

# INTEGRAÇÃO DE BIOVIDRO EM MATRIZES DE HIDROGEL DE CELULOSE BACTERIANA

C. SCHROEDER<sup>1,2</sup>, J. BORTUZZO<sup>2</sup>, L. M. PORTO<sup>1</sup>, A.R. BOCCACCINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Catarina,  
Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos –  
Integrated Technologies Laboratory (IntelLab)  
E-mail: {camila, luismar}@intelab.ufsc.br

<sup>2</sup> University of Erlangen-Nuremberg,  
Department of Materials Science and Engineering –  
Institute for Biomaterials (WW7)  
E-mail: judith.a.bortuzzo@fau.de, aldo.boccaccini@ww.uni-erlangen.de

**RESUMO** – Biomateriais osteointegráveis para substituição e/ou regeneração de tecidos ósseos constituem importantes desenvolvimentos de engenharia de tecidos, devido à sua grande demanda e pela vantagem de substituírem enxertos de origem animal. Micropartículas de biovidro (45S5 Bioglass®, Alemanha) de tamanho médio igual a 2,0  $\mu\text{m}$  ( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) foram suspensas juntamente com membranas circulares de celulose bacteriana (CB), em água destilada por agitação a 360 rpm e temperatura ambiente, durante 24 horas, visando sua integração à matriz do hidrogel de CB. As amostras foram analisadas quanto à sua resistência mecânica, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, microscopia eletrônica de varredura. Os resultados foram comparados com membranas de celulose pura. Obteve-se dispersão homogênea e fixação das micropartículas de biovidro, encapsuladas no interior do hidrogel, nunca anteriormente relatada. Este é um material implantável e de grande biocompatibilidade.

## 1. INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos é um campo em crescimento, o qual tem como objetivo desenvolver substitutos biológicos que possam restaurar e/ou melhorar as funções de tecidos e órgãos (Langer e Cavalcanti, 1993; Chan e Mooney, 2008). Os materiais mais utilizados para *scaffolds* em engenharia de tecidos são polímeros naturais ou sintéticos, tais como polissacarídeos, hidrogéis ou elastômeros termoplásticos (Mano *et al.*, 2004; Drotleff *et al.*, 2004). Outras categorias importantes desses materiais são cerâmicas bioativas como fosfatos de cálcio e vidros bioativos. Atualmente os compósitos de polímeros e cerâmicas estão sendo desenvolvidos com o intuito de aumentar a estabilidade e melhorar a interação de tecidos duros (Kim *et al.*, 2004).

A celulose bacteriana (CB) produzida pelas bactérias do gênero *Gluconacetobacter* possui propriedades peculiares tanto químicas quanto físicas. É um biopolímero que, na forma de hidrogel, mimetiza a matriz extracelular *in vitro*. A CB vem sendo estudada especificadamente como uma estrutura para regeneração de tecidos cartilagosos e apresenta características promissoras como sua rede de nanofibras, alta hidrofiliabilidade, resistência à tensão, biocompatibilidade e moldabilidade *in situ* (Svensson *et al.*, 2005).

O desenvolvimento produtos de engenharia de tecidos ósseos é atraente, e os produtos engenheirados possuem grande potencial para a reparação de defeitos ósseos resultantes de traumas, ressecção cirúrgica e correções de deformidades congênitas (Salgada *et al.*, 2004; Porter *et al.*, 2009).

O Bioglass® 45S5, um vidro contendo  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ , está recebendo atenção considerável como material de *scaffolds* para a reparação do tecido ósseo e regeneração, principalmente por causa de sua excelente bioatividade, biocompatibilidade osteogênica e por apresentar efeito angiogênico (Rahaman *et al.*, 2011). Tem sido demonstrado que o Bioglass® promove o aumento da secreção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) *in vitro* e aumenta a vascularização *in vivo*, sugerindo que *scaffolds* contendo concentrações controladas de Bioglass® podem estimular a neo-vascularização, o que é benéfico para construção de tecidos engenheirados (Day *et al.*, 2004).

O objetivo desse trabalho é produzir um compósito de hidrogel de celulose bacteriana incorporada com vidro bioativo, e analisar e caracterizar o biomaterial para possível uso na substituição e regeneração de tecidos ósseos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Produção de hidrogéis de celulose bacteriana

A produção das membranas de celulose bacteriana foi feita no Laboratório de Tecnologias Integradas da Universidade Federal de Santa Catarina. Uma solução contendo a bactéria *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769 foi mantida em placas de 24 poços durante 7 dias em cultura estática. O meio utilizado para a cultura dos hidrogéis foi o MANITOL, com pH ajustado a 6,5 e isento de quaisquer partículas de biovidro.

Os hidrogéis foram purificados através de uma solução de NaOH 0,1 M pelo período de 24 horas a 50 °C e em seguida lavados com água destilada. Após purificadas as membranas permaneceram em água destilada.

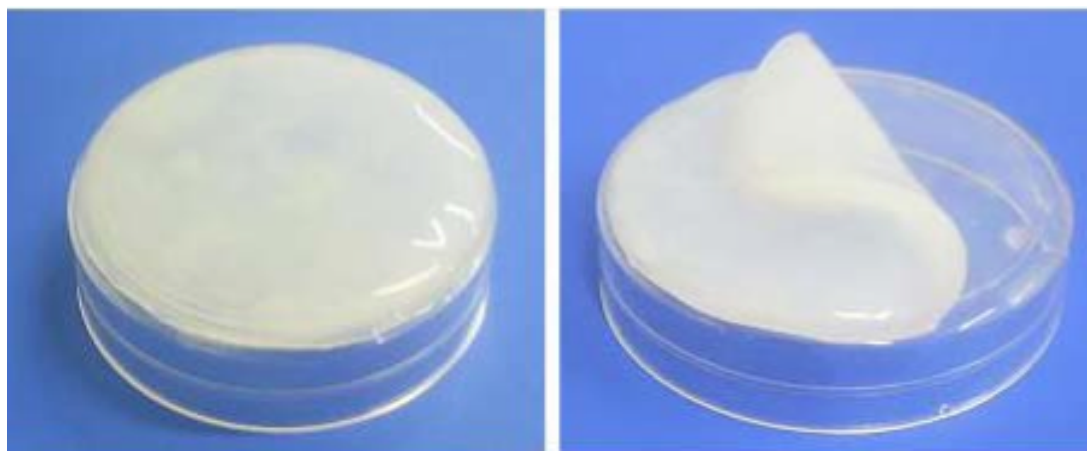


Figura 1– Membrana de hidrogel de celulose bacteriana produzida por *G. hansenii* em condições estáticas (Recouvreux, 2008).

## 2.2 Preparação dos compósitos CB-biovidro

No Instituto de Biomateriais (WW7) da Universidade de Erlangen-Nuremberg (Alemanha), aos hidrogéis de celulose bacteriana produzidos e purificados, foram incorporadas micropartículas de biovidro (45S5 Bioglass®, Alemanha) de tamanho médio igual a 2,0  $\mu\text{m}$ . Para a incorporação, foram suspensas juntamente com membranas circulares de celulose bacteriana (CB) três soluções, água destilada, 25% e 50% de etanol em água com Bioglass® 45S5 (1 g·L<sup>-1</sup>). A solução permaneceu em agitação a 360 rpm e temperatura ambiente, durante 6 e 24 horas, visando sua integração à matriz do hidrogel de celulose bacteriana.



Figura 2 – Hidrogéis de celulose bacteriana após 24 horas, em soluções contendo biovidro em água (water), e em 25% e 50% de etanol em água.

## 2.3 Caracterização dos compósitos formados

As amostras já incorporadas com o biovidro foram caracterizadas e analisadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Para a determinação das concentrações dos compósitos de celulose bacteriana incorporada com biovidro foi utilizado um espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier.

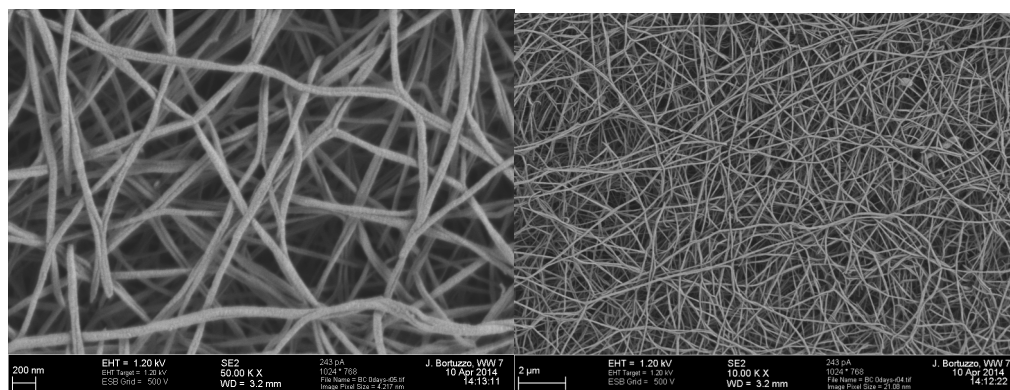
Os hidrogéis foram lavados com água destilada e desidratados com séries de soluções de etanol (30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%), por quinze minutos a cada lavagem. O procedimento utilizado para secagem das amostras foi pelo ponto crítico de CO<sub>2</sub>.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como é possível observar visualmente (Ver Figura 2), diferentes quantidades de partículas de biovidro foram incorporadas nos hidrogéis.

As análises de MEV, conforme Figuras 3, 4 e 5, mostram a membrana de CB e a mesma com partículas incorporadas com biovidro.

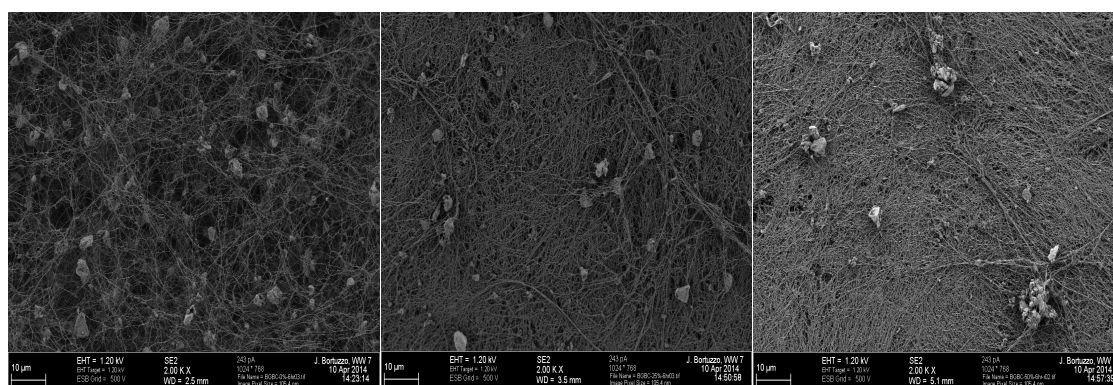




a)

b)

Figura 3 – Fibras do hidrogel de celulose bacteriana com aumento de a) 50.000 × e b) 10.000 ×.

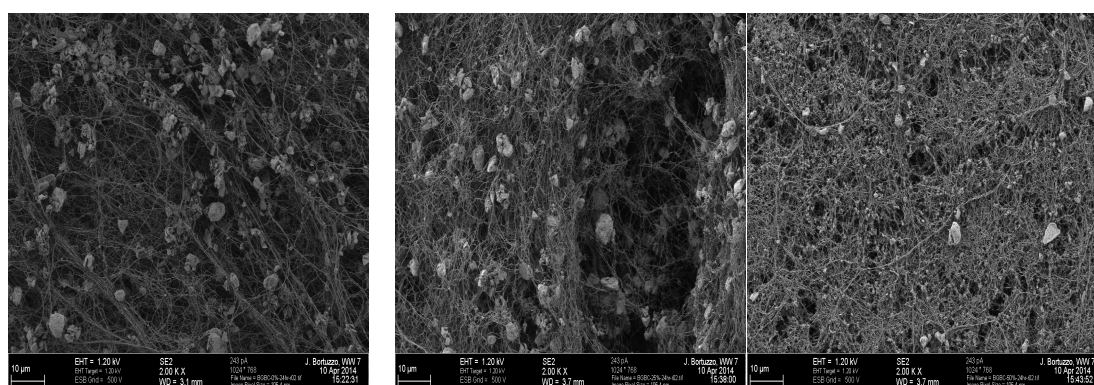


a)

b)

c)

Figura 4 – Comparação dos compósitos CB+Bioglass® 45S5 após 6 horas. Suspensão em: a) água, b) 25% etanol em água, c) 50% etanol em água.



a)

b)

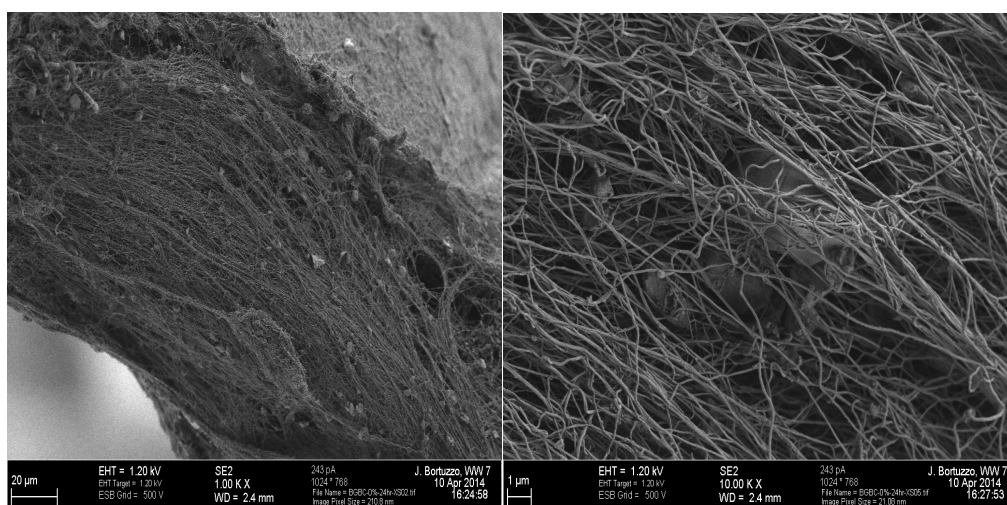
c)

Figura 5 – Comparação dos compósitos CB+Bioglass® 45S5 após 24 horas em cultura agitada. Suspensão em: a) água, b) 25% etanol em água, c) 50% etanol em água

Pode-se observar uma deposição homogênea em todas as amostras. Porém, quanto maior a fração alcoólica da solução, menor a incorporação de partículas de biovidro. A combinação das propriedades da celulose bacteriana com as do biovidro pode permitir a modulação da bioatividade, biocompatibilidade osteogênica e efeito angiogênico.



As Figuras 6 e 7 mostram, respectivamente, a caracterização por MEV e FTIR.



a)

b)

Figura 6 – a) Imagem de um corte transversal do compósito de CB+Bioglass® 45S5. b) Partícula de biovidro entre as fibras da membrana de celulose bacteriana.

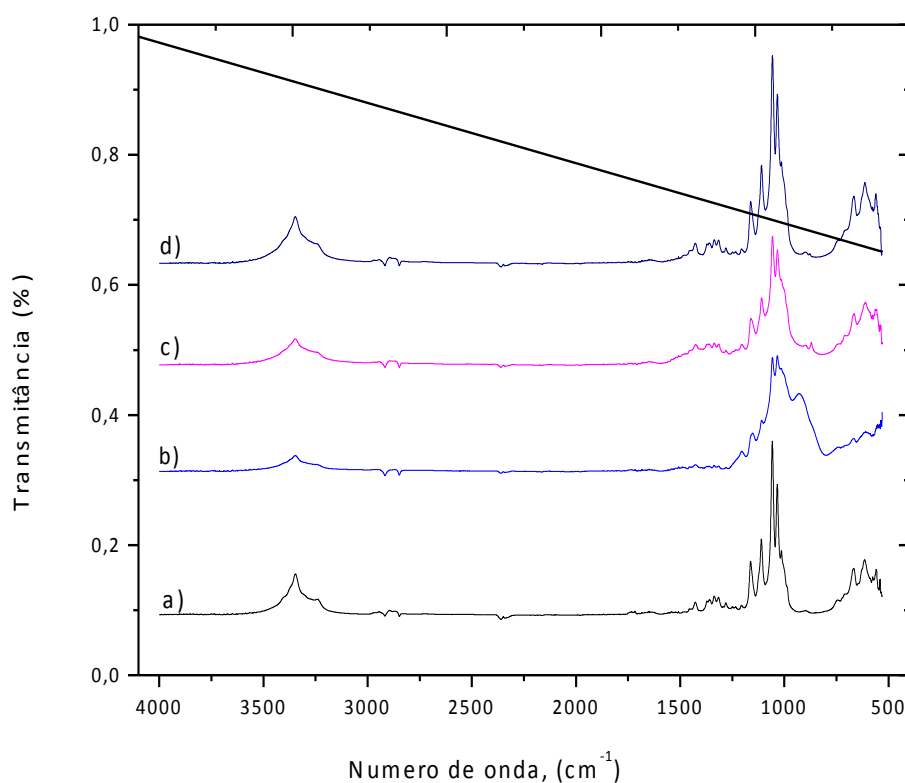


Figura 7 – Perfis de transmitância na região do infra-vermelho. a) Celulose bacteriana, referência; Compósito após suspensão em: b) água; c) em solução de 25% de etanol, e d) em solução de 50% de etanol.

De acordo com a Figura 7 as amostras de CB e CB+Bioglass® em solução de 50% etanol apresentam picos similares, mostrando a pouca concentração de biovidro na membrana em solução alcoólica. Já na análise do compósito após 24 horas em solução contendo apenas água destilada, o FTIR sugere uma maior incorporação de biovidro, que segundo Mackovic *et al.* (2012), mostra que a banda de ocorrência de Bioglass® no espectro encontra-se na região de 930 a 1050  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4. CONCLUSÕES

Na incorporação de partículas de Bioglass® 45S5 em membranas de celulose bacteriana obteve-se uma dispersão homogênea e a fixação das micropartículas de biovidro, apropriadamente encapsuladas no interior do hidrogel. Os melhores resultados foram obtidos após 24 horas em agitação e imersão em líquido contendo apenas água. Com a encapsulação de partículas de biovidro o biomaterial compósito poderá ser futuramente explorado para diversas aplicações como scaffold para engenharia e regeneração de tecidos ósseos.

#### 5. REFERÊNCIAS

- CHAN, G.; MOONEY, D.J. New materials for tissue engineering: towards greater control over the biological response. *Trends Biotechnol.* 26, p. 382–392, 2008.
- DAY, R.M.; BOCCACCINI, A.R.; SHUREY, S.; ROETHER, J.A.; FORBES, A.; HENCH, L.L. et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*, 25, p. 5857–5866, 2004.
- DROTLEFF, S.; LUNGWITZ, M.; BREUNIG, A. Dennis, T. Blunk, J. Tessmar. Biomimetic polymers in pharmaceutical and biomedical sciences. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 58, p. 385–407, 2004.
- KIM, H.W.; KNOWLES, J.C.; KIM, H.E. Hydroxyapatite/poly([epsilon]-caprolactone) composite coatings on hydroxyapatite porous bone scaffold for drug delivery. *Biomaterials*, 25, p. 1279–1287, 2004.
- LANGER, R.; VACANTI, J.P., Tissue engineering. *Science*, 260, p.920–926, 1993.
- MACKOVIC, M.; HOPPE, A.; DETSCH, R.; MOHN, D.; STARK, W.J.; SPIECKER, E.; BOCCACCINI, A.R.. Bioactive glass (type 45S5) nanoparticles: in vitro reactivity on nanoscale and biocompatibility. *J Nanopart Res.* p 8. 2012
- MANO, J.F.; SOUZA, R.A.; BOESEL, L.F.; NEVES, N.M.; REIS, R.L., Biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments. *Compos. Sci. Technol.*, p. 789–817, 2004.
- PORTER, J.R.; RUCKH, T.T.; POPAT, K.C. Bone tissue engineering: a review in

bone biomimetics and drug delivery strategies. *Biotechnol. Prog.*, 25, p. 1539–1560, 2009.

RAHAMAN, M.N.; DAY, D.E.; SONNY BAL, B.; FU, Q.; JUNG, S.B.; BONEWALD, L.F. et al. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater.*, 7. p. 2355–2373, 2011.

RECOUVREUX, D.O.S.. Desenvolvimento de Novos Biomateriais Baseados em Celulose Bacteriana para Aplicações Biomédicas e de Engenharia de Tecidos. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.

SALGADA, A.J.; COUTINHO, O.P., REIS, R.L. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol Biosci*, 4. p. 743–765, 2004.

SVENSSON, A.; NICKLASSON, E.; HARRAH, T.; PANILAITIS, B.; KAPLAN, D. L.; BRITTBERG, M.; GATENHOLM, P. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, v.26, n.4, p. 419–431, 2005.