

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 19/02/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

TATIANY APARECIDA DE CASTRO

**UTILIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE DNA COMO
“SCAFFOLDS” PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA E SUA
FUNCIONALIZAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS**

Araçatuba - SP
2025



TATIANY APARECIDA DE CASTRO

**UTILIZAÇÃO DE HIDROGÉIS DE DNA COMO
“SCAFFOLDS” PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA E SUA
FUNCIONALIZAÇÃO COM BIOMOLÉCULAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Mestra em Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Titular Roberta Okamoto

Coorientadora: Prof^a. Dra. Karina Midori Mori Carneiro

Araçatuba - SP
2025

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C355u Castro, Tatiany Aparecida de.
Utilização de hidrogéis de DNA como “scaffolds” para regeneração óssea e sua funcionalização com biomoléculas / Tatiany Aparecida de Castro. – Araçatuba, 2025
49 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Roberta Okamoto
Coorientadora: Profa. Karina Midori Mori Carneiro

1. Hidrogéis 2. Biomineralização 3. Materiais biocompatíveis I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho à Deus, à
minha Família, à minha
Orientadora Prof^a Roberta
Okamoto e aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

A **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP**, e em especial à Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** - Código de Financiamento 001, pelo financiamento deste estudo.

A **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)** – Processo 2023/08734-5, pelo financiamento deste estudo.

Aos **professores, amigos e funcionários** do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, pela convivência, auxílio e amizade que construímos.

Aos **professores da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade “Júlio de Mesquita Filho” por todos os ensinamentos e paciência.

Aos **amigos de pós-graduação** das áreas de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pelos momentos juntos compartilhados, histórias e pela amizade.

Ao **Laboratório Multiusuário de Biotecnologia e Bioengenharia MUBIO da FOA-UNESP** e à **FINEP (FINEP/CT-INFRA - Convênio FINEP:01.22.0385.00 – PROINFRA 0233/22)** e a **Natália Yoshie Ikegam** por todo cuidado e atenção e pela utilização da Microtomografia Computadorizada SkyScan 1272.

Ao **Laboratório Multiusuário da FOA-UNESP**, à Unesp (Edital 13/2021- Unesp Presente) e a Gisele kayahara por todo cuidado e atenção e pelo uso do equipamento Scanner de lâminas MoticEasyScan One.

Este estudo foi suportado pelo **CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – INCT Saúde Oral e Odontologia** – CNPq processo: 406840/2022-9

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo auxílio universal (processo 404998/2023-2) em nome da minha orientadora, Professora Titular Dr^a Roberta Okamoto, que apoiou financeiramente este estudo.

À todos os **Funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba**, que sempre foram solícitos, educados e pacientes.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus por sempre confortar meu coração e clarear minha mente, por me preparar e me capacitar para todos os desafios e por todas as pessoas maravilhosas que Ele colocou em minha vida.

A minha orientadora, Professora Titular Roberta Okamoto, por ter aberto as portas da ciência para mim, por me entender, por me guiar e orientar com maestria. A senhora foi essencial na minha carreira acadêmica e na minha vida, é minha inspiração, uma mulher forte, inteligente, de um caráter magnífico. Sempre a levarei comigo em meu coração.

A Karina M. M. Carneiro, minha co-orientadora, pela disponibilidade e pelos conhecimentos transmitidos. A senhora foi essencial para o desenvolvimento deste estudo.

Aos meus familiares, por todo amor, tempo e apoio que sempre dedicaram a mim de maneira ilimitada e por sempre acreditarem em mim e no meu potencial e por sempre se fazerem presentes em todos os momentos. Eu não teria conseguido chegar até aqui sem vocês. Amo vocês.

Aos meus amigos, por todo apoio e compreensão, por todos os ensinamentos e por estarem comigo em todos os momentos.

A toda a equipe do LSMT, por sempre me acolherem tão bem, vocês tornaram a pós-graduação muito mais leve, sou grata por ter feito tantos bons amigos, vocês foram essenciais não apenas para o desenvolvimento deste trabalho, mas para minha vida.

Aos meus avós, principalmente a minha avó Amélia que sempre cuidou de mim como sua filha e me amou incondicionalmente, a ti sempre serei grata e sempre sentirei saudades.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes.”

Martin Luther King

RESUMO

CASTRO, T. A. **Utilização de hidrogéis de dna como “scaffolds” para regeneração óssea e sua funcionalização com biomoléculas.** 2025. Dissertação Mestrado – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Este projeto teve como proposta avaliar o potencial regenerativo de hidrogéis de DNA, através das análises de microtomografia e PCR, no processo de reparo de defeitos ósseos de tamanho crítico em calvárias de ratos. Após a aprovação do Comitê de Ética processo FOA nº 606-2023, 24 ratos Wistar machos, foram divididos em quatro grupos, nos quais BUFFER recebeu o tampão TrisCa²⁺ como biomaterial, DNA 1:3 recebeu o hidrogel de DNA, o grupo CO-DNA Sr recebeu o tampão TrisSr²⁺ e DNA-Sr recebeu o hidrogel de DNA funcionalizado com estrôncio. Foram subdivididos de acordo com as análises e com o período de eutanásia, sendo n=3 para cada subgrupo. No tempo zero, os animais foram submetidos a cirurgia, e confeccionado o defeito ósseo na calvária dos animais, foi colocado em seu interior o biomaterial de acordo com o grupo. O subgrupo 10D foi eutanasiado 10 dias após a cirurgia e as peças coletadas foram para análises moleculares e o subgrupo 28D teve sua eutanásia após 28 dias e análises microtomográficas. A eutanásia desses animais foi realizada por sobredosagem anestésica. Foi observada a viabilidade celular dos hidrogéis de DNA em linhagens de células MCO. Quanto a análise molecular foi possível observar que a funcionalização com estrôncio melhorou o desempenho do DNA 1:3 na expressão gênica relativa das proteínas Runx2, IBSP, OCN e ALP, porém o grupo BUFFER obteve os maiores valores em Runx2, IBSP e TRAP. Quanto aos parâmetros de micro-CT o grupo DNA 1:3 obteve maiores valores em BV/TV, Tb.Th e Tb.N, já em Tb.Sp obteve destaque com maiores valores o grupo CO-DNA Sr. A utilização de hidrogéis de DNA promoveu melhora na microarquitetura e dinâmica da biomineralização e a funcionalização dos hidrogéis de DNA com estrôncio apesar de não demonstrar melhora no desempenho desses materiais na dinâmica reparacional do tecido ósseo quanto aos parâmetros avaliados na micro-CT, desempenhou uma melhora significativa na dinâmica da mineralização óssea nas análises moleculares.

Palavras-chave: hidrogéis; biomineralização; materiais biocompatíveis.

ABSTRACT

CASTRO, T. A. **Use of DNA hydrogels as scaffolds for bone regeneration and their functionalization with biomolecules.** 2025. Dissertação Mestrado – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

This project aimed to evaluate the regenerative potential of DNA hydrogels, through microtomography and PCR analyses, in the process of repairing critical-sized bone defects in rat calvaria. After approval by the Ethics Committee, process FOA nº 606-2023, 24 male Wistar rats were divided into four groups, in which BUFFER received the TrisCa²⁺ buffer as biomaterial, DNA 1:3 received the DNA hydrogel, the CO-DNA Sr group received the TrisSr²⁺ buffer and DNA-Sr received the DNA hydrogel functionalized with strontium. They were subdivided according to the analyses and the euthanasia period, with n = 3 for each subgroup. At time zero, the animals underwent surgery, and the bone defect was created in the animals' calvaria, and the biomaterial was placed inside it according to the group. The 10D subgroup was euthanized 10 days after surgery and the collected specimens were subjected to molecular analysis, while the 28D subgroup was euthanized after 28 days and microtomographic analysis. These animals were euthanized by anesthetic overdose. The cell viability of DNA hydrogels was observed in MCO cell lines. Regarding molecular analysis, it was possible to observe that functionalization with strontium improved the performance of DNA 1:3 in the relative gene expression of Runx2, IBSP, OCN and ALP proteins, but the BUFFER group obtained the highest values in Runx2, IBSP and TRAP. Regarding the micro-CT parameters, the DNA 1:3 group obtained higher values in BV/TV, Tb.Th and Tb.N, while in Tb.Sp the CO-DNA Sr group stood out with higher values. The use of DNA hydrogels promoted an improvement in the microarchitecture and dynamics of biomineralization and the functionalization of DNA hydrogels with strontium, despite not demonstrating an improvement in the performance of these materials in the reparative dynamics of bone tissue regarding the parameters evaluated in the micro-CT, performed a significant improvement in the dynamics of bone mineralization in the molecular analyses.

Keywords: hydrogels; biomineralization; biocompatible materials.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Representação esquemática dos Kits de DNA 1:3 recebidos pela colaboração com o laboratório da Prof^a Karina e o processo de formação dos hidrogéis de DNA. 21
- Figura 2 – Caracterização dos hidrogéis de DNA Sr a partir da caracterização por PAGE native e dos testes reológicos 22
- Figura 3 – Representação esquemática da interação entre os cátions de estrôncio com a estrutura aniônica do DNA. 23
- Figura 4 – Representação esquemática dos Kits de DNA recebidos pela colaboração com o laboratório da Prof^a Karina e o processo de formação dos hidrogéis de DNA. 23
- Figura 5 – Representação esquemática dos períodos e análises dos grupos experimentais. 24
- Figura 6 – Representação gráfica do defeito ósseo experimental proposto. 27
- Figura 7 – Imagens de microscopia de fluorescência da interação entre linhagens de células osteogênicas MCO de camundongos e hidrogéis de DNA. 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Representação gráfica da divisão dos grupos experimentais e 26
número de animais por grupo

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Ensaio de viabilidade celular MCO na presença do hidrogel de DNA.	31
Gráfico 2 – Cinética da degradação do hidrogel de DNA na proporção 1:3 em meio de cultura celular em meio aquoso ou na presença de SFB a 10% nos intervalos de tempo propostos.	32
Gráfico 3 – Os valores de expressão gênica relativa (Runx2) obtidos pelo PCR tempo real.	32
Gráfico 4 – Os valores de expressão gênica relativa (IBSP) obtidos pelo PCR tempo real.	33
Gráfico 5 – Os valores de expressão gênica relativa (OCN) obtidos pelo PCR tempo real.	34
Gráfico 6 – Os valores de expressão gênica relativa (ALP) obtidos pelo PCR tempo real.	35
Gráfico 7 – Os valores de expressão gênica relativa (TRAP) obtidos pelo PCR tempo real.	35
Gráfico 8 – Os valores de BV/TV obtidos a partir da Micro-CT.	36
Gráfico 9 – Os valores de Tb.Th obtidos a partir da Micro-CT.	37
Gráfico 10 – Os valores de Tb.N obtidos a partir da Micro-CT.	38
Gráfico 11 – Os valores de Tb.Sp obtidos a partir da Micro-CT.	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Por cento
®	Registrado
µm	Micrometros
3D	Tridimensional
10D	10 dias
28D	28 dias
ALP	Fosfatase Alcalina
BV/TV	Porcentagem de volume ósseo
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais
ECM	Matriz extracelular
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FAPESP	Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo
FOA	Faculdade de Odontologia de Araçatuba
HE	Técnica de coloração utilizando os corantes Hematoxilina e Eosina
Hr	Hora
IBSP	Sialoproteína óssea
Mg/Kg	Miligramas por quilograma
Micro-CT	Microtomografia computadorizada
MI	Mililitro
Mm	Milímetros
N	Número
OCN	Osteocalcina
PVPI	Polivinil Pirrolidona Iodo degermante
Sr	Estrôncio
Tb.N	Número de Trabéculas
Tb.Sp	Separação entre as trabéculas
Tb.Th	Espessura do trabeculado ósseo
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
Unesp	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVO	19
3	METODOLOGIA	20
3.1.1	1ª Etapa – Síntese dos Hidrogéis de DNA	20
3.1.2	Funcionalização dos Hidrogéis de DNA com estrôncio	21
3.2	2ª Etapa – Experimentos in vivo com o Modelo Experimental Proposto	23
3.3	Cálculo amostral e randomização	24
3.4	Animais	25
3.5	Confecção do Defeito de Calvária	26
3.6	Eutanásia	27
3.7	Análises Propostas – Análise Molecular (qPCR Tempo Real)	27
3.8	Análises Propostas – Micro-CT	28
4	RESULTADOS	30
4.1	Viabilidade Celular dos Hidrogéis de DNA	30
4.2	Degradação dos Hidrogéis de DNA	31
4.3	Análise qPCR Tempo Real	32
4.3.1	Runx2	32
4.3.2	IBSP	33
4.3.3	OCN	33
4.3.4	ALP	34
4.3.5	TRAP	35
4.4	Análise Microtomográfica (Micro-CT)	36
4.4.1	Percentual de Volume Ósseo (BV/TV)	36
4.4.2	Espessura do Trabeculado Ósseo (Tb.Th)	37
4.4.3	Número de trabéculas (Tb.N)	38
4.4.4	Separação entre as trabéculas (Tb.Sp)	39
5	DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44
	ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

Diversas condições podem causar defeitos e destruições ósseas craniofaciais, incluindo doenças degenerativas e inflamatórias, traumas acidentais, cirurgias oncológicas e fraturas patológicas, sendo que mais de 2,2 milhões de transplantes ósseos são realizados anualmente na prática clínica, impondo grande carga financeira aos pacientes, além de afetar seu estado de saúde geral e qualidade de vida e também de representar um fardo econômico surpreendente para os sistemas de saúde (1)(2). As estratégias clínicas atuais para reparar e regenerar defeitos ósseos utilizam principalmente autoenxertos, que atualmente são considerados “padrão ouro” para o tratamento destes defeitos. Outros possíveis tratamentos seriam a utilização de aloenxertos, xenoenxertos e enxertos inorgânicos. Entretanto, todos estes métodos apresentam diversas limitações, como a insuficiência da área doadora, baixa atividade osteoindutora, risco de infecção, imunorreação do hospedeiro e baixa atividade biológica. Conseqüentemente, a cicatrização de grandes defeitos ósseos continua sendo um grande desafio clínico. Em comparação com as terapias tradicionais, a engenharia de tecidos é uma abordagem promissora para o reparo de defeitos ósseos e pode representar ser uma opção viável(3).

Existe uma grande demanda na busca de alternativas de enxertos ósseos artificiais que deveriam apresentar como propriedades: boa estabilidade mecânica, biocompatibilidade, biodegradabilidade, osteoindutividade e osteocondutividade. Um enxerto ósseo ideal também deve apoiar a adesão celular, crescimento, migração e diferenciação, bem como a mineralização precoce e neoformação óssea e formação de vasos (4). Atualmente, a engenharia de tecidos propõe a combinação de arcabouços, células e fatores de crescimento como um tratamento eficaz para a reconstrução do tecido ósseo (5). Dessa forma, a principal função de um andaime é replicar a estrutura da matriz extracelular natural, já que esta matriz auxilia a proliferação, diferenciação e biossíntese das células (6).

Para atender aos requisitos de um “scaffold” ideal, diversas propriedades, como a composição do material e sua organização espacial, precisam ser consideradas e cuidadosamente balanceadas. Além disso, materiais que são usados como

arcabouços em abordagens regenerativas precisam exibir biocompatibilidade suficiente e devem ser completamente degradáveis ao longo do tempo, de forma a ser gradualmente substituídos por matriz óssea formada endogenamente e também fornecer suporte mecânico adequado. Portanto, as propriedades do material, como resistência à compressão, rigidez e elasticidade, devem imitar aquelas relatadas como características do osso no respectivo estágio de regeneração. Em resumo, o principal desafio na concepção de um arcabouço usado para abordagens regenerativas é a otimização de sua microestrutura, características mecânicas, degradabilidade e composição do material, a fim de garantir um alto grau de osteoindutividade, osteocondutividade e osseointegração (7).

O DNA emergiu como um dos materiais biocompatíveis mais promissores para a engenharia de tecidos. A nanotecnologia de DNA permite que cadeias de DNA sintético sejam programadas para se automontar em arquiteturas projetadas de uma, duas e três dimensões o que tem sido cada vez mais explorado para seu uso como scaffolds extremamente organizados (8). Essas nanoestruturas podem direcionar arranjos moleculares específicos por meio do crescimento padronizado de materiais e organização específica de macromoléculas, como polímeros, peptídeos e proteínas. Estes desenvolvimentos levaram ao uso de nanoestruturas de DNA como “scaffold” intrincados e precisos para a biomineralização de carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e sílica (9). O potencial do DNA para guiar a morfologia de materiais inorgânicos e sua capacidade de servir como moldes e modelos já foram demonstrados anteriormente. Em particular, montagens estendidas de DNA, como redes bidimensionais e nanotubos, tem se mostrado ideais para orientar a biomineralização em escalas de comprimento variadas, conforme seja necessário para a regeneração de tecidos mineralizados (8).

As nanoestruturas estendidas de DNA são, de diversas maneiras, ideais para guiar a biomineralização e possibilitar arquiteturas hierárquicas características de biominaerais naturais. Além disso, estas nanoestruturas nos permitem um alto grau de controle morfológico sobre elas e exibem características desejáveis de complexação de íons para modelar o crescimento de matéria inorgânica. A função mais simples do DNA como andaime de mineralização é recrutar cátions inorgânicos, como Ca^{2+} , para

regenerar tecidos mineralizados. As interações iônicas de minerais com o esqueleto aniônico açúcar-fosfato do DNA controlam o processo de cristalização, elaborando estruturas comparáveis aos biominais naturais, como esmalte dentário e osso. Esta nanoestrutura é particularmente atraente devido à previsibilidade do pareamento de bases, a sua capacidade de endereçamento químico além da capacidade de formar estruturas 3D versáteis. Dessa forma, os scaffolds de DNA se destacam por possibilitar a construção de arquiteturas complexas, com excelente controle geométrico e funcionalidade (10).

É importante ressaltar que as nanoestruturas de DNA possuem como propriedade a endereçabilidade, ou seja, as nanoestruturas de DNA fornecem vários locais que podem ser funcionalizados para gerar nanomateriais multifuncionais. Assim, a bioconjugação permite que pequenas moléculas, polímeros, nanopartículas, íons metálicos e clusters sejam adicionados a superfície destas estruturas em posições específicas. Além disso, conjuntos modelados de DNA podem ser fabricados usando estratégias como intercalação, redução de íons metálicos adsorvidos por meios químicos, eletroquímicos ou fotoquímicos, ligação eletrostática, dopagem de nanoaglomerados ou nanopartículas e hibridação com filamentos complementares funcionalizados. Nanomateriais funcionais de formas e tamanhos bem definidos e diferentes composições desempenham um papel importante em diagnósticos biomédicos e terapias (10). Ou seja, o hidrogel de DNA pode servir como um veículo promissor para a entrega sustentável de moléculas ativas, incluindo proteínas e drogas (1).

Dentre os diferentes elementos terapêuticos, o estrôncio é um cátion de metal alcalino-terroso que tem sido amplamente associado ao controle do metabolismo ósseo como um dos oligoelementos essenciais no corpo humano. Atualmente, diversos biomateriais funcionalizados com estrôncio têm sido apontados como uma eficaz ferramenta terapêutica na promoção da regeneração óssea. Este cátion metálico demonstrou possuir “regulação dupla” no turnover ósseo, já que promove a diferenciação e proliferação de pré-osteoblastos e estimula os osteoblastos a sintetizar uma nova matriz óssea enquanto suprime a atividade dos osteoclastos, reduzindo a reabsorção óssea. O estrôncio também prolonga a sobrevivência dos

osteoblastos inibindo a apoptose através da via ATK e promove a adesão precoce, proliferação, diferenciação e mineralização da matriz de osteoblastos via integrina $\alpha 2$, integrina $\beta 1$, aderentes spot quinase e vias de sinalização ERK (11). Além disso, pesquisadores propuseram os efeitos imunomoduladores deste elemento, que fornece um ambiente apropriado para melhorar a regeneração óssea. Com estas características, o estrôncio atualmente está sendo usado em diversos estudos para sua aplicação em bioengenharia de reconstrução de tecidos ósseos a fim de acelerar esta reconstrução (12).

Entretanto, uma maior incidência de efeitos colaterais, como distúrbios cardíacos e eventos tromboembólicos, ocorreu quando os agentes contendo o estrôncio foram amplamente utilizados em pacientes, conseqüentemente, sua indicação está agora restrita a osteoporose grave em homens e mulheres pós-menopáusicas com alto risco de fratura que não podem ser tratados com outros medicamentos. Dessa forma, é extremamente importante melhorar a eficácia e a segurança dos agentes contendo o estrôncio para o tratamento da perda óssea. Recentemente, as nanotecnologias emergentes favoreceram o uso de estratégias alternativas para fornecer efetivamente íons bioativos, como Mg e Sr, para promover e melhorar significativamente a regeneração óssea (13,14).

Em estudos anteriores de nosso grupo, o DNA foi avaliado como biomaterial no preenchimento de defeitos críticos em calvaria na proporção de 1:3 e disperso em tampão TrisCa^{2+} e demonstrou resultados favoráveis quanto ao processo de reparo ósseo, com estudo publicado de Athanasiadou et al. (15). Neste momento, estamos promovendo uma melhora nas propriedades químicas do DNA e desta forma, surgiu a possibilidade de analisarmos seu desempenho no reparo ósseo quando funcionalizado com íons bioativos de estrôncio através da substituição do tampão TrisCa^{2+} pelo tampão TrisSr^{2+} .

6 CONCLUSÃO

A utilização de hidrogéis de DNA promoveu melhora na microarquitetura e dinâmica da biomineralização e a funcionalização dos hidrogéis de DNA com estrôncio apesar de não demonstrar melhora no desempenho desses materiais na dinâmica reparacional do tecido ósseo quanto aos parâmetros avaliados na micro-CT, desempenhou uma melhora significativa na dinâmica da mineralização óssea nas análises moleculares.

REFERÊNCIAS

1. Miao Y, Chen Y, Luo J, Liu X, Yang Q, Shi X, et al. Black phosphorus nanosheets-enabled DNA hydrogel integrating 3D-printed scaffold for promoting vascularized bone regeneration. *Bioactive Materials*. março de 2023;21:97–109.
2. Zhang J, Eyisoğlu H, Qin XH, Rubert M, Müller R. 3D bioprinting of graphene oxide-incorporated cell-laden bone mimicking scaffolds for promoting scaffold fidelity, osteogenic differentiation and mineralization. *Acta Biomaterialia*. fevereiro de 2021;121:637–52.
3. Shen M, Wang L, Gao Y, Feng L, Xu C, Li S, et al. 3D bioprinting of in situ vascularized tissue engineered bone for repairing large segmental bone defects. *Materials Today Bio*. dezembro de 2022;16:100382.
4. Manoochehri H, Ghorbani M, Moosazadeh Moghaddam M, Nourani MR, Makvandi P, Sharifi E. **RETRACTED ARTICLE:** Strontium doped bioglass incorporated hydrogel-based scaffold for amplified bone tissue regeneration. *Sci Rep*. 17 de junho de 2022;12(1):10160.
5. Ye G, Bao F, Zhang X, Song Z, Liao Y, Fei Y, et al. Nanomaterial-Based Scaffolds for Bone Tissue Engineering and Regeneration. *Nanomedicine (Lond)*. agosto de 2020;15(20):1995–2017.
6. Goto R, Nishida E, Kobayashi S, Aino M, Ohno T, Iwamura Y, et al. Gelatin Methacryloyl–Riboflavin (GelMA–RF) Hydrogels for Bone Regeneration. *IJMS*. 6 de fevereiro de 2021;22(4):1635.
7. Schulze F, Lang A, Schoon J, Wassilew GI, Reichert J. Scaffold Guided Bone Regeneration for the Treatment of Large Segmental Defects in Long Bones. *Biomedicines*. 24 de janeiro de 2023;11(2):325.
8. Kim F, Chen T, Burgess T, Rasie P, Selinger TL, Greschner A, et al. Functionalized DNA nanostructures as scaffolds for guided mineralization. *Chem Sci*. 2019;10(45):10537–42.
9. Danesi AL, Athanasiadou D, Aderinto AO, Rasie P, Chou LYT, Carneiro KMM. Peptide-Decorated DNA Nanostructures Promote Site-Specific Hydroxyapatite Growth. *ACS Appl Mater Interfaces*. 12 de janeiro de 2022;14(1):1692–8.
10. Athanasiadou D, Carneiro KMM. DNA nanostructures as templates for biomineralization. *Nat Rev Chem*. 13 de janeiro de 2021;5(2):93–108.
11. You J, Zhang Y, Zhou Y. Strontium Functionalized in Biomaterials for Bone Tissue Engineering: A Prominent Role in Osteoimmunomodulation. *Front Bioeng Biotechnol*. 6 de julho de 2022;10:928799.

12. Kargozar S, Montazerian M, Fiume E, Baino F. Multiple and Promising Applications of Strontium (Sr)-Containing Bioactive Glasses in Bone Tissue Engineering. *Front Bioeng Biotechnol.* 5 de julho de 2019;7:161.
13. Liu L, Zhang Z, Aimaijiang M, Liu M, Huang L, Pan Z, et al. Strontium-Incorporated Carbon Nitride Nanosheets Modulate Intracellular Tension for Reinforced Bone Regeneration. *Nano Lett.* 14 de dezembro de 2022;22(23):9723–31.
14. Tarantino U, Iolascon G, Cianferotti L, Masi L, Marcucci G, Giusti F, et al. Clinical guidelines for the prevention and treatment of osteoporosis: summary statements and recommendations from the Italian Society for Orthopaedics and Traumatology. *J Orthop Traumatol.* novembro de 2017;18(S1):3–36.
15. Athanasiadou D, Meshry N, Monteiro NG, Ervolino-Silva AC, Chan RL, McCulloch CA, et al. DNA hydrogels for bone regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 25 de abril de 2023;120(17):e2220565120.
16. Pitol-Palin L, Frigério PB, Moura J, Pilatti L, De Oliveira LMJ, Matsubara EY, et al. Performance of Polydioxanone-Based Membrane in Association with 3D-Printed Bioceramic Scaffolds in Bone Regeneration. *Polymers.* 21 de dezembro de 2022;15(1):31.
17. Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Grossi-Oliveira GA, Okamoto T, Okamoto R. Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. *J Biomed Opt.* 26 de março de 2015;20(3):038003.
18. Rajshankar D, Wang Y, McCulloch CA. Osteogenesis requires FAK-dependent collagen synthesis by fibroblasts and osteoblasts. *FASEB j.* março de 2017;31(3):937–53.
19. Wang Y, Shao Y, Ma X, Zhou B, Faulkner-Jones A, Shu W, et al. Constructing Tissue-like Complex Structures Using Cell-Laden DNA Hydrogel Bricks. *ACS Appl Mater Interfaces.* 12 de abril de 2017;9(14):12311–5.
20. Chen C, Zhou J, Chen J, Liu H. Advances in DNA Supramolecular Hydrogels for Tissue Engineering. *Macromolecular Bioscience.* dezembro de 2022;22(12):2200152.
21. Li Y, Chen R, Zhou B, Dong Y, Liu D. Rational Design of DNA Hydrogels Based on Molecular Dynamics of Polymers. *Advanced Materials.* fevereiro de 2024;36(7):2307129.
22. Peng G, Li W, Peng L, Li R, Wang Z, Zhou Y, et al. Multifunctional DNA-Based Hydrogel Promotes Diabetic Alveolar Bone Defect Reconstruction. *Small.* março de 2024;20(10):2305594.

23. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nat Protoc.* outubro de 2012;7(10):1918–29.
24. Samsonraj RM, Dudakovic A, Zan P, Pichurin O, Cool SM, van Wijnen AJ. A Versatile Protocol for Studying Calvarial Bone Defect Healing in a Mouse Model. *Tissue Eng Part C Methods.* novembro de 2017;23(11):686–93.
25. Wu R, Li W, Yang P, Shen N, Yang A, Liu X, et al. DNA hydrogels and their derivatives in biomedical engineering applications. *J Nanobiotechnol.* 29 de agosto de 2024;22(1):518.