



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ERIKA PATRICIA CHAGAS GOMES LUZ

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS BIOCOMPATÍVEIS,
BIOATIVAS E BIODEGRADÁVEIS À BASE DE CELULOSE
BACTERIANA/HIDROXIAPATITA DE ESTRÔNCIO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA
GUIADA**

FORTALEZA

2021

ERIKA PATRICIA CHAGAS GOMES LUZ

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS BIOCOMPATÍVEIS,
BIOATIVAS E BIODEGRADÁVEIS À BASE DE CELULOSE
BACTERIANA/HIDROXIAPATITA DE ESTRÔNCIO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA
GUIADA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do título de doutor em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Orientadora: Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira

Coorientadora: Profa. Dra. Fabia Karine Andrade

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C424d Luz, Erika Patrícia Chagas Gomes.

Desenvolvimento de membranas compósitas biocompatíveis, bioativas e biodegradáveis à base de celulose bacteriana/hidroxiapatita de estrôncio para regeneração óssea guiada / Erika Patrícia Chagas Gomes Luz. – 2021. 87 f. : il. color.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Fortaleza, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa

Coorientação: Prof. Dr. Rodrigo Silveira Vieira

Profa. Dr. Fábيا Karine Andrade

1. Oxidação. 2. Celulose bacteriana. 3. Biodegradabilidade. 4. Estrôncio. 5. Reparo ósseo. I. Título.

CDD 660

ERIKA PATRICIA CHAGAS GOMES LUZ

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS COMPÓSITAS
BIOCOMPATÍVEIS, BIOATIVAS E BIODEGRADÁVEIS À BASE DE
CELULOSE BACTERIANA/HIDROXIAPATITA DE ESTRÔNCIO PARA
REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do título de doutor em Engenharia Química. Área de concentração: Processos químicos e bioquímicos.

Aprovada em: 27/11/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Morsyleide de Freitas Rosa (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Pierre Basílio Almeida Fachine

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Profa. Vilma de Lima

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Maria Valderez Ponte Rocha

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Igor Iuco Castro da Silva

Universidade Federal do Ceará (UFC Sobral)

Dedico este trabalho à Deus pela força nos momentos difíceis e pelas bênçãos concedidas no decorrer desta caminhada. Ao meu amado marido Rennan Luz que esteve presente em todos os momentos, sendo compreensivo, paciente e amoroso. Aos meus pais Elias e Aparecida pela dedicação e pelo amor que me foi dado. Aos meus irmãos Elizabeth, Elis Cristina e Elias Vitor pelo apoio e amizade. Aos meus amados sobrinhos Giulia, Vitor Miguel e Laís que me proporcionaram momentos felizes. E à minha filha, Eliza, pelo estímulo e força para buscar meus ideais.

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor coorientador Dr. Rodrigo Silveira Vieira por sua dedicação, atenção, sua compreensão, seus ensinamentos, pelo estímulo de me tornar sempre melhor e, principalmente, pelas contribuições dadas ao trabalho.

A minha orientadora Dra. Morsyleide de Freitas Rosa pelas contribuições para meu crescimento acadêmico e pessoal.

A minha querida coorientadora Dra. Fabia Karine Andrade por sua dedicação, carinho e disposição em cooperar no desenvolvimento deste trabalho.

A colaboradora Dra. Maria de Fátima Borges pelo seu amor, apoio e disposição em contribuir para o sucesso do trabalho.

Ao professor Igor Iuco da Silva Castro pela sua contribuição e orientação nos ensaios biológicos.

As amigas do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da EMBRAPA: Monalisa, Erica, Eliscia, Samara, Larissa, Natalia, Sádwa, Lúcia e a técnica Régia Sobral que me ajudaram nas atividades diárias.

Ao grupo GPSA, em nome de Andrea, Janelene, Caroline e Amanda pela disposição e prontidão para me ajudar com a solicitação dos materiais e consertos dos equipamentos.

Em especial, meu querido irmão acadêmico Paulo Hiago que me auxiliou em muitos momentos do trabalho com seu otimismo e alegria.

Ao prof. Ronaldo, do Laboratório LANAGUA, que permitiu operar o equipamento de absorção atômica.

Aos amigos Aurelia Retiella, Rosiene Arcanjo, Sandy Gomes, Ana Lorena e John Alef, que trouxeram momentos de descontração.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A EMBRAPA pelo suporte técnico.

“Biomateriais: O desenvolvimento de um novo mundo”

(Bruna Félix)

RESUMO

Membranas são dispositivos implantáveis fundamentais para procedimentos de regeneração óssea guiada (ROG) que previne a invasão de tecidos fibrosos não funcionais para o defeito ósseo. Algumas membranas comerciais são produzidas a partir de materiais não degradáveis que requerem um segundo momento cirúrgico para removê-las após o processo de regeneração. Contudo, ainda é um desafio desenvolver produtos biomiméticos ao osso, biocompatíveis, bioativos e com biodegradabilidade controlada. Nesse contexto, o presente trabalho teve como foco a produção de biomateriais para aplicação em mecanismos de formação óssea, considerando a composição do tecido ósseo, que é uma mistura de colágeno tipo I e fosfatos de cálcio (hidroxiapatita). Esta pesquisa produziu membranas compósitas biocompatíveis, bioativas e biodegradáveis a base de celulose bacteriana oxidada (CBox) e hidroxiapatita (HA) incorporadas de íons de estrôncio (Sr) para que esses componentes atuem sinergicamente no reparo ósseo guiado. As membranas de CB foram submetidas a oxidação (reação de derivatização da celulose) com o intuito de aumentar sua degradação em ambiente fisiológico. Foram avaliados três tempos de reação de oxidação com periodato de sódio. A variação do tempo avaliou a influência do grau de oxidação na degradabilidade *in vitro* das amostras, quantificando os produtos de degradação do sobrenadante por CLAE. Em seguida, foram sintetizadas membranas híbridas como sistemas de liberação de estrôncio em matrizes de CB 40% oxidada combinadas com HA e/ou SrAp por meio de ciclos de imersão. Tanto as amostras oxidadas quanto as amostras híbridas oxidadas foram caracterizadas pelo grau de intumescimento, FTIR, TGA, MEV-EDS, DRX, XPS e RMN. Além disso, foram também avaliadas quanto à sua bioatividade no fluido corporal simulado (SBF), bem como ao perfil de liberação de estrôncio e testes de biocompatibilidade e biodegradação, através da avaliação histológica dos tecidos subcutâneos após 1, 3 e 9 semanas de implantação das membranas em camundongos. Os resultados mostraram que a oxidação exerce uma influência na degradabilidade das membranas, como também em propriedades como intumescimento e cristalinidade. Na produção dos híbridos foi verificado que a oxidação torna o material carregado negativamente favorecendo a interação com o Sr, e afetando o processo de nucleação da HA sobre a superfície modificada. Observou-se que a liberação do componente ativo Sr, para reparo ósseo, pode ser modulada conforme o grau de oxidação e futura aplicação. Nos testes de bioatividade, biocompatibilidade e biodegradação, todos os materiais híbridos testados demonstraram ser bioativos e biocompatíveis, com relação à degradação, apenas os materiais com matrizes oxidadas foram capazes de degradarem quando implantados e nos tempos analisados. Portanto, conclui-se que a rota sugerida no estudo é capaz de realizar com sucesso a oxidação e produção de híbridos oxidados, além de produzir membranas biodegradáveis, bioativas e biocompatíveis visando aplicações futuras no reparo ósseo.

Palavras-chave: Biodegradabilidade. Oxidação. Bioatividade. Reparo Ósseo.

ABSTRACT

Membranes are fundamental implantable devices for guided bone regeneration (ROG) procedures that prevent invasion of non-functional fibrous tissues to the bone defect. Some commercial membranes are produced from non-degradable materials that require a second surgical step to remove them after the regeneration process. However, it is still a challenge to develop biomimetic products to the bone, biocompatible, bioactive and with controlled biodegradability. In this context, the present work focused on the production of biomaterials for application in bone formation mechanisms, considering the composition of bone tissue, which is a mixture of type I collagen and calcium phosphates (hydroxyapatite). This research produced biocompatible, bioactive and biodegradable composite membranes based on oxidized bacterial cellulose (CBox) and hydroxyapatite (HA) incorporated with strontium ions (Sr) so that these components act synergistically in guided bone repair. The CB membranes were subjected to oxidation (cellulose derivatization reaction) in order to increase their degradation in a physiological environment. Three oxidation reaction times with sodium periodate were evaluated. The time variation evaluated the influence of the degree of oxidation on the in vitro degradability of the samples, quantifying the degradation products of the supernatant by CLAE. Then, hybrid membranes were synthesized as strontium release systems in matrices of 40% oxidized CB combined with HA and / or SrAp through immersion cycles. Both oxidized samples and hybrid oxidized samples were characterized by the degree of swelling, FTIR, TGA, MEV-EDS, DRX, XPS and NMR. In addition, they were also evaluated for their bioactivity in the simulated body fluid (SBF), as well as the strontium release profile and biocompatibility and biodegradation tests, through histological evaluation of subcutaneous tissues after 1, 3 and 9 weeks of implantation. membranes in mice. The results showed that oxidation has an influence on the degradability of the membranes, as well as on properties such as swelling and crystallinity. In the production of the hybrids, it was verified that oxidation makes the material negatively charged, favoring the interaction with Sr, and affecting the process of nucleation of HA on the modified surface. It was observed that the release of the active component Sr, for bone repair, can be modulated according to the degree of oxidation and future application. In the tests of bioactivity, biocompatibility and biodegradation, all hybrid materials tested proved to be bioactive and biocompatible, with respect to degradation, only materials with oxidized matrices were able to degrade when implanted and at the analyzed times. Therefore, it is concluded that the route suggested in the study is capable of successfully carrying out the oxidation and production of oxidized hybrids, in addition to producing biodegradable, bioactive and biocompatible membranes for future applications in bone repair.

Keywords: Biodegradability. Oxidation. Bioactivity. Bone Repair.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Dente sadio e acometido por uma doença periodontal com a redução da massa óssea	18
Figura 2	– Regeneração óssea guiada através do uso de membranas de colágeno	19
Figura 3	– Celulose bacteriana cultivada em meio comercial HS	21
Figura 4	– Reações de derivatização da celulose.....	22
Figura 5	– Híbrido de celulose bacteriana e hidroxiapatita (CB/HA)	25
Figura 6	– Mecanismo de interação do estrôncio com as células ósseas.....	28
Figura 7	– Grau de intumescimento (%) de (A) CB e seus derivados oxidados (CBox 40%, CBox 60%, CBox 90%) e (B) Compósitos CB/HA com diferentes graus de oxidação (CBox 40% / HA, CBox 60% / HA, CBox 90% / HA)	39
Figura 8	– Microscopia eletrônica de varredura para (A) CB e seus derivados oxidados (CBox 40%, CBox 60%, CBox 90%) e (B) CB / HA e compósitos com diferentes graus de oxidação (CBox 40% / HA, CBox 60% / HA, CBox 90% / HA)	40
Figura 9	– Difractogramas de raios-X para (A) CB e seus derivados oxidados (CBox 40%, CBox 60%, CBox 90%) e (B) CB / HA e compósitos com diferentes graus de oxidação (CBox 40% / HA, CBox 60% / HA, CBox 90% / HA)	42
Figura 10	– Espectros vibracionais na região do infravermelho para (A) CB e seus derivados oxidados (CBox 40%, CBox 60%, CBox 90%) e (B) Compósitos CB/HA com diferentes graus de oxidação (CBox 40%/HA, CBox 60% /HA, CBox 90%/HA)	43
Figura 11	– Espectros ¹³ C RMN de amostras de CB e CBox.....	45
Figura 12	– Espectros de nível de núcleo C1s correspondentes a X) CBox 40%, Y) CBox 60% e Z) CBox 90%	46
Figura 13	– Análise termogravimétrica (TGA / DTG) de (A, B) CB e seus derivados oxidados (CBox 40%, CBox 60%, CBox 90%) e (C, D) CB / HA e compósitos com diferentes graus de oxidação (CBox 40% / HA, CBox 60% / HA, CBox 90% / HA)	48

Figura 14 – Esquema de oxidação de celulose bacteriana por periodato de sódio e mecanismo de degradação hidrolítica de carboidratos produtores de celulose oxidada, ácido 2,4-dihidroxi-butírico e ácido glicólico (ou ácido hidroxiacético), proposto por Li et al. (2009)	50
Figura 15 – Valores da concentração de glicose por tempo de degradabilidade in vitro em PBS para (A) CB e seus derivados oxidados e (B) CB / HA com diferentes graus de oxidação	51
Figura 16 – Reação de oxidação da celulose bacteriana (CB) e sua interação com os íons cálcio e estrôncio, proposta por Hou et al. (2018) com adaptações	55
Figura 17 – Adsorção de Sr em CB / HA / Sr e produção de CBox / HA / Sr (A) Adsorção de Sr em compósitos híbridos CB / SrAp e CBox / SrAp (B)	56
Figura 18 – Grau de intumescimento (%) de CBox / HA, CBox / HA / Sr e CBox / SrAp	57
Figura 19 – Espectros vibracionais na região do infravermelho do CB nativo e CB oxidada (A) e dos compósitos CBox / HA, CBox / HA / Sr e CBox / SrAp (B)	58
Figura 20 – Análise termogravimétrica dos compósitos produzidos CBox / HA, CBox / HA / Sr e CBox / SrAp	59
Figura 21 – Difractogramas de raios-X para CB nativa e CB oxidada (A) e híbridos: CBox / HA, CBox / HA / Sr e CBox / SrAp (B)	60
Figura 22 – Mecanismo de degradação hidrolítica de carboidratos, produzindo celulose oxidada, ácido 2,4-di-hidroxi-butírico e glicólico (ou ácido hidroxiacético), adaptado (A), e concentração de glicose nos sobrenadantes após o teste de degradabilidade in vitro de compósitos híbridos de CB e a oxidação bacteriana da celulose por periodato de sódio (B)	62
Figura 23 – Perfis de liberação de estrôncio de CBox / HA / Sr e CBox / SrAp em fluido corporal simulado - SBF (A) e solução salina tamponada com fosfato - PBS (B) em 15, 30, 60 e 90 dias	63
Figura 24 – Micrografias eletrônicas das superfícies do compósito antes da incubação em fluido corporal simulado: CBox / HA (A), CBox / HA / Sr (B) e CBox / SrAp	

(C); Micrografias eletrônicas das superfícies compostas após 90 dias de 64
incubação em fluido corporal simulado: CBox / HA (D), CBox / HA / Sr (E)
e CBox / SrAp (F); Micrografias eletrônicas usando um detector de BSE das
superfícies de materiais híbridos CBox / HA / Sr (G) e CBox / SrAp (H)

Figura 25 – Viabilidade dos fibroblastos L-929 após incubação com extratos dos 67
compósitos híbridos produzidos; as células expostas apenas ao meio de
cultura representam o controle positivo e o controle negativo foi obtido por
incubação com DMSO 40%

Figura 26 – Imagens histopatológicas de tecido subcutâneo de camundongos enxertados 68
com CB / HA, CBox / HA, CB / HA / Sr, CBox / HA / Sr, CB / SrAp ou CBox
/ SrAp após 1, 3 e 9 semanas. Material enxertado (M); Epitélio (E); Vaso
sanguíneo (BV); Resposta inflamatória neutrofílica (*) e linfocítica (**);
Fibroblastos (→); Cálcio (Ca); Estrôncio (Sr); Macrófago (Ma); Células
gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho (CG). Método de coloração:
Hematoxilina-Eosina; Ampliação: 40x (barra de escala: 500µm) e 400x
(50µm)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise química de superfície por EDX para todas as amostras de CB antes e depois da imersão em SBF	52
Tabela 2 – Análise química de superfície dos compósitos híbridos, antes e após 90 dias de incubação em fluido corporal simulado, utilizando detector de energia dispersiva de raios-X	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CB	Celulose bacteriana
CBox	Celulose bacteriana oxidada
HA	Hidroxiapatita
SrAp	Apatita de estrôncio
SBF	Fluido simulado corpóreo
PBS	Tampão fosfato salino
AAS	Espectroscopia de absorção atômica
FTIR	Espectroscopia de Transformada de Fourier
TGA	Análise termogravimétrica
DRX	Difração de raio-X
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
EDS	Energia dispersiva de raio-X
ROG	Regeneração óssea guiada
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa B
RANKL	Ligante do Receptor ativador do fator nuclear kappa B
OPG	Osteoprogerina
CaR	Receptores sensíveis ao cálcio
DAC	2,3 dialdeído celulose
SrRan	Ranelato de estrôncio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1.	Regeneração óssea guiada (ROG)	18
2.2.	Celulose bacteriana	19
2.3.	Oxidação da CB	21
2.4.	Produção de compósitos	23
2.5.	A importância do uso do metal estrôncio	26
3.	OBJETIVO GERAL	30
3.1.	Objetivos Específicos	30
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1.	Síntese e purificação da CB	31
4.2.	Oxidação da CB	31
4.3.	Grau de oxidação por método de titulação	32
4.4.	Síntese de membranas compostas	32
4.4.1	<i>Síntese de membranas compostas CBox/HA</i>	32
4.4.2	<i>Síntese de membranas híbridas CBox/HA/Sr e CBox/SrAp</i>	32
4.5.	Caracterização dos materiais produzidos	33
4.5.1	<i>Grau de intumescimento</i>	33
4.5.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	33
4.5.3	<i>Difração de raios X (DRX)</i>	33
4.5.4	<i>Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</i>	34
4.5.5	<i>Ressonância magnética nuclear de estado sólido (NMR)</i>	34
4.5.6	<i>Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS)</i>	34
4.5.7	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	34

4.6.	Teste de degradabilidade in vitro	35
4.7.	Teste de bioatividade	35
4.8.	Liberação de Sr de membranas híbridas	35
4.9.	Teste de citotoxicidade	36
4.10.	Avaliação de biocompatibilidade e biodegradação in vivo	36
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1.	Degradabilidade in vitro de membranas bacterianas oxidadas e de compósitos de celulose-hidroxiapatita oxidados	38
5.1.1	<i>CB perda de peso</i>	38
5.1.2	<i>Grau de intumescimento</i>	38
5.1.3	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	39
5.1.4	<i>Difração de raios X (DRX)</i>	41
5.1.5	<i>Espectroscopia de absorção de região infravermelha (FTIR)</i>	43
5.1.6	<i>Ressonância magnética nuclear de estado sólido (RMN)</i>	44
5.1.7	<i>Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS)</i>	45
5.1.8	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	47
5.1.9	<i>Teste de degradabilidade in vitro</i>	49
5.1.10	<i>Teste de bioatividade</i>	52
5.2.	Sistemas de liberação de estrôncio como membranas para Regeneração Óssea Guiada	54
5.2.1	<i>Influência de CB oxidado na capacidade de adsorção de Sr</i>	54
5.2.2	<i>Grau de intumescimento</i>	56
5.2.3	<i>Espectroscopia de absorção de região infravermelha (FTIR)</i>	57
5.2.4	<i>Análise termogravimétrica (TGA)</i>	58
5.2.5	<i>Difração de raios-X (DRX)</i>	59
5.2.6	<i>Teste de degradabilidade in vitro para CBox / HA, CBox / HA / Sr e CBox / SrAp</i> 61	
5.2.7	<i>Dessorção de estrôncio</i>	63

5.2.8	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), bioatividade e elétrons retroespalhados (BSE).</i>	64
5.2.9	<i>Citotoxicidade</i>	67
5.2.10	<i>Avaliação da biocompatibilidade e biodegradação in vivo</i>	68
6.	CONCLUSÃO GERAL	72
	REFERÊNCIAS	73
	ARTIGOS PUBLICADOS	85

1. INTRODUÇÃO

A Regeneração Óssea Guiada (ROG) é um procedimento cirúrgico que envolve o uso combinado de materiais de preenchimento (enxertos) e materiais que sirvam de barreira física na migração de tecidos (barreiras de membrana), como o conjuntivo, para locais onde deva ocorrer a osteogênese (formação do novo osso) (ACEVEDO et al., 2004; PEDROSA et al., 2018). Porém, algumas membranas comerciais utilizadas nesse tipo de procedimento não são absorvíveis, implicando num segundo ato cirúrgico para sua remoção e isso tem causado estresse psicológico no paciente, além de trazer riscos ao tecido regenerado e facilidade de novas infecções (BOTTINO et al., 2012; HAMMERLE, JUNG, 2003; WANG, CARROLL, 2001).

O tecido ósseo apresenta um alto potencial de reparação, mas em defeitos com grande perda óssea, essa regeneração pode ser limitada. Isso tem impulsionado muitas pesquisas na área de biomateriais, especialmente, no desenvolvimento de materiais que desempenham funções na formação óssea. Muitas dessas pesquisas têm demonstrado que as sínteses desses materiais partem do princípio de mimetizar a natureza do tecido receptor, realizando mudanças nas suas estruturas de origem ou até mesmo combinando-os com outra classe de materiais (REZNIKOV et al., 2014).

A celulose bacteriana combinada a hidroxiapatita (CB/HA) é um produto híbrido, constituído de duas fases (orgânica e inorgânica), que apresenta propriedades emergentes que são favoráveis à regeneração de tecidos ósseos. A CB é um biopolímero de elevada pureza e cristalinidade e não possui componentes que possam causar reações alérgicas (BOSE et al., 2012; TAKAHASHI et al., 2003; PICHETH et al., 2017). Já a HA facilita a multiplicação dos fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas por ser compatível com os tecidos ósseos (NULDEMAN et al., 2012; NEJATI; MIRZADEH; ZANDI, 2008; SZCZEŚ, HOŁYSZ, CHIBOWSKI, 2017). Uma forma de otimizar os benefícios dessa interação (CB/HA) foi a introdução do Sr na sua estrutura para uma atuação mais efetiva no metabolismo ósseo com a produção de sistemas de liberação de Sr (LUZ et al., 2018).

Diante desses inúmeros benefícios, num trabalho anterior, foram desenvolvidos por nosso grupo (LUZ et al., 2018), dois tipos de materiais que demonstraram ser capazes de servirem como sistemas de liberação de estrôncio, a partir da combinação de CB com HA, funcionalizando-os com estrôncio. Visto que a combinação pelas vias de produção sugeridas por nossos estudos possibilitou a produção desses compósitos, avançamos com a produção de uma nova “hidroxiapatita” através da troca de íons cálcio por íons estrôncio. Porém, apesar dos

resultados promissores obtidos até aqui a proposta de uso ainda se mantinha limitada devido a não degradação da CB *in vivo*. Desta forma, no doutorado, optamos por fazer modificações químicas nesse polímero como forma de aumentar sua degradação.

Há estudos que sugerem a modificação estrutural da matriz polimérica através de reações químicas que possam contribuir na introdução de grupamentos capazes de interagir e superar esse tipo de limitação (PICHETH et al., 2017). Com a modificação estrutural da CB, aumentam as possibilidades de uso como matriz carreadora tornando mais viável sua aplicação no reparo ósseo (HÖGLUND, 2015; BOSE et al., 2012). Dentre as reações químicas possíveis utilizadas na celulose está a oxidação, caracterizada por converter grupos hidroxila dos átomos de carbono 2 e 3 de uma unidade de anidroglicose (AGU), pela formação de dois grupos aldeídos (COSERIA et al., 2013), produzindo um composto biodegradável, 2,3 dialdeído celulose (DAC).

O presente trabalho visou ampliar as possibilidades de aplicação de membranas híbridas à base de celulose bacteriana/hidroxiapatita dopadas de estrôncio como membranas biodegradáveis e bioativas para o uso em Regeneração Óssea Guiada, avaliando sua biodegradabilidade, bioatividade e biocompatibilidade, além de caracterizá-las, a partir de técnicas analíticas avançadas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

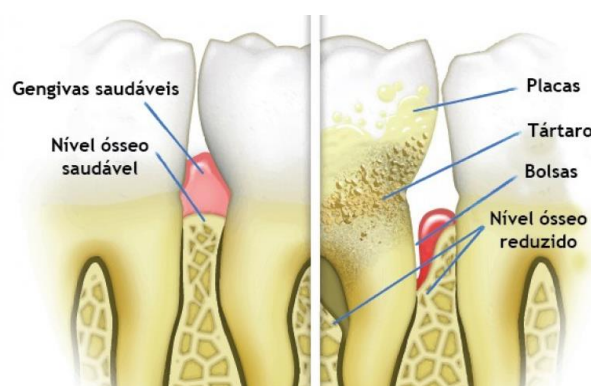
Impulsionado pela crescente demanda por biomateriais atuantes nos mecanismos de formação óssea que este trabalho foi desenvolvido. O principal intuito é a geração de um produto funcional que contribua nos mecanismos de formação óssea em aplicações biomédicas ampliando a variedade de biomateriais, principalmente, aqueles utilizados na área odontológica.

Esse produto pretende estimular reações que favoreçam o reparo ósseo, além de ser uma alternativa como material biodegradável aos produtos comercializados. Esta revisão centra-se na Regeneração Óssea Guiada, matriz polimérica foco do presente estudo, sua modificação estrutural pela oxidação, sobre a produção de compósitos e a importância do íon metálico Sr^{2+} .

2.1. Regeneração óssea guiada (ROG)

Os defeitos ósseos ocorrem quando uma parte da matriz óssea é perdida devido a traumas e doenças (SPICER et al., 2012). Como exemplo, temos a Figura 1, onde se observa a redução do nível ósseo causada por uma doença periodontal. Caso a condição do dano esteja além da autocura, tecidos ou materiais são necessários para preencher a área do defeito e induzir a regeneração do tecido ósseo (ZWINGENBERGER *et al.*, 2013; HAUGEN et al., 2019).

Figura 1 – Dente sadio e acometido por uma doença periodontal com a redução da massa óssea.



Fonte: ORTODONTIA, 2016.

Esse auxílio é conseguido através da Regeneração Óssea Guiada (ROG) que se baseia no posicionamento e estabilização da membrana para separar o tecido mole do tecido ósseo e implante, produzindo um espaço e impedindo a migração de células do tecido epitelial e conjuntivo; permitindo que as células ósseas e outras células necessárias e presentes possam

repopoar a área, multiplicando-se e preenchendo a região (RETZEPI; DONOS, 2010).

A Figura 2 descreve a regeneração óssea guiada, usando membrana de colágeno e enxerto ósseo mineral particulado. Nesse caso inicia-se o preenchimento da perda óssea utilizando osso bovino e, em seguida, coloca-se a membrana que funcionará como barreira física.

Figura 2 – Regeneração óssea guiada através do uso de membranas de colágeno.



Fonte: BIOCARE, 2017.

A ciência dos materiais biomédicos está focada no desenvolvimento de materiais funcionais que exibem características únicas, incluindo propriedades mecânicas adaptadas, distribuição do tamanho de poros, capacidade de serem moldados em diversas formas, promoção do crescimento de células específicas, crescimento de tecido direcionado e capacidade de liberação controlada de vários compostos farmacêuticos (HU; CATCHMARK; VOGLER, 2013; SHEIKH et al., 2016).

A fim de agregar propriedades essenciais, o uso de combinações entre materiais destaca-se como uma rota alternativa para a produção de compósitos. O objetivo principal de se produzir um compósito é a obtenção de um sistema com propriedades superiores às dos componentes unitários (DUARTE et al., 2015). Um biomaterial ideal para regeneração óssea seria aquele que imita o processo natural de formação óssea e promove adequadamente a consolidação óssea (ZIMMERMANN et al., 2011).

2.2. Celulose bacteriana

O uso de materiais poliméricos está em constante ascensão para aplicações biomédicas, eles vêm se destacando como excelente transporte para fármacos. A partir de

muitos polímeros estão sendo construídos sistemas de liberação controlada de fármacos e dispositivos médicos para a restauração do tecido, reparos dentários, enxertos vasculares, entre outros (PICHETH et al., 2017).

Biocompatibilidade é a capacidade de um material desencadear uma resposta biológica apropriada, quando aplicado no organismo, não causando reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade; está relacionada com a interação célula/biomaterial. A partir de testes de biocompatibilidade, os polímeros são escolhidos de forma a assegurar a utilização de um material adequado e capaz de interagir com tecidos vivos. Além desses testes, é também indispensável à avaliação sobre o potencial tóxico do material e seus produtos de degradação (DUMITRIU, 2001; MAHAPATRO, JENSEN E YANG, 2019).

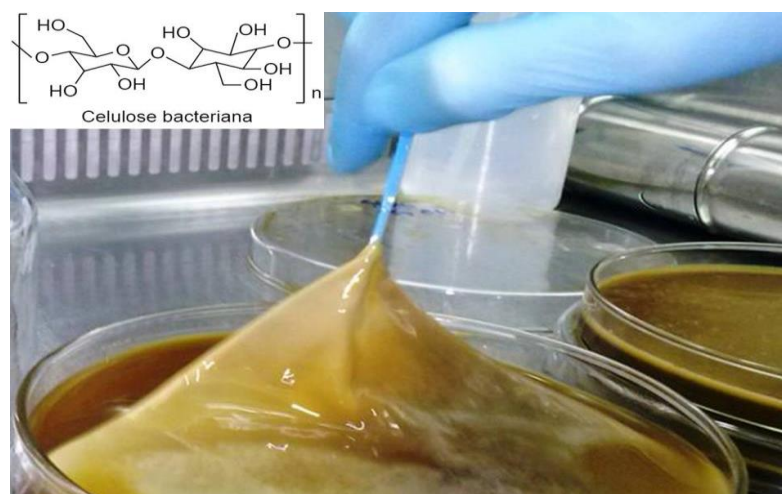
Os polímeros podem ser encontrados mais comumente como excipientes de medicamentos e cosméticos. Sua função é basicamente de garantir a estabilidade física, química e biológica do fármaco, contribuindo para aceitabilidade do paciente e efetividade (MANIRUZZAMAN et al., 2012).

A propriedade mais buscada nos polímeros, para modulação da liberação de fármacos, é a biodegradabilidade. É necessário que seja utilizado um material que exerça sua função e que o organismo possa depois metabolizá-lo para, por fim, excretá-lo, não trazendo prejuízos ao indivíduo (BARBANTI; ZAVAGLIA; DUEK, 2005; GARRISON, MURAWSKI, QUIRINO 2016).

Os materiais de origem biológica ganharam interesse especial na engenharia de células e tecidos devido à sua biocompatibilidade e não toxicidade, entre outras características. Proteínas como colágeno, laminina, fibrina ou fibronectina e polissacarídeos como agarose, alginato, ácido hialurônico, quitosana ou celulose são exemplos de biomateriais de interesse para tais aplicações (NUGROHO et al., 2019).

O polímero utilizado no estudo é a CB, que pode ser obtida através de um processo fermentativo de diversas bactérias, especialmente, daquelas pertencentes ao gênero *Komagataeibacter*, conforme mostrado na Figura 3. São bactérias não patogênicas, Gram-negativas, estritamente aeróbias e que convertem glicose, glicerol e outros substratos em celulose (STEINBÜCHEL; DOI, 2005; SEGUNDO CAVKA et al., 2013). Ela possui alta capacidade de retenção de água, alta cristalinidade, rede de nanofibras, facilidade de moldabilidade, biocompatibilidade e alta resistência. Sua natureza fibrilar e sua elevada pureza têm impulsionado várias pesquisas, principalmente, por não apresentar nenhum tipo de proteína que possa causar alergias (TAKAHASHI et al., 2003; ZABOROWSKA et al., 2010).

Figura 3 – Celulose bacteriana cultivada em meio comercial HS.



Fonte: Embrapa, 2014, adaptada.

A produção de celulose pode ser desenvolvida de três maneiras diferentes: em cultivo estático, em agitador orbital ou culturas agitadas em biorreator. Tradicionalmente, a CB é produzida em cultivo estático que produz uma película de celulose na superfície do meio de cultura. As bactérias são cultivadas em bandejas rasas, permanecendo coberta por um período de 7 a 20 dias, até que a formação de uma película de CB cubra totalmente a superfície do meio de cultura. A película é então removida, purificada para eliminar bactérias remanescentes ou resíduos de meio de cultura e pronta para ser processada de acordo com aplicação desejada (JOZALA et al., 2016).

A CB já vem sendo bastante explorada na área médica e já existem biomateriais comerciais à base de CB, podemos citar: Bioprocess®, XCell®, Biofill® e Dermafill® que são membranas utilizadas como curativos e a Gengiflex® para implantes dentários, porém, esse produto foi removido por demonstrar baixo desempenho (RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015).

A CB é biodegradável na natureza por enzimas microbianas ou fúngicas que podem quebrar as ligações glicosídicas; no entanto, a biodegradação é limitada ou ausente em animais e seres humanos devido à falta de enzimas como a celulase (ULLAH et al., 2016).

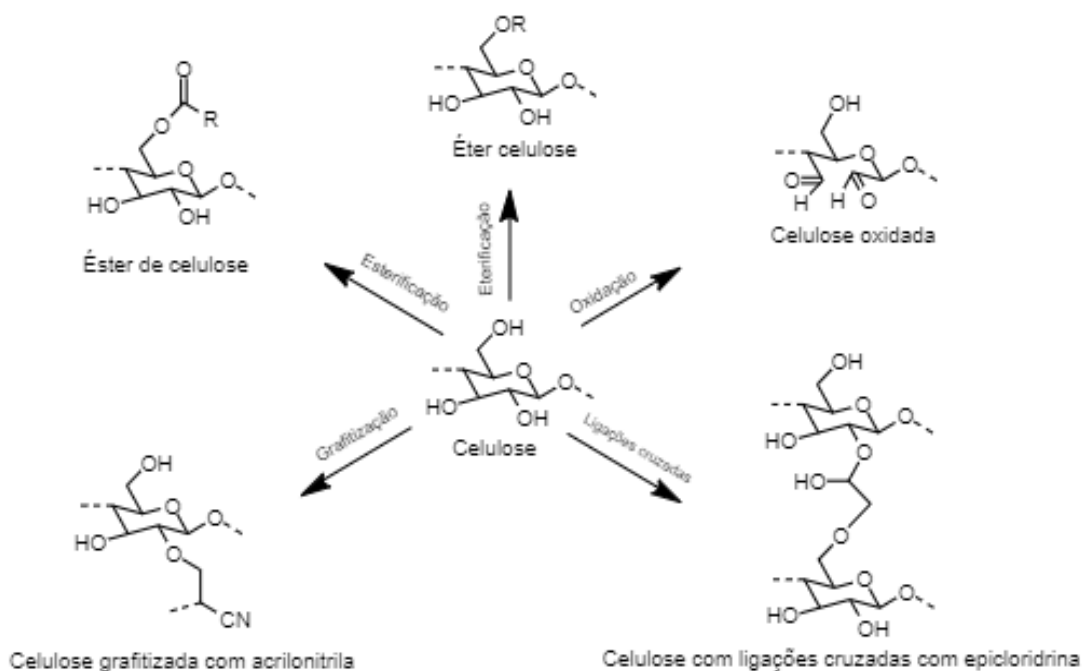
2.3. Oxidação da CB

A celulose é um polissacarídeo linear que possui unidades de D-glucopiranoses ligadas em $\beta(1,4)$. Apresenta em cada unidade básica da estrutura três grupos hidroxila livres que possibilitam modificações químicas (STUMPF et al., 2016).

As reações de derivatização da celulose abrem várias possibilidades de obtenção de

novas funções na estrutura da molécula, alterando suas propriedades. As reações mais comuns são esterificação, eterificação, ligações cruzadas e oxidação (LAVOINE, et. al., 2012) sendo exemplificadas na figura 4.

Figura 4 – Reações de derivatização da celulose



Fonte: Klemm et. al., 1998, adaptada.

A oxidação foi a modificação escolhida neste estudo e, como visto na literatura, é uma reação que produz um composto biodegradável através da inserção de grupos aldeídos na estrutura. O periodato de sódio é o agente oxidante mais utilizado para esse tipo de reação, pois ele se dissocia rapidamente em meio aquoso produzindo íons iodato que por ação eletrostática associa a CB via diéster de iodato cíclico, clivando as ligações entre os dois grupos hidroxila dos carbonos secundários de uma unidade de anidroglicose, resultando no produto final conhecido como 2,3-dialdeído celulose (DAC) (COSERI et al., 2013; SIRVIO et al., 2011).

Outro trabalho desenvolvido por nosso grupo produziu membranas oxidadas para atuar como suporte para imobilização de enzimas. A membrana utilizada foi oxidada com NaIO_4 por 6h a 55°C . A modificação superficial realizada nesse estudo conferiu a CB a propriedade de realizar ligações covalentes entre os grupamentos aldeído inserido na sua estrutura com resíduos de aminoácidos da enzima papaína (VASCONCELOS et al., 2020).

Os aldeídos incorporados na estrutura de CB modificam propriedades de interesse como, por exemplo, a biodegradabilidade. Isso se dá em razão desses grupamentos interagirem

com meio aquoso servindo como uma abertura para iniciar o processo degradativo.

Neste trabalho foram utilizadas membranas submetidas a três diferentes tempos de oxidação com o intuito de determinar se o tempo de reação influencia na inserção de aldeídos na cadeia de celulose. A quantificação do conteúdo de aldeído na CB oxidada é realizada a partir da reação de base de Schiff (Figura A1) entre o aldeído e o cloridrato de hidroxilamina que desencadeia a formação da oxima e de ácido clorídrico, onde, por titulação potenciométrica, o ácido é neutralizado com a utilização de hidróxido de sódio 0,1 mol/L (SIRVIO et al., 2011; LIU et al., 2012; SILLER et al., 2015).

Essa modificação ampliou as oportunidades de uso para CB tanto para a obtenção de um produto biodegradável (DAC), como para a sua aplicação como matriz carreadora em biomateriais visando regeneração óssea.

2.4. Produção de compósitos

O conceito de compósito é definido como uma mistura de componentes de classes de materiais que dão origem a um novo material com propriedades únicas e um material para ser tido como nanocompósito ele deve apresentar pelo menos um dos seus componentes em escala nanométrica (10^{-9}). Os materiais cerâmicos são tipicamente duros, frágeis, de baixa condutividade elétrica e térmica (ALHAMMAD et al., 2015). Eles têm sido bastante utilizados como carreadores de células ósseas por sua capacidade de interagir com tais células. Essa potencialidade favorece na síntese de biomateriais aplicados à formação óssea, desencadeando a osteogênese, ou seja, promovendo a construção de um novo tecido ósseo (FORLINO; MARINI, 2016).

A HA é a cerâmica mais utilizada na produção de biomateriais, pois suas características são compatíveis aos constituintes minerais dos ossos e dentes humanos. Diversos estudos têm demonstrado que a HA facilita na multiplicação dos fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas. Sua compatibilidade com os tecidos ósseos é devido a sua semelhança química superficial e sua capacidade de permutar os íons com meio fisiológico tendendo ao equilíbrio implante-osso (NEJATI; MIRZADEH; SZCZEŚ et al., 2017). Esse material é encontrado na fase mineral do tecido ósseo e é biocompatível, por isso, é de grande interesse para as pesquisas.

Ela pode ser usada em implantes dentários com o objetivo de aumentar ou acelerar sua osseointegração (SADAT-SHOJAI et al., 2013; JIANG et al., 2015). Além de favorecer a síntese de outras formas de fosfatos de cálcio, é possível realizar a troca de íons comumente encontrados na HA com outros íons, por exemplo, o carbonato e elementos da família 2A. Com

base nisso, neste estudo foi produzido uma SrAp fazendo a substituição do cálcio pelo íon metálico Sr 2+.

A engenharia de tecidos visa criar construções com as mesmas propriedades biológicas de um determinado tecido. À medida que os pesquisadores obtêm uma compreensão mais detalhada da composição e do papel das matrizes extracelulares nos tecidos, são desenvolvidos materiais biomiméticos específicos para formação de tecidos sintéticos (HU et al., 2019). Além disso, os estudos investigam materiais que são ótimos para reparar e substituir tecidos danificados para que sejam capazes de iniciar um processo de regeneração natural (AHN et al., 2015).

O foco deste trabalho visou produzir um material que possa mimetizar o tecido ósseo. A natureza biológica do osso consiste em uma mistura de nanocompósitos orgânicos e inorgânicos. São 65% de cristais principalmente de HA e 35% de orgânicos, predominantemente colágeno do tipo I. Sua conformação apresenta nanocristais de HA em forma de placa alinhados às nanofibras de colágeno (ZHANG et al., 2010).

Em geral, matrizes biodegradáveis como colágeno (Col), quitosana (CS), poli (ácido lático) (PLA) e poli (ácido lático-coglicólico) (PLGA) apresentam muitas vantagens. Essas matrizes têm sido amplamente usadas para desenvolver estruturas 3D por várias técnicas de fabricação. Geralmente, o desempenho mecânico de arcabouços compostos preparados por materiais naturais e sintéticos é maior do que o preparado por um único material (ZOU et al., 2019).

Atualmente, a produção de biomateriais se baseia na síntese de misturas de classes de materiais, conhecidos como híbridos apresentando em sua estrutura duas fases distintas (orgânica e inorgânica), com o intuito de complementar as propriedades e gerar um novo produto. Eles combinam as vantagens de polímeros orgânicos, fáceis de processar, baixa densidade e alta flexibilidade com materiais inorgânicos de alta resistência mecânica, boa resistência química e estabilidade térmica (KARATAS et al., 2009; GAO et al., 2017).

Os híbridos obtidos a partir da interação da CB com a HA mostraram-se promissores para uso em engenharia de tecidos. A CB possui propriedades que favorecem a formação de HA. Este material possui um alto número de grupos hidroxila em sua superfície. Como estes são grupos bastante reativos, isso possibilita a inserção de novos componentes na estrutura da CB (UL-ISLAM et al., 2012). A HA, por sua vez, contribuirá para a produção de um material com excelentes propriedades, sendo possível sua aplicação na engenharia de tecidos devido à suas propriedades osteocondutoras (MURUGAN; RAMAKRISHNA, 2004; NIAMSAP et al., 2019). Essa combinação expande o uso de CB na área de biomateriais.

Muitos trabalhos demonstraram o potencial da interação CB/HA (Figura 5) no reparo ósseo. Testes que avaliaram a regeneração óssea em defeitos de calvária em ratos mostraram a presença de uma nova formação óssea a partir do osso existente e também dentro dos arcabouços CB/HA, comprovando sua funcionalidade no reparo do tecido ósseo (AHN et al., 2015). Foi investigada a viabilidade da CB/HA no crescimento dos osteoblastos, na atividade da fosfatase alcalina, na formação de nódulos ósseos comparando com a CB pura e constatou que o compósito teve um desempenho mais significativo na osteocondutividade (RAMANI; SASTRY, et al., 2014).

Figura 5 – Híbrido de celulose bacteriana e hidroxiapatita (CB/HA)



Fonte: Elaborada pela autora

Outro estudo, que desenvolveu o híbrido (CB/HA) a partir da rota por ciclos de imersão em soluções de CaCl_2 e Na_2HPO_4 , avaliou as propriedades biológicas de compósitos em defeitos ósseos não críticos em tíbias de ratos e concluíram que o composto em 1 semana foi biocompatível e eficaz no reparo ósseo (HONG et al., 2006). Além de apresentar características favoráveis a proliferação e diferenciação de células ósseas (ERENO, 2012).

Na literatura também foi encontrado uma variedade de associações de materiais partindo da combinação CB/HA: com gelatina obtendo maior estabilidade térmica e maior resistência no material produzido (Ran et al., 2017); com óxido de grafeno demonstrando atividade osteogênica e contribuindo para adesão celular (RAMANI; SASTRY, 2014); com carboximetilcelulose (CMC) comprovando que esse componente garante a inclusão de HA (GRANDE et al., 2009); com peptídeos de crescimento que mostraram um aumento na velocidade da diferenciação, na atividade dos osteoblastos e com uma alta porcentagem de formação óssea (PIGOSSI et al., 2015).

As várias pesquisas já citadas demonstraram que, além do compósito CB/HA ser

um material promissor para uso no reparo ósseo, ele permite a interação com outros tipos de materiais para especificar melhor seu uso para determinadas aplicações, visando uma ampliação do uso da combinação CB/HA. O presente trabalho teve como inovação a introdução do íon metálico Sr 2+ para melhorar as características originais do compósito e torná-lo ainda mais ativo nos mecanismos ósseos.

2.5. A importância do uso do metal estrôncio

O sucesso de um implante está ligado a alguns fatores biológicos do paciente e físicos do material implantado. Quando há a rejeição do implante por parte da região receptora pode ser desencadeado o que chamamos de afrouxamento asséptico que é um termo definido para falhas no implante. Essa rejeição é causada por vários distúrbios ósseos como, por exemplo, a osteólise, na qual, o sistema imunológico tenta reabsorver osso mais intensamente ao redor do implante, fragilizando o local e impossibilitando a permanência do dispositivo implantado (MBALAVIELE et al., 2017).

Esses distúrbios ósseos estão associados a agressão que o material implantado provoca no indivíduo. A falta de parâmetros de qualidade química ou biológica para implantes tem prejudicado aqueles que necessitam de um implante para sustentar e garantir uma restauração óssea, além disso, podendo até agravar a situação do paciente (HOU et al., 2018).

A interação das partículas de desgaste do implante com o organismo desencadeia uma reação inflamatória no local, induzindo uma resposta por parte dos osteoclastos, na qual, estes são ativados por sinalização celular para executar a reabsorção óssea da região. Outros fatores como osteoporose ou estresse podem agravar a situação e impedir que a osseointegração aconteça de forma adequada (CAWTHRAY, WASAN, WASAN, 2017).

Há estudos que apontam o uso de bifosfonatos como uma alternativa para controlar o avanço da reação inflamatória, pois esse composto atua na inibição da função dos osteoclastos induzindo a morte celular dessas células. Benefícios como a melhora da fixação mecânica do implante têm sido relatados nesses estudos (TZSCHENTKE, 2019).

Outro fármaco citado na literatura como possível aliado ao sucesso da osseointegração do implante é o ranelato de estrôncio. Já existe um número significativo de trabalhos desenvolvidos que confirmam a ação desse fármaco como inibidor de reabsorção óssea e indutor de formação óssea de qualidade, atuando na interação das duas células responsáveis pela remodelação óssea, osteoclastos e osteoblastos (MARIE et al., 2011).

Comparado ao uso dos bifosfonatos, o ranelato de estrôncio foi tido como mais benéfico e adequado. A administração dos bifosfonatos foi reavaliada a partir de alguns

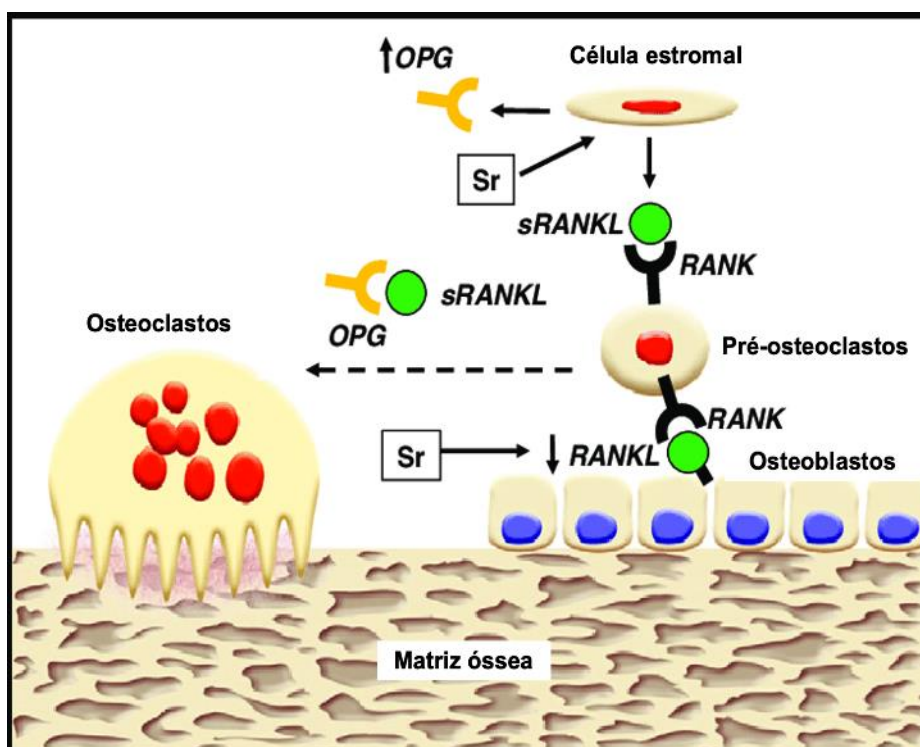
estudos que relataram um efeito negativo do uso, pois esse medicamento atuava como inibidor de reabsorção óssea, porém, foi constatado que essa reação impedia a renovação do osso velho e que esse osso permanecia na região, acarretando em outro problema conhecido como osteonecrose (YAROM et al., 2018; SILVA et al., 2017).

Diante disso, muitas pesquisas se dedicaram a entender o funcionamento do ranelato de estrôncio. É um composto químico denominado 5-(bis[carboximetil]amino)-2-carboxi-4-ciano-3-tiofenacético, que possui como componente ativo o metal estrôncio. O íon metálico Sr 2+ tem importante ação na regeneração óssea pela sua similaridade química com o cálcio por pertencer a família dos alcalinos terrosos (REGINSTER et al., 2002). É um metal que apresenta cátions divalentes em solução, responsáveis pela produção de efeitos positivos sobre a qualidade e resistência da massa óssea. Seu mecanismo de ação está ligado à regulação da remodelação óssea (DEEKS, DHILLON, 2010)).

A figura 6 mostra o mecanismo de interação do Sr com os osteoblastos e osteoclastos. Esse íon metálico interage com osteoclastos (células que atuam na remoção do tecido ósseo velho) por dois mecanismos principais: a regulação da osteoclastogênese e a maturação dos osteoclastos, impedindo que o receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANK), expresso por células precursoras de osteoclastos e responsável pela diferenciação dos osteoclastos, se ligue ao receptor ligante fator nuclear kappa B (RANKL), presente na membrana citoplasmática dos osteoblastos. Os pré-osteoblastos e osteoblastos (células formadoras do tecido ósseo) expressam o ligante RANKL que por sinalização intracelular costumam se ligar ao RANK, resultando na reabsorção óssea e acionamento dos osteoclastos, entretanto, esse mecanismo pode ser interrompido com a ligação da proteína OPG com o receptor RANKL, que é um competidor natural de RANK, inibindo a osteoclastogênese (MARIE et al., 2010).

O estrôncio favorece o aumento da produção e expressão de OPG pelos osteoblastos/células estromais e a redução da expressão de RANKL, inibindo a reabsorção óssea e favorecendo a formação óssea. Ele também atua na osteoblastogênese (mecanismo de ativação dos osteoblastos) com ativação dos receptores sensíveis ao cálcio (CaR) extracelular que induz a expressão de quinases na replicação e proliferação de osteoblastos, inibindo a apoptose dessas células (STUSS et al., 2016). Esses receptores estão presentes na membrana de osteoclastos, osteoblastos e osteócitos.

Figura 6 – Mecanismo de interação do estrôncio com as células ósseas



Fonte: Saidak; Marie, 2012

A importância do estrôncio está diretamente ligada a sua semelhança química com o cálcio que permite sua incorporação na fase mineral do osso que pode ocorrer por dois mecanismos: troca de superfície ou substituição iônica (QUERIDO et al., 2016). Sua introdução na combinação entre CB e HA pode resultar num aumento da bioatividade e da biocompatibilidade do produto final.

Refletindo numa maior aplicabilidade do biomaterial produzido, ocasionando mais benefícios se administrado localmente, como é o caso do compósito proposto no presente trabalho, onde se propõe a liberação do estrôncio somente na região do defeito ósseo, pois em alguns casos de administração sistêmica pode causar efeitos deletérios, como por exemplo, tromboembolia venosa (GORBET, SEFTON, 2004).

Os avanços relacionados ao trabalho anterior do nosso grupo (LUZ et al., 2018) que antecedeu essa pesquisa se deram pela produção de materiais híbridos à base de CB e/ou HA, dopados com íons estrôncio, usando duas diferentes rotas de síntese. A primeira rota consiste na formação de um material híbrido CB/CaHA, onde a HA é formada por fosfatos de cálcio (CaHA), seguido por adsorção em batelada de íons Sr, o que forma o híbrido (CB/CaHA/Sr). Na segunda rota de síntese o híbrido é composto de CB e apatita de estrôncio (CB/SrAp), através de ciclos de imersão da CB em solução de fosfato de sódio dibásico e solução de cloreto de estrôncio.

O resultado mais relevante foi o perfil de liberação de estrôncio apresentado pelos materiais, pois demonstra que os materiais produzidos se enquadram na categoria de sistemas de liberação de estrôncio. O híbrido CB/CaHA/Sr liberou 6,77 mg/g de Sr após 7 dias e 21 mg/g após 120 dias, conforme a figura 7. Essa eluição mais rápida provavelmente indica que os íons Sr foram adsorvidos no CB/CaHA/Sr por mecanismos de fissorção.

Os resultados indicaram que a rota de síntese para a produção do híbrido CB/SrAp promoveu não apenas uma maior incorporação de Sr na estrutura CB, mas também produziu um material com um perfil de liberação de Sr mais lento (retendo cerca de 94% de Sr após 120 dias). Essa eluição mais lenta provavelmente indica que os íons Sr foram adsorvidos no CB/SrAp por mecanismos de quimissorção. Esses recursos tornam o CB/SrAp um material potencial para uso em aplicações em que a liberação de Sr no local do implante deve ser controlada.

Os mecanismos de liberação de drogas devem alcançar a melhor eficácia terapêutica, diminuição da toxicidade e aumento do tempo de ação, é importante criar sistemas com um perfil de liberação lenta (entrega controlada) de compostos ativos, o que garante uma administração mais segura e menor dosagem do medicamento. Entretanto, para combater infecções ou inflamações, algumas vezes é necessária uma alta dose inicial, e uma grande quantidade de medicamento deve ser liberada rapidamente no início do tratamento (VALLET-REGÍ, BALAS, ARCOS, 2007).

Luz et al., 2018, concluíram seu trabalho com duas rotas de síntese de dois sistemas de liberação de Sr, seus resultados deram suporte para a continuidade da pesquisa com a busca pela degradabilidade da matriz polimérica, utilizada em seus produtos, e testar sua aplicabilidade em regeneração óssea guiada. Logo, sendo base para esta pesquisa de doutorado.

3. OBJETIVO GERAL

Produzir biomateriais biodegradáveis, biocompatíveis e bioativos à base de celulose bacteriana e apatita de estrôncio, visando uma futura aplicação em ROG.

3.1. Objetivos Específicos

- Determinar a influência do grau de oxidação na degradabilidade do biomaterial CB/HA em tampão fosfato salino (PBS);
- Determinar o perfil de liberação de Sr em híbridos formados a partir de membranas de CB oxidadas/HA/Sr;
- Determinar a bioatividade das membranas híbridas a base de CB oxidada em Fluido Simulado Corpóreo (SBF);
- Determinar a biocompatibilidade das membranas híbridas a base de CB oxidada através de teste subcutâneo em camundongos.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, R.A et al. Bases clínicas e biológicas da regeneração óssea guiada (ROG) associada a barreiras ou membranas. **RBP**, v.11, n.43, p.251-257, 2004.
- AHN, Sung-Jun; SHIN, Young Min; KIM, Se Eun; JEONG, Sung In; JEONG, Jin-Oh; PARK, Jong-Seok; GWON, Hui-Jeong; SEO, Da Eun; NHO, Young-Chang; KANG, Seong Soo. Characterization of hydroxyapatite-coated bacterial cellulose scaffold for bone tissue engineering. **Biotechnology And Bioprocess Engineering**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 948-955, set. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12257-015-0176-z>.
- ALHAMMAD, M.S. Nanostructure hydroxyapatite based ceramics by sol gel method. **Journal Of Alloys And Compounds**, [S.L.], v. 661, p. 251-256, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jallcom.2015.11.045>.
- AL-MAAWI, Sarah; ORLOWSKA, Anna; SADER, Robert; KIRKPATRICK, C. James; GHANAATI, Shahram. In vivo cellular reactions to different biomaterials—Physiological and pathological aspects and their consequences. **Seminars In Immunology**, [S.L.], v. 29, p. 49-61, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2017.06.001>.
- ANDERSSON, R., HOFFMAN, J., NAHAR, N., SCHOLANDER, E. An N.M.R. study of the products of oxidation of cellulose and (1,4)- β -D-xylan with sodium nitrite in orthophosphoric acid **Carbohydrate Research**. 206, 340-34, 1990.
- AVCI, Muhammed; YILMAZ, Bengi; TEZCANER, Aysen; EVIS, Zafer. Strontium doped hydroxyapatite biomimetic coatings on Ti6Al4V plates. **Ceramics International**, [S.L.], v. 43, n. 12, p. 9431-9436, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.04.117>.
- BARBANTI, Samuel H.; ZAVAGLIA, Cecília A. C.; DUEK, Eliana A. R.. Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. **Polímeros**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 13-21, mar. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-14282005000100006>.
- BARUD, H. S.; ASSUNÇÃO, R. M. N.; MARTINES, M. A. U.; DEXPERT-GHYS, J.; MARQUES, R. F. C.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L.. Bacterial cellulose–silica organic–inorganic hybrids. **Journal Of Sol-Gel Science And Technology**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 363-367, 25 dez. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10971-007-1669-9>.
- BHATNAGAR, V. M.. Infrared spectrum of strontium hydroxyapatite. **Experientia**, [S.L.], v. 23, n. 9, p. 697-699, set. 1967. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf02154118>.
- BIELECKI, S et al. Bacterial cellulose: polysaccharides I, polysaccharides from prokaryotes, Wiley, **Weinham**, 5(2001), pp. 37-46.
- BIOCARE, Nobel. **Cursos de manuseamento de tecidos duros e moles**. 2017. Disponível em: <https://www.nobelbiocare.com/pt/pt/education/dental-implantology-courses/hard-soft-tissue-management-courses.html>. Acesso em: 12 mar. 2020. Embrapa, 2014, adaptada

BOHNER, M. & LEMAITRE, J. Can bioactivity be tested in vitro with SBF solution?

Biomaterial. 30, 2175-2179, 2009. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.008>

BOSE, Susmita; ROY, Mangal; BANDYOPADHYAY, Amit. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. **Trends In Biotechnology**, [s.l.], v. 30, n. 10, p. 546-554, out. 2012.

Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.07.005>.

BOTTINO, Marco C.; THOMAS, Vinoy; SCHMIDT, Gudrun; VOHRA, Yogesh K.; CHU, Tien-min Gabriel; KOWOLIK, Michael J.; JANOWSKI, Gregg M.. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—A materials

perspective. **Dental Materials**, [s.l.], v. 28, n. 7, p. 703-721, jul. 2012. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2012.04.022>.

BRIGGS, D. Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy C. D. Wanger, W. M. Riggs, L. E. Davis, J. F. Moulder and G. E. Muilenberg Perkin-Elmer Corp., **Physical Electronics**

Division. 190, 1981. <https://doi.org/10.1002/sia.740030412>

CACICEDO, Maximiliano L.; LEÓN, Ignacio E.; GONZALEZ, Jimena S.; PORTO, Luismar M.; ALVAREZ, Vera A.; CASTRO, Guillermo R.. Modified bacterial cellulose scaffolds for localized doxorubicin release in human colorectal HT-29 cells. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 140, p. 421-429, abr. 2016. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.01.007>.

CALVINI P, GORASSINI A, LUCIANO G, FRANCESCHI E. FTIR and WAXS analysis of periodate oxycellulose: Evidence for a cluster mechanism of oxidation. **Vibrational Spectroscopy**. 40,177-183, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.08.004>

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.08.004>

CALVINI, Paolo; GORASSINI, Andrea; LUCIANO, Giorgio; FRANCESCHI, Enrico. FTIR and WAXS analysis of periodate oxycellulose: evidence for a cluster mechanism of

oxidation. **Vibrational Spectroscopy**, [S.L.], v. 40, n. 2, p. 177-183, mar. 2006. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.08.004>.

CAVKA, Adnan; GUO, Xiang; TANG, Shui-Jia; WINESTRAND, Sandra; JÖNSSON, Leif J; HONG, Feng. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber

sludge. **Biotechnology For Biofuels**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 25-0, 2013. Springer Science and

Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1754-6834-6-25>.

CAWTHRAY, Jacqueline; WASAN, Ellen; WASAN, Kishor. Bone-seeking agents for the treatment of bone disorders. **Drug Delivery And Translational Research**, [S.L.], v. 7, n. 4,

p. 466-481, 6 jun. 2017. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s13346-017-0394-3>.

CELULOSE. **É possível modificar a celulose?** 2016. Disponível em:

<https://www.celuloseonline.com.br/e-possivel-modificar-molecula-de-celulose/>. Acesso em: 12 mar. 2020.

COSERI, Sergiu; BILIUTA, Gabriela; SIMIONESCU, Bogdan C.; STANA-KLEINSCHEK, Karin; RIBITSCH, Volker; HARABAGIU, Valeria. Oxidized cellulose—Survey of the most

recent achievements. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 93, n. 1, p. 207-215, mar. 2013.

Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.086>

CZARNECKA, B et al. The use of mineral trioxide aggregate in endodontics. **Den Med Prob.** 45, p.5-11, 2008.

DEEKS, Emma D. et al. Strontium Ranelate. *Drugs*, **Springer Science**,. 70, n. 6, p.733-759, abr. 2010.

DOLININA, E.s.; VLASENKOVA, M.I.; PARFENYUK, E.V.. Effect of trehalose on structural state of bovine serum albumin adsorbed onto mesoporous silica and the protein release kinetics in vitro. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 527, p. 101-108, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.05.014>.

DUARTE, Eden B.; CHAGAS, Bruna S. das; ANDRADE, Fábida K.; BRÍGIDA, Ana I. S.; BORGES, Maria F.; MUNIZ, Celli R.; SOUZA FILHO, Men de Sá M.; MORAIS, João P. S.; FEITOSA, Judith P. A.; ROSA, Morsyleide F.. Production of hydroxyapatite–bacterial cellulose nanocomposites from agroindustrial wastes. **Cellulose**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 3177-3187, 21 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-015-0734-8>.

DUMITRIU, Emil; HULEA, Vasile; FECHETE, Ioana; AUROUX, Aline; LACAZE, Jean-François; GUIMON, Claude. The aldol condensation of lower aldehydes over MFI zeolites with different acidic properties. **Microporous And Mesoporous Materials**, [S.L.], v. 43, n. 3, p. 341-359, maio 2001. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1387-1811\(01\)00265-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1387-1811(01)00265-7).

EL-SAID, A. S.; HELLER, R.; MEISSL, W.; RITTER, R.; FACSKO, S.; LEMELL, C.; SOLLEDER, B.; GEBESHUBER, I. C.; BETZ, G.; TOULEMONDE, M.. Creation of Nanohillocks onCaF₂Surfaces by Single Slow Highly Charged Ions. **Physical Review Letters**, [S.L.], v. 100, n. 23, 10 jun. 2008. American Physical Society (APS). <http://dx.doi.org/10.1103/physrevlett.100.237601>.

EMBRAPA. **Bactérias produzem biomaterial nanotecnológico**. 2014. Disponível em: embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2329512/bacterias-produzem-biomaterial-nanotecnologico. Acesso em: 13 mar. 2020.

FORLINO, Antonella; MARINI, Joan C. Osteogenesis imperfecta. **The Lancet**, [S.L.], v. 387, n. 10028, p. 1657-1671, abr. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00728-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00728-x).

FOURNIER, E.; PASSIRANI, C.; MONTERO-MENEI, C.N.; BENOIT, J.P.. Biocompatibility of implantable synthetic polymeric drug carriers: focus on brain biocompatibility. **Biomaterials**, [S.L.], v. 24, n. 19, p. 3311-3331, ago. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00161-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00161-3).

GAO REINIATI, I., HRYMAK, A. N. & MARGARITIS, A. Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. **Crit. Rev. Biotechnol.** v. 37, p. 510–524, 2017.

GARRISON, Thomas; MURAWSKI, Amanda; QUIRINO, Rafael. Bio-Based Polymers with Potential for Biodegradability. **Polymers**, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 262-0, 14 jul. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/polym8070262>.

- GOLDSTEIN, J et al. Backscattered Electrons. **Scanning Electron Microscopy And X-ray. Microanalysis**, p.15-28, 2017.
- GORBET, Maud B.; SEFTON, Michael V. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. **Biomaterials**, v. 25, n. 26, p.5681-5703, nov. 2004.
- GRANDE, C. J. et al. Nanocomposites of bacterial cellulose/hydroxyapatite for biomedical applications. **Acta Biomaterialia**, v. 5, p.1605-1615, 2009.
- HABRAKEN, Wouter; HABIBOVIC, Pamela; EPPLER, Matthias; BOHNER, Marc. Calcium phosphates in biomedical applications: materials for the future?. **Materials Today**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 69-87, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.10.008>.
- HAMMERLE, Christoph H. F.; SAILER, Hermann F.; WEBER, Franz E.. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. **Clinical Oral Implants Research**, [s.l.], v. 14, n. 5, p. 556-568, out. 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1600-0501.2003.00921.x>.
- HAUGEN, Håvard Jostein; LYGSTADAAS, Ståle Petter; ROSSI, Filippo; PERALE, Giuseppe. Bone grafts: which is the ideal biomaterial?. **Journal Of Clinical Periodontology**, [S.L.], v. 46, p. 92-102, jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.13058>.
- HELENIUS, Gisela; BÄCKDAHL, Henrik; BODIN, Aase; NANNMARK, Ulf; GATENHOLM, Paul; RISBERG, Bo. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, [S.L.], v. 76, n. 2, p. 431-438, 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.30570>.
- HESTRIN, S., SCHRAMM, M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochemical Journal**. 58,345-352, 1954. <http://dx.doi.org/10.1042/bj0580345>.
- HONG, L.; WANG, Y.L.; JIA, S.R.; HUANG, Y.; GAO, C.; WAN, Y.Z.. Hydroxyapatite/bacterial cellulose composites synthesized via a biomimetic route. **Materials Letters**, [S.L.], v. 60, n. 13-14, p. 1710-1713, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2005.12.004>.
- HONG, L.; WANG., Y. L.; JIA, S. R.; HUANG, Y.; GAO, C.; WAN, Y. Z. Hydroxyapatite/bacterial cellulose composites synthesized via a biomimetic route. **Materials Letters**, v. 60, p. 1710-1713, 2006.
- HO-SHUI-LING, Antalya; BOLANDER, Johanna; RUSTOM, Laurence E.; JOHNSON, Amy Wagoner; LUYTEN, Frank P.; PICART, Catherine. Bone regeneration strategies: engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. **Biomaterials**, [S.L.], v. 180, p. 143-162, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.07.017>.
- HOU, Y. Development and biocompatibility evaluation of biodegradable bacterial cellulose as a novel peripheral nerve scaffold. **J Biom Mat Res Part A**. 106,1288-1298, 2018. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.36330>

- HU, Yang; ZHU, Yongjun; ZHOU, Xin; RUAN, Changshun; PAN, Haobo; CATCHMARK, Jeffrey M.. Bioabsorbable cellulose composites prepared by an improved mineral-binding process for bone defect repair. **Journal Of Materials Chemistry B**, [S.L.], v. 4, n. 7, p. 1235-1246, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c5tb02091c>.
- HU, Yang; CATCHMARK, Jeffrey M.; VOGLER, Erwin A.. Factors Impacting the Formation of Sphere-Like Bacterial Cellulose Particles and Their Biocompatibility for Human Osteoblast Growth. *Biomacromolecules*, [S.L.], v. 14, n. 10, p. 3444-3452, 25 set. 2013. **American Chemical Society (ACS)**. <http://dx.doi.org/10.1021/bm400744a>.
- HUTCHENS, S. A., BENSON, R. S., NEILL, EVANS, B. R., NEILL, H. M. O., RAWN, C. J. A resorbable calcium-deficient hydroxyapatite hydrogel composite for osseous regeneration. **Cellulose**. 16,887-989, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-009-9300-6>.
- IDSTRÖM, A., SCHANTZ, S., SUNDBERG, J., CHMELKA, B. F., GATENHOLM, P. NORDSTIERNA, L. ¹³C NMR assignments of regenerated cellulose from solid-state 2D NMR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers**. 151,480-487, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.107>.
- ISOGAI, Akira; KATO, Yumiko. Preparation of polyuronic acid from cellulose by tempo-mediated oxidation. **Cellulose**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 153-164, 1998. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1009208603673>
- JIANG, Hua; WU, Yu; HAN, Binbin; ZHANG, Yang. Effect of oxidation time on the properties of cellulose nanocrystals from hybrid poplar residues using the ammonium persulfate. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 174, p. 291-298, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.080>.
- JOZALA, A.F.; DE LENCASTRE-NOVAES, L.C.; LOPES, A.M.; SANTOS-EBINUMA, V.D.; MAZZOLA, P.G.; PESSOA, A.; GROTTTO, D.; GERENUTTI, M.; CHAUD, M.V. Bacterial nanocellulose production and application: a 10-year overview, **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v. 100, p. 2063–2072, 2016.
- KARATAŞ, S. et al., Preparation and characterization of phosphine oxide containing organo silica hybrid coatings by photopolymerization and sol-gel process. **Progress inorganic Coatings**, v. 65, p. 49-55, 2009.
- KESHK, S., RAMADAN, A. M., BONDOCK, S. Physicochemical characterization of novel Schiff bases derived from developed bacterial cellulose 2,3-dialdehyde. **Carbohydrate Polymers**. 127,246-251, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.038>.
- KESHK, S.; SAMESHIMA, K.. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. **Enzyme And Microbial Technology**, [S.L.], v. 40, n. 1, p. 4-8, dez. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.07.037>.
- KLEMM, D. et al. **Comprehensive Cellulose Chemistry**. 1 ed., Wiley-VCH, Weinheim, Vol.2 Functionalization of Cellulose, 221-235, 1998.
- KRONENTHAL, R. L. Biodegradable Polymers in Medicine and Surgery. **Polymers Medicine and Surgery**. 119-137, 1975. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-7744-3_9.

KRONENTHAL, Richard L.. Biodegradable Polymers in Medicine and Surgery. **Polymers In Medicine And Surgery**, [S.L.], p. 119-137, 1975. Springer US.

http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-7744-3_9.

LAVOINE, Nathalie; DESLOGES, Isabelle; DUFRESNE, Alain; BRAS, Julien.

Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: a review. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 90, n. 2, p. 735-764, out. 2012. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.026>.

LEMKE, C. H., DONG, R. Y., MICHAL, C. A., HAMAD, W. Y. New insights into nanocrystalline cellulose structure and morphology based on solid-state NMR. *Cellulose*. 19,1619-1629, 2012. **Springer Science and Business Media LLC**. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-012-9759-4>.

LI, H., WU, B., MU, C., LIN, W. Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**. 84,881-886, 2011.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.026>.

LI, Hongli; WU, Bo; MU, Changdao; LIN, Wei. Concomitant degradation in periodate oxidation of carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 84, n. 3, p. 881-886, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.026>.

LI, J., WAN, Y., LI, L. F., LIANG, H., WANG, J. Preparation and characterization of 2,3-dialdehyde bacterial cellulose for potential biodegradable tissue engineering scaffolds.

Material Science Engineering. 29,1635-1642, 2009.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2009.01.006>.

LI, Yunfeng; LI, Qing; ZHU, Songsong; LUO, En; LI, Jihua; FENG, Ge; LIAO, Yunmao; HU, Jing. The effect of strontium-substituted hydroxyapatite coating on implant fixation in ovariectomized rats. **Biomaterials**, [S.L.], v. 31, n. 34, p. 9006-9014, dez. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.112>.

LIU, Xinliang; WANG, Lijun; SONG, Xueping; SONG, Hainong; ZHAO, Joe R; WANG, Shuangfei. A kinetic model for oxidative degradation of bagasse pulp fiber by sodium periodate. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 90, n. 1, p. 218-223, set. 2012. Elsevier BV.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.027>.

LUZ, Erika Patricia Chagas Gomes; BORGES, Maria de Fátima; ANDRADE, Fabia Karine; ROSA, Morsyleide de Freitas; INFANTES-MOLINA, Antonia; RODRÍGUEZ-CASTELLÓN, Enrique; VIEIRA, Rodrigo Silveira. Strontium delivery systems based on bacterial cellulose and hydroxyapatite for guided bone regeneration. **Cellulose**, [S.L.], v. 25,

n. 11, p. 6661-6679, 29 ago. 2018. Springer Science and Business Media LLC.

<http://dx.doi.org/10.1007/s10570-018-2008-8>.

LUZ, Erika Patricia Chagas Gomes; CHAVES, Paulo Hiago Silva; VIEIRA, Lidia de Araújo Pinto; RIBEIRO, Sádwa Fernandes; BORGES, Maria de Fátima; ANDRADE, Fabia Karine; MUNIZ, Celli Rodrigues; INFANTES-MOLINA, Antonia; RODRÍGUEZ-CASTELLÓN, Enrique; ROSA, Morsyleide de Freitas. In vitro degradability and bioactivity of oxidized bacterial cellulose-hydroxyapatite composites. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 237, p.

116174-0, jun. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116174>.

MAHAPATRO, Anil; JENSEN, Kayla; YANG, Shang-You. Effect of polymer coating characteristics on the biodegradation and biocompatibility behavior of magnesium alloy. **Polymer-Plastics Technology And Materials**, [S.L.], v. 59, n. 3, p. 301-310, 3 jul. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/25740881.2019.1634728>.

MANIRUZZAMAN, Mohammed; BOATENG, Joshua S.; SNOWDEN, Martin J.; DOUROUMIS, Dennis. A Review of Hot-Melt Extrusion: process technology to pharmaceutical products. **Isrn Pharmaceutics**, [S.L.], v. 2012, p. 1-9, 27 dez. 2012. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/436763>.

MARIE, P. J.; FELSEMBERG, D.; BRANDI, M. L. How strontium ranelate, via opposite effects on bone resorption and formation, prevents osteoporosis. **Osteoporosis International**, v. 22, n. 6, p. 1659-67, 2011.

MBALAVIELE, Gabriel; NOVACK, Deborah V.; SCHETT, Georg; TEITELBAUM, Steven L.. Inflammatory osteolysis: a conspiracy against bone. **Journal Of Clinical Investigation**, [S.L.], v. 127, n. 6, p. 2030-2039, 1 jun. 2017. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci93356>.

MELNIKOV, Petr; GONÇALVES, Renato V.. Preparation and characterization of strontium hydroxyapatite Sr₁₀(PO₄)₆(OH)₂·10H₂O suitable for orthopedic applications. **Materials Letters**, [S.L.], v. 150, p. 89-92, jul. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2015.02.110>.

MIRON, Richard J.; BOSSHARDT, Dieter D.. Multinucleated Giant Cells: good guys or bad guys?. **Tissue Engineering Part B: Reviews**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 53-65, fev. 2018. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/ten.teb.2017.0242>.

MU, Changdao; GUO, Jimin; LI, Xinying; LIN, Wei; LI, Defu. Preparation and properties of dialdehyde carboxymethyl cellulose crosslinked gelatin edible films. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 22-29, maio 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.09.005>.

MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Bioresorbable composite bone paste using polysaccharide based nano hydroxyapatite. **Biomaterials**, v. 25, p.3829-3835, 2004.

NEJATI, E.; MIRZADEH, H.; ZANDI, M. Synthesis and characterization of nanohydroxyapatite rods/poly(L-lactide acid) composite scaffolds for bone tissue engineering, **Compósitos**. v. 39, p.1589–96, 2008.

NIAMSAP, T.; LAM, N. T.; SUKYAI, P. Production of hydroxyapatite-bacterial nanocellulose scaffold with assist of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers** 205, 159–166, 2019.

NUDELMAN, Fabio; SOMMERDIJK, Nico A. J. M.. Biomineralization as an Inspiration for Materials Chemistry. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.L.], v. 51, n. 27, p. 6582-6596, 25 maio 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201106715>

NUGROHO, R. W. N.; HARJUMÄKI, R.; ZHANG, X.; LOU, Y-R.; YLIPERTTUL, M.; VALLE-DELGADO, J. J.; ÖSTERBERG, M. Quantifying the interactions between biomimetic biomaterials – collagen I, collagen IV, laminin 521 and cellulose nanofibrils – by

colloidal probeMicroscopy. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** v. 173, p. 571–580, 2019.

NYSKA, Abraham; SCHIFFENBAUER, Yael S.; BRAMI, Catherine T.; MARONPOT, Robert R.; RAMOT, Yuval. Histopathology of biodegradable polymers: challenges in interpretation and the use of a novel compact mri for biocompatibility evaluation. **Polymers For Advanced Technologies**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 461-467, 7 jan. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/pat.3238>.

ONUKI, Yoshinori; BHARDWAJ, Upkar; PAPADIMITRAKOPOULOS, Fotios; BURGESS, Diane J.. A Review of the Biocompatibility of Implantable Devices: current challenges to overcome foreign body response. **Journal Of Diabetes Science And Technology**, [S.L.], v. 2, n. 6, p. 1003-1015, nov. 2008. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/193229680800200610>.

ORTODONTIA, Tijuca. **Doença Periodontal e seu tratamento**. 2016. Disponível em: <https://www.dentistatijuca.com.br/noticias/doenca-periodontal-e-seu-tratamento>. Acesso em: 12 mar. 2020.

PEDROSA, Marlus da Silva; FONTENELE, Maria Natally Belchior; OLIVEIRA, Luiz Gustavo Fernandes Lima; AMARAL, Wenderson da Silva do; MOURA, Carmem Dolores Vilarinho Soares de; SILVA, Cláudio Heliomar Vicente da; LOPES, Livia Duarte Santos. Membranes for guided bone regeneration in dentistry: a review of human randomized blinded clinical trials. : a review of human randomized blinded clinical trials. **Revista Brasileira de Odontologia**, [s.l.], v. 75, 5 nov. 2018. Associação Brasileira de Odontologia Rio de Janeiro (ABORJ). <http://dx.doi.org/10.18363/rbo.v75.2018.e1114>.

PIASECKA-ZELGA, J et al. An in vivo biocompatibility study of surgical meshes made from bacterial cellulose modified with chitosan. **Int J Biol Macr**, 116 (2018), p.1119-1127. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05>

PICHETH, Guilherme Fadel; PIRICH, Cleverton Luiz; SIERAKOWSKI, Maria Rita; WOHL, Marco Aurélio; SAKAKIBARA, Caroline Novak; SOUZA, Clayton Fernandes de; MARTIN, Andressa Amado; SILVA, Renata da; FREITAS, Rilton Alves de. Bacterial cellulose in biomedical applications: a review. : A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 104, p. 97-106, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>.

PIGOSSI, S. C. et al. Bacterial cellulose-hydroxyapatite composites with osteogenic growth peptide (OGP) or pentapeptide OGP on bone regeneration in critical-size calvarial defect model. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 103, p.3397-3406, 2015.

QUERIDO, William; ROSSI, Andre L.; FARINA, Marcos. The effects of strontium on bone mineral: A review on current knowledge and microanalytical approaches. **Micron**, v. 80, p.122-134, jan. 2016.

RAJABNEJADKELESHTERI, Alireza; KAMYAR, Armin; KHAKBIZ, Mehrdad; BAKALANI, Zahra Lotfi; BASIRI, Hamideh. Synthesis and characterization of strontium fluor-hydroxyapatite nanoparticles for dental applications. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 153, p. 104485-0, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2019.104485>.

- RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V.. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 99, n. 6, p. 2491-2511, 11 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-015-6426-3>.
- RAMANI, D.; SASTRY, T. P. Bacterial cellulose-reinforced hydroxyapatite functionalized graphene oxide: a potential osteoinductive composite. **Cellulose**, v. 21, p.3585-3595, 2014.
- REGINSTER, J.- et al. **Strontium Ranelate in Osteoporosis**. *Cpd*, v. 8, n. 21, p.1907-1916, 1 set. 2002.
- RENO, D. **Bone mimetism: Cellulose and glass membranes stimulate cell regeneration**. *Revista Fapesp*, edição 191, 2012. Disponível em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/en/2012/06/25/imitating-bone/>. Acesso em: 02 mar. 2019.
- RETZEPI, M.; DONOS, N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications. **Clinical Oral Implants Research**, [S.L.], v. 21, n. 6, p. 567-576, 19 mar. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.01922.x>.
- REZNIKOV, Natalie; SHAHAR, Ron; WEINER, Steve. Bone hierarchical structure in three dimensions. **Acta Biomaterialia**, [s.l.], v. 10, n. 9, p. 3815-3826, set. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2014.05.024>.
- RIBEIRO, Marta; MORAES, Mariana A. de; BEPPU, Marisa M.; GARCIA, Mónica P.; FERNANDES, Maria H.; MONTEIRO, Fernando J.; FERRAZ, Maria P.. Development of silk fibroin/nanohydroxyapatite composite hydrogels for bone tissue engineering. **European Polymer Journal**, [S.L.], v. 67, p. 66-77, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.03.056>.
- SADAT-SHOJAI, Mehdi; KHORASANI, Mohammad-Taghi; DINPANA-KHOSHDARGI, Ehsan; JAMSHIDI, Ahmad. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 7591-7621, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>.
- SAIDAK, Zuzana; MARIE, Pierre J.. Strontium signaling: molecular mechanisms and therapeutic implications in osteoporosis. **Pharmacology & Therapeutics**, [S.L.], v. 136, n. 2, p. 216-226, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.07.009>.
- SASKA, S.; BARUD, H. S.; GASPAR, A. M. M.; MARCHETTO, R.; RIBEIRO, S. J. L.; MESSADDEQ, Y.. Bacterial Cellulose-Hydroxyapatite Nanocomposites for Bone Regeneration. **International Journal Of Biomaterials**, [S.L.], v. 2011, p. 1-8, 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2011/175362>.
- SEO, Byung-Kwan; RYU, Hee-Kyoung; PARK, Yeon-Cheol; HUH, Jeong-Eun; BAEK, Yong-Hyeon. Dual effect of WIN-34B on osteogenesis and osteoclastogenesis in cytokine-induced mesenchymal stem cells and bone marrow cells. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 193, p. 227-236, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.07.022>.
- SHEIKH, Z et al. Biodegradable Materials for Bone Repair and Tissue Engineering Applications. **Materials**, 8, p.5744-5794, 2015. <http://dx.doi.org/10.3390/ma8095273>

SILLER, Martin; AMER, Hassan; BACHER, Markus; ROGGENSTEIN, Walter; ROSENAU, Thomas; POTTHAST, Antje. Effects of periodate oxidation on cellulose polymorphs. **Cellulose**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 2245-2261, 15 maio 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-015-0648-5>.

SILVA, M.; FERREIRA, F. N. F.; ALVES, N. M.; PAIVA, M. C. Biodegradable polymer nanocomposites for ligament/tendon tissue engineering. **Nanobiotechnol**, 18:23, p. 1-33, 2020.

SIRVIÖ, Juhö; LIIMATAINEN, Henriikki; NIINIMÄKI, Jouko; HORMI, Osmo. Dialdehyde cellulose microfibers generated from wood pulp by milling-induced periodate oxidation. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 86, n. 1, p. 260-265, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.054>.

SPICER, P. P.; KRETLOW, J. D.; YOUNG, S.; JANSEN, J.; KASPER, F. K.; MIKOS, A. G. Evaluation of Bone Regeneration Using the Rat Critical Size Calvarial Defect. **Nat. Protoc.**, 7, 1918–1929, 2012. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2012.113>.

SRIDHARAN, Rukmani; CAMERON, Andrew R.; KELLY, Daniel J.; KEARNEY, Cathal J.; O'BRIEN, Fergal J.. Biomaterial based modulation of macrophage polarization: a review and suggested design principles. **Materials Today**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 313-325, jul. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mattod.2015.01.019>.

STEINBÜCHEL, A. ; DOI, Y. **Biotechnology of Biopolymers**, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, p. 381, 2005.

STUSS, Michał; SEWERYNEK, Ewa; KRÓL, Iwona; STĘPIEŃ-KŁOS, Wioletta; JĘDRZEJCZYK, Sławomir. Ocena stężeń OPG, RANKL i markerów obrotu kostnego w surowicy oraz BMD u pacjentek leczonych z powodu osteoporozy pomenopauzalnej ranelinianem strontu i ibandronianem. **Endokrynologia Polska**, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 174-184, 13 abr. 2016. VM Media SP. zo.o VM Group SK. <http://dx.doi.org/10.5603/ep.a2016.0014>.

SUN, Bo; HOU, Qingxi; LIU, Zehua; NI, Yonghao. Sodium periodate oxidation of cellulose nanocrystal and its application as a paper wet strength additive. **Cellulose**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 1135-1146, 17 fev. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-015-0575-5>.

SZCZEŚ, Aleksandra; HOŁYSZ, Lucyna; CHIBOWSKI, Emil. Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. **Advances In Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 249, p. 321-330, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>.

TAKAHASHI, N. *et al.* S 12911-2 **inhibits osteoclastic bone resorption in vitro**. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 18, n. 6, p. 1082-7, 2003.

TAZI, Neftaha; ZHANG, Ze; MESSADDEQ, Younès; ALMEIDA-LOPES, Luciana; ZANARDI, Lisinéia M; LEVINSON, Dennis; ROUABHIA, Mahmoud. Hydroxyapatite bioactivated bacterial cellulose promotes osteoblast growth and the formation of bone nodules. **Amb Express**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 61-0, 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/2191-0855-2-61>

- TOPALOVIC, Tatjana; NIERSTRASZ, Vincent A.; BAUTISTA, Lorenzo; JOCIC, Dragan; NAVARRO, Antonio; WARMOESKERKEN, Marijn M.C.G.. XPS and contact angle study of cotton surface oxidation by catalytic bleaching. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 296, n. 1-3, p. 76-85, mar. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.09.026>
- TZSCHENTKE, Thomas M.. Pharmacology of bisphosphonates in pain. **British Journal Of Pharmacology**, [S.L.], p. 0-0, 11 set. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bph.14799>.
- UL-ISLAM, M.; KHAN, T.; PARK, J.K. Water Holding and Release Properties of Bacterial Cellulose Obtained by in Situ and ex Situ Modification. **Carbohydrate Polymers**, 88, p. 569-603, 2012.
- ULLAH, Hanif; SANTOS, Hélder A.; KHAN, Taous. Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. **Cellulose**, [S.L.], v. 23, n. 4, p. 2291-2314, 18 jun. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10570-016-0986-y>.
- VALLET-REGÍ, María; BALAS, Francisco; ARCOS, Daniel. Mesoporous Materials for Drug Delivery. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.L.], v. 46, n. 40, p. 7548-7558, 8 out. 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200604488>
- VASCONCELOS, N. F. et al. Oxidized bacterial cellulose membrane as support for enzyme immobilization: properties and morphological features. **Cellulose**, 27 (2020), 3055–3083. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-02966-5>
- WANG, H.L., CARROLL, M. J. Guided bone regeneration using bone grafts and collagen membranes. **Quintessence**. 32, 7, 504-15, 2001.
- WANG, Y. Highly transparent, highly flexible composite membrane with multiple antimicrobial effects used for promoting wound healing. **Carb Pol**, 222 (2019), p.114985. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114985>
- WYNN, Ta. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. **The Journal Of Pathology**, [S.L.], v. 214, n. 2, p. 199-210, jan. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/path.2277>.
- XIANFENG, Yang; HEHAN, Xie; QINGLONG, He; ZHE, Zhou; XIEWEN, Xu; LI, Zhang; ZHIPENG, Xie. Study of thermal degradation mechanism of binders for ceramic injection molding by TGA-FTIR. **Ceramics International**, [S.L.], v. 45, n. 8, p. 10707-10717, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.02.142>.
- YANG, M., ZHEN, W., CHE, H., SHAN, Z. Biomimetic design of oxidized bacterial cellulose-gelatin-hydroxyapatite nanocomposites. **Journal of Bionic Engineering**. 13,631-640, 2016. [http://dx.doi.org/10.1016/s1672-6529\(16\)60334-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1672-6529(16)60334-7).
- ZABOROWSKA, Magdalena; BODIN, Aase; BÄCKDAHL, Henrik; POPP, Jenni; GOLDSTEIN, Aaron; GATENHOLM, Paul. Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration. **Acta Biomaterialia**, [S.L.], v. 6, n. 7, p. 2540-2547, jul. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2010.01.004>.
- ZACTITI, E.M.; KIECKBUSCH, T.G.. Potassium sorbate permeability in biodegradable alginate films: effect of the antimicrobial agent concentration and crosslinking

degree. **Journal Of Food Engineering**, [S.L.], v. 77, n. 3, p. 462-467, dez. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.07.015>.

ZHANG, L. et al. Effects of crystalline phase on the biological properties of collagen–hydroxyapatite composites. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2189-2199, 2010.

ZIMMERMANN, K. A. et al. Biomimetic design of a bacterial cellulose/hydroxyapatite nanocomposite for bone healing applications. **Materials Science And Engineering: C**, v. 31, p.43-49, 2011.

ZOU, L.; ZHANG, Y.; LIU, X.; CHEN, J.; ZHANG, Q. Biomimetic mineralization on natural and synthetic polymers to prepare hybrid scaffolds for bone tissue Engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 178, p. 222–229, 2019.

ZWINGENBERGER, S.; NIEDERLOHMANN, E.; VATER, C; RAMMELT, S; MATTHYS, R; BERNHARDT, R.; VALLADARES, R. D.; GOODMAN, S. B.; STIEHLER, M. Establishment of a femoral critical-size bone defect model in immunodeficient mice. **J Surg Res**, 181, p.7-14, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2012.06.039>

ARTIGOS PUBLICADOS

Luz et al. “In vitro degradability and bioactivity of oxidized bacterial cellulose-hydroxyapatite composites.” **Carbohydrate Polymers**, v. 237, p. 116174, 2020.

Luz et al. “Oxidized Bacterial Cellulose with Strontium Apatite for guided bone regeneration.” **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v.116, p.111175, 2020.

Luz et al. “Advances in bacterial cellulose/strontium apatite composites for bone applications” **Polymer reviews** (aceito para publicação).