paraíba, v. 4, n. 3, p. 29-38, 2009. Disponível em: <http://www2.ufcg.edu.br/revista-remap/index.php/REMAP/article/viewArticle/105>. Acesso em: 25 nov. 2024.
- COULSON-THOMAS, Y. *et al.* The identification of proteoglycans and glycosaminoglycans in archaeological human bones and teeth. **PLoS One**, Califórnia, v. 10, n. 6, p. e0131105, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0131105.
- CRUZ, A. M. *et al.* In vivo effects of biosilica and spongin-like collagen scaffolds on the healing process in osteoporotic rats. **Marine Biotechnology**, Estados Unidos, v. 26, n. 5, p. 1053-1066, 2024. DOI: 10.1007/s10126-024-10356-2.
- DEC, P.; MODRZEJEWSKI, A.; PAWLIK, A. Existing and novel biomaterials for bone tissue engineering. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 24, n. 1, p. 529, 2022. DOI: 10.3390/ijms24010529.
- DELAISSÉ, J. M. *et al.* Matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsin K contribute differently to osteoclastic activities. **Microscopy Research and Technique**, Estados Unidos, v. 61, n. 6, p. 504-513, 2003. DOI: 10.1002/jemt.10374.
- DEVELIOGLU, H. *et al.* Evaluation of the long-term results of rat cranial bone repair using a particular xenograft. **Journal of Oral Implantology**, Estados Unidos, v. 36, n. 3, p. 167-173, 2010. DOI: 10.1563/AAID-JOI-D-09-00064.
- DEWEY, M. J.; HARLEY, B. A. C. Biomaterial design strategies to address obstacles in craniomaxillofacial bone repair. **RSC Advances**, Cambridge, v. 11, n. 29, p. 17809-17827, 2021. DOI: 10.1039/d1ra02557k.
- DIAB, R. *et al.* Silica-based systems for oral delivery of drugs, macromolecules and cells. **Advances in Colloid and Interface Science**, [s.l.], v. 249, p. 346–362, 2017. DOI: 10.1016/j.cis.2017.04.005.
- DIMITRIOU, R.; TSIRIDIS, E.; GIANNOUDIS, P. V. Current concepts of molecular aspects of bone healing. **Injury**, Netherlands, v. 36, n. 12, p. 1392-1404, 2005. DOI: 10.1016/j.injury.2005.07.019.
- EINHORN, A.; GERSTENFELD, C. Fracture healing: mechanisms and interventions. **Nature Reviews Rheumatology**, Estados Unidos, v. 11, n. 1, p. 45-54, 2015. DOI: 10.1038/nrrheum.2014.164.
- ELIAZ, N.; METOKI, N. Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. **Materials** (Basel), v. 10, n. 4, p. 334, 2017. DOI: 10.3390/ma10040334.

FAN, J. *et al.* A review of recent advances in natural polymer-based scaffolds for musculoskeletal tissue engineering. **Polymers**, Basel, v. 14, n. 10, p. 2097, 20 May 2022. DOI: 10.3390/polym14102097.

FLORENCIO-SILVA, R. *et al.* Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed Research International**, Estados Unidos, v. 2015, p. 421746, 2015. DOI: 10.1155/2015/421746.

FULLERTON, J.; GILROY, D. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 15, n. 8, p. 551-567, 2016. DOI: 10.1038/nrd.2016.39.

GOMES, L. C. *et al.* Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio a partir da casca de ovo de galinha. **Cerâmica**, São Paulo, v. 58, n. 348, p. 448-452, 2012. DOI: 10.1590/S0366-69132012000400005.

GOMES, L. S.; FURTADO, A. C. R.; SOUZA, M. C. A sílica e suas particularidades. **Revista Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 1018-1038, 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180072.

GROSSI-OLIVEIRA, G. *et al.* Comparative evaluation of bone repair with four different bone substitutes in critical size defects. **International Journal of Biomaterials**, Estados Unidos, v. 2020, p. 5182845, 2020. DOI: 10.1155/2020/5182845.

GUASTALDI, C.; APARECIDA, H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000600025.

HIXON, K. R.; MILLER, A. N. Animal models of impaired long bone healing and tissue engineering—and cell-based in vivo interventions. **Journal of Orthopaedic Research**, Estados Unidos, v. 40, n. 4, p. 767-778, 2022. DOI: 10.1002/jor.25277.

HING, K. A. *et al.* Effect of silicon level on rate, quality and progression of bone healing within silicate-substituted porous hydroxyapatite scaffolds. **Biomaterials**, Netherlands, v. 27, n. 29, p. 5014-5026, 2006. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.05.039.

HART, N. *et al.* Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, Greece, v. 20, n. 3, p. 347-371, 2020. DOI: 10.5281/zenodo.4294490.

HAUGE, E. M. *et al.* Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. **Journal of Bone and Mineral Research**, New York, v. 16, n. 9, p. 1575-1582, 2001. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.9.1575.

HONDA, M. *et al.* Enhanced early osteogenic differentiation by silicon-substituted hydroxyapatite ceramics fabricated via ultrasonic spray pyrolysis route. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Estados Unidos, v. 23, n. 12, p. 2923-2932, 2012. DOI: 10.1007/s10856-012-4744-x.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA (INPA). Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Rio de Janeiro: INPA, 2024. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br>. Acesso em: 28 ago. 2024.

KANNIYAPPAN, *et al.* Enhancing bone repair through improved angiogenesis and osteogenesis using mesoporous silica nanoparticle-loaded Konjac glucomannan-based interpenetrating network scaffolds. **International Journal of Biological Macromolecules**, Netherlands, v. 279, p. 135182, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.135182.

KATSIMBRI, P. The biology of normal bone remodelling. **European Journal of Cancer Care**, London, v. 26, n. 6, p. e12740, 2017. DOI: 10.1111/ecc.12740.

KENKRE, J. S.; BASSETT, J. The bone remodelling cycle. **Annals of Clinical Biochemistry**, London, v. 55, n. 3, p. 308-327, 2018. DOI: 10.1177/0004563218759371.

KHAN, A. F. *et al.* Bioactive behavior of silicon substituted calcium phosphate based bioceramics for bone regeneration. **Materials Science and Engineering: C Materials for Biological Applications**, Netherlands, v. 35, p. 245-252, 2014. DOI: 10.1016/j.msec.2013.11.013.

KHAN, N.; BOSTROM, G.; LANE, M. Bone growth factors. **Orthopedic Clinics of North America**, Philadelphia, v. 31, n. 3, p. 375–387, 2000. DOI: 10.1016/s0030-5898(05)70157-7.

KIM, B. S. *et al.* Enhanced bone regeneration by silicon-substituted hydroxyapatite derived from cuttlefish bone. **Clinical Oral Implants Research**, Denmark, v. 28, n. 1, p. 49-56, 2017. DOI: 10.1111/clr.12613.

LACERDA, J. *et al.* Síntese do material mesoporoso MCM-41 usando esponja de água-doce como fonte de sílica. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 9, p. 1348-1353, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000900012.

LIGUORI, G. R. *et al.* Ethical Issues in the Use of Animal Models for Tissue Engineering: Reflections on Legal Aspects, Moral Theory, Three Rs Strategies, and Harm–Benefit Analysis. **Tissue Engineering Part C: Methods**, Estados Unidos, v. 23, n. 12, p. 850–862, 2017. DOI: 10.1089/ten.tec.2017.0189.

LIN, H. *et al.* Chronic inflammation in biomaterial-induced periprosthetic osteolysis: NF- $\kappa$ B as a therapeutic target. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2014. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.09.034.

LISTIK, E. *et al.* Proteoglycans and dental biology: The first review. **Carbohydrate Polymers**, Basel, v. 115, p. 115199, 2019. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115199.

LOI, F. *et al.* Inflammation, fracture and bone repair. **Bone**, China, v. 86, p. 119–130, 2016. DOI: 10.1016/j.bone.2016.02.020.

LU, T. *et al.* Optimizing silicon doping levels for enhanced osteogenic and angiogenic properties of 3D-printed biphasic calcium phosphate scaffolds: An in vitro screening and in vivo validation study. **Materials Today Bio**, Netherlands, v. 28, p. 101203, 2024. DOI: 10.1016/j.mtbio.2024.101203.



MANZINI, B. M. *et al.* Advances in Bone Tissue Engineering: A Fundamental Review. **Journal of Biosciences**, Índia, v. 46, p. 17, 2021. DOI: 10.1007/s12038-020-00122-6.

MARUYAMA, M. *et al.* Modulation of the Inflammatory Response and Bone Healing. **Frontiers in Endocrinology** (Lausanne), v. 11, p. 386, 2020. DOI: 10.3389/fendo.2020.00386.

MENEZES, M.; FREITAS, M.; GONÇALVES, S. Biocompatibilidade dos materiais em Ortodontia: mito ou realidade?. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 144-157, 2009. DOI: 10.1590/S1415-54192009000200016.

MCGOVERN, J. A.; GRIFFIN, M.; HUTMACHER, D. W. Animal models for bone tissue engineering and modelling disease. **Disease Models & Mechanisms**, United Kingdom, v. 11, n. 4, p. dmm033084, 2018. DOI: 10.1242/dmm.033084.

MIGUEL, F. B. *et al.* Morphological assessment of the behavior of three-dimensional anionic collagen matrices in bone regeneration in rats. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, Estados Unidos, v. 78, n. 2, p. 334–339, 2006. DOI: 10.1002/jbm.b.30492.

MONÇÃO, M. *et al.* Análise por espectroscopia Raman de cerâmica vítrea de wollastonita/fosfato tricálcico após implantação em osso crítico defeito em ratos. **Ciências de Materiais e Aplicações**, [s.l.], v. 13, p. 317-333, 2022. DOI: 10.4236/msa.2022.135017.

MONDAL, S. *et al.* Hydroxyapatite: a journey from biomaterials to advanced functional materials. **Advances in Colloid and Interface Science**, Australia, v. 321, p. 103013, 2023. DOI: 10.1016/j.cis.2023.103013.

MOSSER, D. M.; EDWARDS, J. P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 8, n. 12, p. 958-969, 2008. DOI: 10.1038/nri2448.

NAIK, N. N. *et al.* Advances in Animal Models and Cutting-Edge Research in Alternatives: Proceedings of the Third International Conference on 3Rs Research and Progress, Vishakhapatnam, 2022. **Alternatives to Laboratory Animals**, Estados Unidos, v. 51, n. 4, p. 263-288, 2023. DOI: 10.1177/02611929231180428.

NASCIMENTO, M. H. M. do; LOMBELLO, C. B. Hidrogéis à base de ácido hialurônico e quitosana para engenharia de tecido cartilaginoso. **Polímeros**, Basel, v. 26, n. 4, p. 360-370, 2016. DOI: 10.1590/0104-1428.1987.

NIKOLOVA, M. P.; CHAVALI, M. S. Recent advances in biomaterials for 3D scaffolds: A review. **Bioactive Materials**, Netherlands, v. 4, p. 271-292, 2019. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2019.10.005.

NIU, Y.; CHEN, L.; WU, T. Recent Advances in Bioengineering Bone Neovascularization Based on Composite Materials Comprising Hydroxyapatite. **International Journal of Molecular Sciences**, Switzerland, v. 24, n. 15, p. 12492, 2023. DOI: 10.3390/ijms241512492.

- OLIVEIRA, L. S. de A. F. *et al.* Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Cmbio**, [s.l], v. 9, n. 1, p. 37-44, 2010. DOI: 10.9771/cmbio.v9i1.4730.
- OMI, M.; MISHINA, Y. Roles of osteoclasts in alveolar bone remodeling. **Genesis**, Brasília, v. 60, n. 8-9, p. e23490, 2022. DOI: 10.1002/dvg.23490.
- PAJARINEN, J. *et al.* Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing. **Biomaterials**, Netherlands, v. 196, p. 80-89, 2019. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.12.025.
- PALARD, M.; CHAMPION, E.; FOUCAUD, S. Synthesis of silicated hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ . **Journal of Solid State Chemistry**, Estados Unidos, v. 181, n. 8, p. 1950-1960, 2008.
- PAPE, H. C.; EVANS, A.; KOBBE, P. Autologous bone graft: properties and techniques. **Journal of Orthopaedic Trauma**, v. 24, supl. 1, p. S36-S40, 2010. DOI: 10.1097/BOT.0b013e3181cec4a1.
- PATEL, N. *et al.* A comparative study on the in vivo behavior of hydroxyapatite and silicon substituted hydroxyapatite granules. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, Estados Unidos, v. 13, p. 1199–1206, 2002. DOI: 10.1023/A:1021114710076.
- PIRES, R.; BIERHALZ, K.; MORAES, M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015. DOI: 10.5935/0100-4042.20150094.
- PORTER, *et al.* Effect of sintered silicate-substituted hydroxyapatite on remodelling processes at the bone–implant interface. **Biomaterials**, Netherlands v. 25, n.16, p. 3303–3314, 2004. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2003.10.006.
- PORTER, A. E. Nanoscale characterization of the interface between bone and hydroxyapatite implants and the effect of silicon on bone apposition. **Micron**, Australia, v. 37, n. 8, p. 681–688, 2006. DOI: 10.1016/j.micron.2006.03.006.
- PORTER, A. E.; BEST, S. M.; BONFIELD, W. Ultrastructural comparison of hydroxyapatite and silicon-substituted hydroxyapatite for biomedical applications. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Estados Unidos, v. 68, n.1, p. 133–141, 2004. DOI: 10.1002/jbm.a.20064.
- QUEIROZ, *et al.* Métodos de caracterização de materiais para pesquisa em odontologia. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**, Rio de Grande, v. 17, n. 1, 2012. DOI: 10.5335/rfo.v17i1.1868.
- RAGGATT, L. J.; PARTRIDGE, N. C. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 285, n. 33, p. 25103-08, 2010. DOI: 10.1074/jbc.R109.041087.
- REFFITT, D. M. *et al.* Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. **Bone**, Austrália, v. 32, n. 2, p. 127-135, 2003. DOI: 10.1016/s8756-3282(02)00950-x.

REIS, F. A. R. dos *et al.* Avaliação das vantagens da realização de enxerto autógeno em pré-maxila. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, São Paulo, n. 20, p. e436, 2019. DOI: <https://doi.org/10.25248/reas.e436.2019>.

RIBEIRO, I. I. A dos *et al.* Biological evaluation of critical bone defect regeneration using hydroxyapatite/alginate composite granules. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 39, p. e392824, 2024. DOI: 10.1590/acb392824.

RIBEIRO, S. B. N. *et al.* Caracterização da esponja de água doce (*Metania reticulata*) para uso como arcabouço de engenharia tecidual. **Revista Militar de Ciência e Tecnologia**, v. 37, n. 4, p. 92–99, 2020. Disponível em: <http://www.ebrevistas.eb.mil.br/CT/article/view/8592>. Acesso em: 27 nov. 2024.

ROH, J. *et al.* Bone regeneration using a mixture of silicon-substituted coral HA and  $\beta$ -TCP in a rat calvarial bone defect model. **Materials** (Basel), v. 9, n. 2, p. 97, 6 Feb. 2016. DOI: 10.3390/ma9020097.

SANTOS, A. C. D. *et al.* A new hydroxyapatite-alginate-gelatin biocomposite favor bone regeneration in a critical-sized calvarial defect model. **Brazilian Dental Journal**, São Paulo, v. 35, p. e245461, 2024. DOI: 10.1590/0103-6440202405461.

SANTOS, G. G. *et al.* Influence of the geometry of nanostructured hydroxyapatite and alginate composites in the initial phase of bone repair. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. e0203, 2019. DOI: 10.1590/s0102-8650201900203.

SCHLEIER, R.; GALITESI, L.; FERREIRA, E. C. M. **Silício e cálcio** – uma abordagem antropológica. São Paulo: Arte Médica Ampliada, 2014. V. 34, P. 103.

SHI, C. *et al.* Recent advances in bone-targeted therapy. **Pharmacology & Therapeutics**, Estados Unidos, v. 207, p. 107473, 2020. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107473.

SHOJAI, M. *et al.* Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 9, n. 8, p. 7591–7621, 2013. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.04.012.

SI, J. *et al.* Osteopontin in Bone Metabolism and Bone Diseases. **Medical Science Monitor**, Estados Unidos, v. 26, p. e919159, 2020. DOI: 10.12659/MSM.919159.

SILVA, J. de A. *et al.* Estudo histomorfométrico do reparo de defeitos ósseos não críticos após implantação de microesferas de hidroxiapatita substituídas por magnésio. **Revista Brasileira de Ortopedia**, São Paulo, v. 59, n. 4, p. 519–525, 2024. DOI: 10.1055/s-0044-1787768.

SINHORETI, M. A. C.; VITTI, R. P.; CORRER-SOBRINHO, L. Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, São Paulo, v. 67, n. 4, 2013.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA (SiBBR). Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Rio de Janeiro: SiBBR, 2024. Disponível em: <https://www.sibbr.gov.br>. Acesso em: 28 ago. 2024.

TANAKA, R. *et al.* Incorporação dos enxertos ósseos em bloco: processo biológico e considerações relevantes. **ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 323-327, 2008. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=92911262006>. Acesso em: 12 out. 2024.

TIAN, T. *et al.* Synthesis of Si-substituted hydroxyapatite by a wet mechanochemical method. **Materials Science and Engineering: C**, Holanda, v. 28, p. 57-63, 2008. DOI: 10.1016/j.msec.2007.10.049.

TOLAR, J.; TEITELBAUM, S. L.; ORCHARD, P. J. Osteopetrosis. **New England Journal of Medicine**, Estados Unidos, v. 351, n. 27, p. 2839-2849, 2004. DOI: 10.1056/NEJMra040952.

TONNESEN, G.; FENG, X.; CLARK, A. Angiogenesis in wound healing. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, Estados Unidos, v. 5, n. 1, p. 40-46, 2000. DOI: 10.1046/j.1087-0024.2000.00014.x.

VALLET-REGÍ, M.; ARCOS, D. Silicon substituted hydroxyapatites. A method to upgrade calcium phosphate based implants. **Journal of Materials Chemistry**, Cambridge, v. 15, n. 15, p. 1509-1516, 2005. DOI: doi.org/10.1039/B414143A.

WADDINGTON, R. J. *et al.* Differential roles for small leucine-rich proteoglycans in bone formation. **European Cells and Materials**, Estados Unidos, v. 6, p. 12-21, 2003. DOI: 10.22203/ecm.v006a02.

WALMSLEY, G. *et al.* Stem Cells in Bone Regeneration. **Stem Cell Reviews and Reports**, Estados Unidos, v. 12, n. 5, p. 524-529, 2016. DOI: 10.1007/s12015-016-9665-5.

WALTERS, G.; POUNTOS, I.; GIANNOUDIS, P. V. The cytokines and micro-environment of fracture haematoma: Current evidence. **Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, Chichester, v. 12, n. 3, p. e1662-77, 2018. DOI: 10.1002/term.2593.

WASHINGTON, E. M. C. Preparation and characterization of nano silica from *Equisetum arvenses*. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, Estados Unidos, v. 5, n. 2, 2015. DOI: 10.4172/2155-9821.1000205.

WUBNEH, A. *et al.* Current state of fabrication technologies and materials for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, Kidlington, v. 80, p. 1-30, 2018. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.09.031.

YANG, N.; LIU, Y. The Role of the Immune Microenvironment in Bone Regeneration. **International Journal of Medical Sciences**, Egito, v. 18, n. 16, p. 3697-3707, 2021. DOI: 10.7150/ijms.61080.

YASUDA, H. Discovery of the RANKL/RANK/OPG system. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, New York, v. 39, n. 1, p. 2-11, 2021. DOI: 10.1007/s00774-020-01175-1.

YIN, X. *et al.* Autophagy in bone homeostasis and the onset of osteoporosis. **Bone Research**, China, v. 7, n. 1, 2019. DOI: 10.1038/s41413-019-0058-7.

YU, T.; QIU, W.; DENG, G.-M. Regulatory effects of autoantibody IgG on osteoclastogenesis. **Clinical Immunology**, [s.l], v. 246, p. 109200, jan. 2023. DOI: 10.1016/j.clim.2022.109200.

YU, X. *et al.* Biomaterials for Bone Regenerative Engineering. **Advanced Healthcare Materials**, Basel, v. 4, n. 9, p. 1268–1285, 7 Apr. 2015. DOI: 10.1002/adhm.201400760.

ZHANG, X.; WILLIAMS, D. (Eds.). **Definitions of biomaterials for the twenty-first century**. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 15–23. DOI: 10.1016/B978-0-12-818291-8.00002-X.

ZHOU, X. *et al.* Silicates in orthopedics and bone tissue engineering materials. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Hoboken, v. 105, n. 7, p. 2090-2102, July 2017. DOI: 10.1002/jbm.a.36061.

ZHU, L.; LUO, D.; LIU, Y. Effect of the nano/microscale structure of biomaterial scaffolds on bone regeneration. **International Journal of Oral Science**, China, v. 12, n. 1, p. 6, 2020. DOI: 10.1038/s41368-020-0073-y.

ZONG, Q. *et al.* Bioactive carbon dots for tissue engineering applications. **Smart Materials in Medicine**, China, v. 5, n. 1, p. 1–14, 2024. DOI: 10.1016/j.smaim.2023.06.006.

ANEXO A – Aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde) (CEUA/ICS.UFBA)



Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Ciências da Saúde - UFBA



**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Caracterização da resposta biológica de grânulos de niobato de sódio e potássio, e de hidroxiapatita substituída com sílica biogênica, após implantação em defeito ósseo crítico, associada ao uso da plataforma vibratória em rato", protocolada sob o CEUA nº 2419171122 (ID 000243), sob a responsabilidade de **Fúlvio Borges Miguel** e equipe; *Leila Valverde Ramos; Isabela Cerqueira Barreto; Carmelita de Freitas Santos ; Luiz Henrique Barauna* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde) (CEUA/ICS.UFBA) na reunião de 10/02/2023.

We certify that the proposal "Characterization of the biological response of sodium and potassium niobate granules and hydroxyapatite substituted with biogenic silica, after implantation in a critical bone defect, associated with the use of a vibration platform in rats", utilizing 258 Heterogenics rats (258 males), protocol number CEUA 2419171122 (ID 000243), under the responsibility of **Fúlvio Borges Miguel and team; Leila Valverde Ramos; Isabela Cerqueira Barreto; Carmelita de Freitas Santos ; Luiz Henrique Barauna** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Bahia (Health Sciences Institute) (CEUA/ICS.UFBA) in the meeting of 02/10/2023.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [01/2023](#) a [12/2026](#)      Área: [Ciências da Saúde](#)

Origem: [Biotério do Instituto de Ciências da Saúde \(antigo Biotério do Laboratório de Neurociências\)](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)      sexo: [Machos](#)      idade: [12 a 15 semanas](#)      N: [258](#)

Linagem: [Rattus Norvegicus Albinus](#)      Peso: [300 a 350 g](#)

Local do experimento: [Biotério do ICS-UFBA](#).

Salvador, 13 de fevereiro de 2023

Dr. Marcos Borges Ribeiro

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)

Dra. Deborah Brito Prates

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Bahia (Instituto de Ciências da Saúde)



Instituto de Ciências da Saúde  
Programa de Pós Graduação  
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas  
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100  
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsistem.ics.ufba.br>