

Estruturas de quitosana utilizadas para regeneração óssea *in vivo*: uma revisão de literatura

Structures of chitosan used for bone regeneration *in vivo*: a literature review

Estructuras de chitosan utilizadas para la regeneración ósea vivo: una revisión de la literatura

Recebido: 15/05/2020 | Revisado: 30/05/2020 | Aceito: 03/06/2020 | Publicado: 16/06/2020

Rosana Araújo Rosendo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3795-8832>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: cesprodonto@hotmail.com

Allan Alves Andrade

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9388-9379>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: allanalvesodonto@gmail.com

Ana Beatriz Máximo Figueiredo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3198-8993>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: anabiamf22@yahoo.com

André Higor dos Santos Tavares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2089-2865>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: andrehigor043@gmail.com

Débora Laís de Sousa Castro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6309-0600>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: dclais7@gmail.com

Rafael Rodrigues de Siqueira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0748-3506>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: rrs-13@hotmail.com

Antonielson dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5686-8621>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: antonielsonvet@gmail.com

Mikaelly Fernanda de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3957-504X>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: mickaelly_js@hotmail.com

Elizandra Silva Penha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6264-5232>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: elizandrapenha@hotmail.com

Luanna Abilio Diniz Melquiades de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-16303968>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: luannaabiliod@gmail.com

Resumo

Introdução: Biomateriais são materiais sintéticos ou naturais que têm por objetivo substituir e/ou tratar algum componente do organismo. Dentre os diversos tipos de biomaterias, o de maior sucesso relatado na literatura é o de origem autógena, porém há a desvantagem de se criar uma segunda ferida cirúrgica para sua extração. Uns dos desafios na área médica-odontológica atual é a regeneração óssea por meios de biomateriais que não sejam de origem autógena. Neste contexto, o uso de biopolímeros como a quitosana extraída da quitina de carapaças de crustáceos vem sendo estudada como uma alternativa para terapias de regeneração óssea. **Objetivo:** Verificar a presença na literatura sobre o potencial de regeneração óssea in vivo da quitosana, em periódicos nacionais e internacionais. **Materiais e métodos:** Busca de informações nas bases de dados PubMed, Lilacs, Scielo, Periódicos Capes e Google Acadêmico no período de 2009 a 2019. **Resultado:** Nesse contexto, foi encontrado em sua maioria resultados positivos para regeneração óssea ou potencial para cicatrização óssea de estruturas de quitosana isoladas ou associadas. **Conclusão:** Conclui-se que o uso da quitosana no reparo ósseo apresenta-se como uma terapia promissora.

Palavras-chave: Biomateriais; Quitosana; Regeneração óssea

Abstract

Introduction: Biomaterials are synthetic or natural materials that aim to replace and / or treat any component of the organism. Among the different types of biomaterials, the most successful reported in the literature is the one of autogenous origin, however there is the disadvantage of creating a second surgical wound for its extraction. One of the challenges in the current medical-dental field is bone regeneration by means of biomaterials that are not of autogenous origin. In this context, the use of biopolymers such as chitosan extracted from chitin of crustacean shells has been studied as an alternative for bone regeneration therapies. **Objective:** To verify the presence in the literature about the potential for bone regeneration in vivo of chitosan, in national and international journals. **Materials and methods:** Search for information in the databases PubMed, Lilacs, Scielo, Periodicals Capes and Google Scholar in the period from 2009 to 2019. **Result:** In this context, most positive results were found for bone regeneration or potential for bone healing of isolated or associated chitosan structures. **Conclusion:** It is concluded that the use of chitosan in bone repair presents itself as a promising therapy.

Keywords: Biomaterials; Chitosan; Bone regeneration.

Resumen

Introducción: los biomateriales son materiales sintéticos o naturales que tienen como objetivo reemplazar y/o tratar cualquier componente del organismo. Entre los diferentes tipos de biomateriales, el más exitoso reportado en la literatura es el de origen autógeno, sin embargo, existe la desventaja de crear una segunda herida quirúrgica para su extracción. Uno de los desafíos en el campo médico-dental actual es la regeneración ósea por medio de biomateriales que no son de origen autógeno. En este contexto, el uso de biopolímeros como el quitosano extraído de la quitina de las conchas de crustáceos se ha estudiado como una alternativa para las terapias de regeneración ósea. **Objetivo:** verificar la presencia en la literatura sobre el potencial de regeneración ósea in vivo del quitosano, en revistas nacionales e internacionales. **Materiales y métodos:** busque información en las bases de datos PubMed, Lilacs, Scielo, Periodicals Capes y Google Scholar en el período de 2009 a 2019. **Resultado:** en este contexto, se encontraron resultados más positivos para la regeneración ósea o el potencial de curación ósea de estructuras de quitosano aisladas o asociadas. **Conclusión:** se concluye que el uso de quitosano en la reparación ósea se presenta como una terapia prometedora.

Palabras clave: Biomateriales; Quitosano; Regeneración ósea.

1. Introdução

Os biomateriais são materiais sintéticos ou naturais que têm por objetivo substituir e/ou tratar algum componente do organismo, podendo ser classificados, segundo sua origem, em: biológicos, sintéticos/aloplásticos ou segundo sua capacidade de resposta sobre o sistema biológico. Acerca dos biológicos, temos os componentes extraídos do próprio paciente, chamados de autógenos; retirados de outros indivíduos de mesma espécie, chamados alógenos; e os removidos de animais, denominados de xenógenos. Dentre os biomateriais sintéticos, destacam-se os metais, as cerâmicas e os polímeros (Sinhoreti, Vitti & Sobrinho, 2013; Santana et al. 2014).

Em relação à classificação quanto a resposta no local de emprego, os biomateriais podem ser bioativos, bioinertes e bioabsorvíveis. Os bioativos são os que agem ativamente sobre os tecidos aplicados, realizando-se o que se denomina de bioadesão. Já os bioinertes e os bioabsorvíveis não atuam diretamente sobre o tecido biológico e sim sobre uma camada de tecido fibroso que é induzida e que fica entre o biomaterial e o alvo biológico, sendo instáveis, o que pode resultar em falhas nos métodos de emprego dos materiais (Sinhoreti et al. 2013; Santana et al. 2014).

Sobre a justificativa de se evitar uma nova ferida cirúrgica para extração do material biológico autógeno e diminuir a dor, algumas pesquisas vêm se voltando para a produção de materiais biológicos xenógenos, como os polímeros naturais. Os polímeros são compostos de baixa densidade, alta flexibilidade, resilientes e com baixa potência de corrosão (Rollim et al. 2019).

Dentre os polímeros, destaca-se a quitina que se mostra como uma estrutura altamente organizada, o que lhe proporciona a capacidade de ser insolúvel na maioria dos solventes orgânicos, oferecendo possibilidades de *scaffolds* para outros materiais na utilização de meios que necessitam de estabilidade do material para sua ação (Moraes et al. 2017; Paretsis et al. 2017).

A quitosana, que é extraída da quitina de crustáceos, insetos, moluscos e da parede celular de fungos, se caracteriza por ser um material biocompatível, biodegradável, de baixa imunogenicidade, com capacidade de formação de gel e adsorção, antimicrobiano e não tóxico *in vivo*. Além disso, apresenta a característica de ser um material imensamente versátil, em se tratando de sua modificação e combinação com outros materiais, permitindo seu uso em vários locais teciduais distintos, como: fígado, tecido neural, tecido ósseo, enxertos

vasculares, cartilagem e pele, comprovando, desta forma, sua alta aplicabilidade na área médica (Rollim et al. 2019; Enrione et al. 2010).

A quitosana se apresenta como um biopolímero hidrofílico, o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza sendo linear e constituído de glicosamina e N-acetilglucosamina, tendo sua conformação semelhante aos glicosaminoglicanos (GAG), uma considerável estrutura da matriz extracelular de muitos tecidos. Sua forma de apresentação pode ser encontrada em géis, membranas e pó com diferentes tipos de granulações (Rollim et al. 2019; Moraes et al. 2017; Paretsis et al. 2017; Enrione et al. 2010; Franco et al. 2004).

Sua razão para aplicação na área médica está baseada na sua relação íntima com o sistema biológico, em especial, com a matriz extracelular, podendo estimular células no reparo tecidual (Rollim et al. 2019; Spin-neto et al. 2012).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo realizar uma revisão de literatura sobre estruturas de quitosana utilizadas na regeneração óssea sobre os tecidos *in vivo*.

2. Metodologia

Para o desenvolvimento deste trabalho foi realizada uma revisão de literatura com base em estudos científicos publicados e indexados nas bases de dados Periódicos Capes, SciELO, Lilacs, Pubmed e Google Acadêmico. Para a busca foram empregados os descritores: biomateriais, quitosana, regeneração óssea, análise, formação óssea, aplicabilidade, *in vivo*; tanto no singular como no plural no campo palavras do título.

Quanto aos critérios de inclusão para a seleção bibliográfica, foram utilizados trabalhos de 2009 até 2019, com temas pertinentes e coerentes ao título, objetivos e metodologia desta revisão. Seguindo estes parâmetros 26 publicações foram expostas na pesquisa. Como critérios de exclusão foram eliminados os trabalhos escritos em línguas que não fossem em português, inglês ou espanhol, estudos realizados *in vitro* e que se repetiam nas bases de dados pesquisadas, de acordo com estes requisitos 39 artigos foram descartados a fim de tornar a pesquisa mais precisa e efetiva.

3. Resultados e Discussão

As feridas ósseas podem ser causadas por trauma, lesão ou certas doenças, como doença degenerativa, osteoporose e câncer. Com um aumento na expectativa de vida, em todo

o mundo, abordagens terapêuticas para o tratamento de lesões ósseas estão ganhando grande atenção (Bose, Roy & Bandyopadhyay, 2012; Zhang D et al. 2018).

A restauração do osso danificado é um tema de destaque no campo das pesquisas médicas, pois apesar do sucesso com o uso de autoenxertos e aloenxertos, o desenvolvimento de materiais alternativos para substituição óssea defeituosa é considerado uma questão importante e estudos têm sido conduzidos envolvendo engenharia de tecidos baseados em compósitos de biocerâmicas e polímeros sintéticos ou naturais (Oliveira et al. 2009; Macedo et al. 2012). Com isso, estudos vêm analisando o potencial da quitosana como regenerador ósseo.

Spin-neto et al. (2012), utilizaram quitosana de baixo peso molecular em defeitos ósseos na calvária de ratos e encontraram grande potencial de regeneração óssea desse biomaterial. Pesquisas que também aplicaram quitosana isolada em defeitos ósseos em coelhos, alvéolo de humanos e ratos, respectivamente, obtiveram resultados positivos em relação às estruturas de quitosana sobre a regeneração óssea (Azevedo, Fook, Sousa, 2013; Mourão et al. 2015; Keller, Gimenez, Mendozad, 2017) .

Azevedo et al. (2013) ao compararem o grupo da quitosana isolada com o grupo de associação da quitosana com medula óssea, verificou que se apresentavam com as mesmas reações observadas. No entanto, no grupo que foi utilizada a quitosana com medula óssea houve maior quantidade de células mesenquimais em processo de diferenciação.

Spin-neto et al. (2012) observaram que, no grupo em que utilizou a quitosana com alto peso molecular, os resultados não favoreceram a regeneração óssea, sendo justificado pelo maior tamanho da loja cirúrgica, levantando-se a hipótese de ter causado um processo inflamatório crônico, que possa ter impedido mais processos regenerativos complexos e levado a um aborto na formação óssea. Oryan e colaboradores (2016) encontraram resultados semelhantes.

A fim de unir as propriedades individuais e obter estruturas com melhor poder de regeneração óssea, vários estudos combinaram a quitosana com outros compostos (Tabela 1).

Tabela 1: Relação de estudos de combinações da quitosana com outros compostos.

ARTIGO	FORMA	LOCAL/ANIMAL	REGENERAÇÃO ÓSSEA
Spin-Neto et al. 2012	Cloridrato de Quitosana	Calvária de ratos	Não houve diferenças comparando-se com o grupo

			controle.
Azevedo et al. 2013	Fosfato de cálcio, quitosana e medula óssea	Tíbia de coelhos	Ótima regeneração óssea.
Chen et al. 2014	Scaffolds de vidro bioativo, quitosana, Carboximetilcelulos e	Côndilo Femoral de Coelhos	Desempenhou um papel dominante na regeneração óssea.
Jebahi et al. 2014	Agarose-quitosana	Côndilo femoral de coelhos	Apresentou-se efetivo no tratamento de traumas e regeneração óssea.
Koç et al. 2016	Scaffolds de quitosana, hidroxiapatita e células MC3T3-E1	Retalhos fasciovasculares epigástricos de ratos	Apresentou potencial para aplicações na regeneração óssea.
Chen et al. 2015	Compósito de quitosana, hidroxiapatita modificada adicionalmente pelo ácido Arginina-Glicina-Aspártico (RGD)	Rádio de coelhos	Apresentou propriedades osteointegrativas, representando um substituto ósseo promissor.
Marcondes et al. 2016	Compósito de quitosana, colágeno e hidroxiapatita	Metacarpo de ovinos	Apresentou-se como osteocondutor e com pequena atividade para regeneração óssea.
Oryan et al. 2016	Quitosana e gelatina	Rádio de ratos	Apresentou aumento significativo na formação de

			novo tecido ósseo.
Paretsis et al. 2017	Quitosana, hidroxiapatita e colágeno	Tíbia de ovinos	Manteve-se inerte sem poder de regeneração óssea além dos padrões.
Kuhl et al. 2017	Esferas de quitosana associadas com polimetilmetacrilato PMMA	Tíbias de coelhos	Não se integraram ao osso e não provocaram deposição de tecido ósseo.
Moraes et al. 2017	Biomembrana de quitosana-colágeno e scaffold contendo cimento de aluminato de cálcio.	Calvária de coelhos	Ambos apresentaram capacidade osteoindutora similar, estimulando o reparo ósseo.
Guo et al. 2019	Quitosana-magnésio	Calvária de Coelhos	Excelente atividade osteogênica.

Fonte: Autores.

Spin-neto et al. (2012) associando quitosana com cloridrato de quitosana em calvária de ratos, verificaram que não houve diferenças em comparação com grupo controle, onde foi usado apenas a quitosana. Resultados diferentes foram encontrados por Azevedo et al. (2013) ao analisarem fosfato de cálcio, quitosana e medula óssea em tíbia de coelhos e encontrarem, em análise histológica entre implante e osso, periósteo e endósteo desorganizados com atividade celular intensa, presença de osteoblastos, osteoclastos, neoformação vascular, tecido ósseo novo e grande quantidade de fibroblastos e células mesenquimais em processo de diferenciação, levando a crer junto à avaliação morfométrica, que a quitosana associada com tais compostos têm uma cicatrização elevada.

Chen et al. (2014) utilizando o composto vidro bioativo-quitosana-carboximetilcelulose (BG / CS / CMC) comparando com o controle cera óssea (Ethicon, EUA) aplicados em defeitos ósseos no côndilo femoral de coelhos, encontraram como resultados que no grupo BG / CS / CMC, o diâmetro do defeito apareceu reduzido após 9 semanas após a cirurgia, além da área interna do defeito também tornar-se ocupada por tecido

ósseo recém-formado. O defeito no grupo onde foi utilizada cera óssea cicatrizou gradualmente com o tempo, mas a quantidade de osso neoformado foi menor do que no grupo do BG / CS / CMC, além disso, o composto não apresentou citotoxicidade. Assim, o compósito BG / CS / CMC demonstrou ser uma alternativa ao uso da cera óssea. Os estudos de Sotoudeh, et al. (2012), Lin et al. (2015), Oryan et al. (2012) e Guo et al. (2019) também demonstraram que os grupos de tratamento apresentaram resultados satisfatórios sobre a regeneração óssea quando comparados aos grupos controles.

Koç, Elçin e Elçin, YM (2016), em estudo com ratos Wistar imunossuprimidos, testaram uma estrutura tridimensional macroporosa de quitosana/hidroxiapatita (CS/HA) carregando células osteoblásticas MC3T3-E1 derivadas da calvária de camundongos recém-nascidos e cultivadas em laboratório e verificaram que a estrutura apresentou histocompatibilidade. O material promoveu neovascularização e formação de matriz calcificada, demonstrada pela presença de cálcio que foi visualizada através da coloração de Von Kossa. Assim, a formação de tecido semelhante a osso foi observada dentro dos poros do suporte, indicando que o mesmo induziu um ambiente osteogênico e proporcionou um molde adequado para formato de tecido semelhante a osso ectópico subcutâneo em ratos. O estudo concluiu que o composto avaliado, tem potencial para aplicações na regeneração óssea, e que os compósitos de quitosana aumentaram a diferenciação de osteoblastos e a mineralização da matriz. Como material de enxerto ósseo, os modelos CS / HA permitiram que as células se proliferassem e expressassem suas funções específicas, induzindo a formação óssea e aumentando a ligação entre o tecido ósseo existente. A pesquisa revelou ainda que os pré-osteoblastos aderiram às superfícies do material, expressaram suas funções e mantiveram uma tendência de proliferação na estrutura composta CS / HA, fornecendo assim um ambiente citocompatível para engenharia óssea.

Marcondes et al. (2016), utilizando a quitosana associada com colágeno e hidroxiapatita em ovinos fêmeas com realização de ostectomias na face dorso-medial, do terço proximal das diáfises dos ossos III/IV metacarpianos, encontraram resultados inferiores ao grupo controle (loja cirúrgica sem preenchimento de biomaterial), demonstrando ser um osteocondutor. As análises histológicas encontraram células osteogênicas e com pequena atividade para regeneração óssea, apresentando trabéculas ósseas imaturas em meio a tecido conjuntivo frouxo; enquanto o grupo controle apresentou tecido ósseo neoformado adjacente ao osso pré-existente, exibiu inúmeras lacunas e espaços medulares preenchidos por tecido conjuntivo frouxo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Paretsis et al. (2017), ao implantarem um biomaterial à base de quitosana, hidroxapatita e colágeno em defeito ósseo em tíbia de ovinos, encontrando resultados sem diferenças de formação de matriz óssea no grupo onde utilizou o biomaterial quando comparado ao grupo controle, onde foi realizado a loja cirúrgica sem preenchimento de nenhum biomaterial. Os autores chegaram à conclusão que o biomaterial manteve-se inerte sem poder de regeneração óssea, embora tenham sido encontrados fragmentos de tecido ósseo em análises microscópicas, demonstrando a necessidade de realização de estudos mais avançados.

Em estudo recente, Rollim et al. (2019) implantaram esferas de quitosana associadas com polimetilmetacrilato (PMMA) em falhas ósseas confeccionadas em tíbias de coelhos. A justificativa para o uso do polimetilmetacrilato está no fato dele ser um biomaterial sintético biocompatível amplamente utilizado em procedimentos cirúrgicos ortopédicos para corrigir defeitos ósseos, tendo sido utilizado em associação com a quitosana para agregar propriedades individuais desejáveis (Raposo-do-Amaral CAA. et al. (2010), Moreira, Roberto et al. (2014). A avaliação radiográfica no pós-cirúrgico imediato e nos intervalos de 30, 60 e 90 dias do pós-operatório demonstrou que as esferas de quitosana não se integraram ao osso e não provocaram deposição de tecido ósseo de forma eficiente, bem como não sofreram processo de degradação para que fossem substituídas por osso. Além disso, foi observada osteointegração indireta no grupo controle contendo apenas o PMMA e não no grupo tratado com a associação da quitosana com o PMMA.

Moraes, et al. (2017), utilizaram *scaffolds* e membranas formadas pela associação de colágeno e quitosana, com aluminato de cálcio. Foram criados 4 defeitos ósseos na calvária de coelhos, de modo que o lado direito inferior foi preenchido com membrana, o direito superior com *scaffold*, o lado esquerdo superior foi preenchido com tecido ósseo do próprio animal e o esquerdo inferior foi deixado com seu próprio coágulo de sangue, sendo estes dois últimos, grupo controle. A biomembrana apresentou propriedades de neoformação óssea por volta de 30 dias, valores comparados ao grupo controle de enxerto autólogo, demonstrando ser um resultado positivo. Nas análises percebeu-se uma variação de infiltrado inflamatório, o que pode ser justificado pelo fato do aluminato de cálcio liberar íons de cálcio, o que estimula a diferenciação e migração de células ósseas; além de, com o tempo, estabilizar o pH do meio, deixando-o alcalino e melhorando as respostas de reparo. Garcia, Huck, Oliveira, Souza e Costa, (2014); Saghiri et al. (2015). No grupo onde as membranas foram utilizadas não houve diferença significativa no reparo ósseo nos intervalos de análises, já no grupo de *scaffold*, houve aumento significativo, talvez devido a sua estrutura tridimensional, maior porosidade e

quantidade de aluminato de cálcio na sua fase mineral, em comparação com a biomembrana. Células osteoprogenitoras foram capazes de se entrelaçar com o biomaterial, desencadeando proliferação fibroangioblástica intensa, acelerando o processo de reparo ósseo e neoformação. Isso nos leva a perceber o quanto as diferenças de composição podem interferir de forma positiva ou negativa na velocidade de reparo do tecido novo no processo de formação óssea. Logo, tais resultados tornam a biomembrana e andaime de quitosana contendo cimento de aluminato de cálcio promissores materiais coadjuvantes no tratamento de defeitos ósseos em diferentes áreas da odontologia.

4. Considerações Finais

As estruturas de quitosana isoladas ou associadas com outros materiais demonstraram grande potencial na indução da regeneração óssea, tendo em vista que na maioria dos estudos foi possível observar evidências de potencial para o mesmo. Em análises microscópicas, houve indícios de resposta inflamatória favorável juntamente com a atividade de células osteogênicas e fragmentos de tecido ósseo nos grupos onde a quitosana foi utilizada nas diversas apresentações.

Referências

- Azevedo, A. S., SÁ, M. J. C., Fook, M. V. L., Nóbrega, N. P. I., Sousa, O. B., & Azevedo, S. S. (2013) Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos: Estudo histológico e morfométrico. *Cienc. Rural*, 43 (7):1265-1270
- Bose, S., Roy, H., & Bandyopadhyay, A. (2012) Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. *Trends in biotechnology*, 30(10), 546-554.
- Chen, C., Li, H., Pan, J., Yan, Z., Yao, Y., Fan, W., & Guo, C. (2014) Biodegradable composite scaffolds of bioactiveglass/chitosan/carboxymethyl cellulose for hemostatic and bone regeneration. *Biotechnology letters*, 37(2):457-465.
- Enrione, J., Osorio, F., López, D., Weinstein-Oppenheim, C., Fuentes, M. A., Ceriani, R., Brown, D. I., Albornoz, F., Sánchez, E., Villalobos, P., Somoza, R. A., Young, M. E., &

Acevedo, C. A. (2010) Characterization of a Gelatin/Chitosan/Hyaluronanscaffold-polymer. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(5), 20-21.

Franco, L. O., Maia, R. C. C., Porto, A. L. F., Messias, A. S., Fukushima, K., & Campos-Takaki, G. M. (2004) Remoção de metais pesados por quitina e quitosana isolada de *Cunninghamella elegans* (IFM 46109). *Revista Brasileira de Microbiologia*, 35 (3), 243-247.

Garcia, L. F. R., Huck, C., Oliveira, L. M., Souza, P. P. C., & Costa, C. A. S. S. (2014) Biocompatibility of new calcium aluminate cement: tissue reaction and expression of inflammatory mediators and cytokines. *Journal of Endodontics*, 40 (12): 2024-2029.

Guo, Y., Yu, Y., Han, L., Ma, S., Zhao, J., Chen, H., Yang, Z., Zhang, F., Xia, Y. & Zhou, Y. (2019) Biocompatibility and osteogenic activity of guided bone regeneration membrane based on chitosan-coated magnesium alloy. *Materials Science and Engineering* 100: 226-235.

Keller, L., Regiel-Futyra, A., Gimenez, M., Eapa, S., Mendozad, G., & Andreud, V. Chitosan-based nanocomposites for the repair of bone defects. (2017) *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(7), 2231-2240.

Koç, A., Elçin, A. E., Elçin, Y. M. (2016) Ectopic osteogenic tissue formation by MC3T3-E1 cell-laden chitosan/hydroxyapatite composite scaffold. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(6), 1440-1447.

Lin, C., Baolin L., Xiao X., Qinggang, M., Wei, L., Qian Y., Jiaqi, B., & Zhiwei, Q. (2015) Preparation and evaluation of an Arg-Gly-Asp-modified chitosan/hydroxyapatite scaffold for application in bone tissue engineering. *Molecular medicine reports*, 12(5), 7263-7270.

Macedo, F. A., Nunes, E. H. M., Vasconcelos, W. L., Santos, R. A., Sinisterra, R. D. & Cortes, M. E. (2012) Andaime composto poroso biodegradável de PCL / BCP contendo Ang-(1-7) para engenharia de tecido ósseo. *Cerâmica*, 58 (348), 481-488.

Marcondes, G. M., Nóbrega, F. S., Corrêa, L., Chavez, V. E., Arana-Plepis, A. M. G., Martins, V. C. A. & Zoppa, A. L. V. (2016) Avaliação da interação biológica entre compósito

de quitosana, colágeno e hidroxiapatita e tecido ósseo ovino. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68(6), 1531-1538.

Moraes, P. C., Marques, I. C. S., Basso, F. G., Rossetto, H. L., Pires-de-Souza, F. C. P., Costa, C. A. S., & Garcia, L. F. R. (2017) Repair of Bone Defects with Chitosan-Collagen Biomembrane and Scaffold Containing Calcium Aluminate Cement. *Brazilian Dental Journal*, 28(3), 287-295.

Moreira, R. (2014) Aspecto radiológico e macroscópico de matriz óssea mineralizada heteróloga fragmentada e polimetilmetacrilato autoclavados em falha óssea de tíbia de coelho. Dissertação de mestrado, Universidade de Cuiabá, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Mourão, C. F. A. B., Valiense, H., Melo, E. R., Mourão, N. B. M. F. & Maia, M. D. C. (2015) Obtenção da fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF) e sua polimerização com enxerto ósseo: nota técnica. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 42(6), 421-423.

Oliveira, J. M., Costa, A. S., Leonor, I. B., Malafaya P. B., Mano, J. F., Reis, R. L. (2009) Novel hydroxyapatite/carboxymethyl chitosan composite scaffolds prepared through an innovative “autocatalytic” electroless coprecipitation route. *Journal of Biomedical Materials Research*, 88(2): 470-480.

Oryan, A., Alidadi, S., Bigham-Sadegh, A., & Moshiri, A. (2016) Comparative study on the role of gelatin, chitosan and their combination as tissue engineered scaffolds on healing and regeneration of critical sized bone defects: an in vivo study. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(10), 155.

Paretsis, N. F., Arana-Chavez, V. E., Correa, L., Peplis, A. M. G., Martins, V. C. A., Cortopassi, S. R. G., & Zoppa, A. L. V. (2017) Avaliação histológica e histomorfométrica da regeneração óssea a partir da utilização de biomateriais em tíbias de ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(12), 1537-1544.

Raposo-do-Amaral, C. A. A., Raposo-do-Amaral, C. E., Roland, F. G., Silva, J. V. L., Paschoal, G. H. L., & Silva, A. M. (2010) Implantes pré-fabricados customizados nas grandes perdas ósseas do esqueleto craniofacial. *Ver Soc Bras Cir Craniomaxilofac*, 3:175-179.

Rollim, V. M., Reginato, G. M., Fernandes, L. M., Arantes, J. A., Rigo, E. C. S., Vercik, L. C. O., Freitas, S. H., & Dória, R. G. S. (2019) Comportamento de diferentes tipos de membranas de quitosana implantadas em equinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39 (10), 837-842.

Saghiri, M. A., Orangi, J., Tanideh, N., Asatourian, A., Janghorban, K., Garcia- Godoy, F., & Nader, S. (2015) Repair of bone defect by nano-modified white mineral trioxide aggregates in rabbit: A histopathological study. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 20:525-531.

Santana, C. C., Nóbrega Neto, P. I., Sá, M. J. C., Oliveira, L. M., Fook, M. V. L., Azevedo, A. S., & Sousa, O. B. (2014) Utilização do filme de quitosana na reparação de tendão em coelhos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66(4), 995-1002.

Sinhoreti, M. A. C., Vitti, R. P., & Sobrinho, L. C. (2013) Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. *Revista da Associação Paulista de Cirurgios Dentistas*, 66 (3):178-186.

Sotoudeh, A., Jahanshahi, G., Jahanshahi, A., Takhtfooladi, M. A., Shabani, I., & Soleimani, M. (2012) Combinação de nanofibra de ácido poli L-láctico com enxerto de omento para cicatrização óssea em defeito experimental em tibia de coelhos. *Acta Cirurgica Brasileira*, 27 (10), 694-701.

Spin-Neto, R., Coletti, F. L., Freitas, R. M., Pavone, C., Campana-Filho, S. P., & Marcantonio, R. A. C. (2012) Biomateriais à base de quitosana usados em defeitos ósseos de tamanho crítico: estudo radiográfico na calvária de ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, 41 (5), 312-317.

Zhang, D., Wu, X., Chen, J., & Lin, K. (2018) The development of collagen based composite scaffolds for bone regeneration. *Bioactive materials*, 3 (1):129-138.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Rosana Araújo Rosendo – 10%

Allan Alves Andrade – 10%

Ana Beatriz Maximo Figueiredo -10%

André Higor dos Santos Tavares – 10%

Débora Lais de Sousa Castro – 10%

Rafael Rodrigues de Siqueira – 10%

Antonielson dos Santos – 10%

Mikaelly Fernanda de Medeiros – 10%

Elizandra Silva da Penha – 10%

Luanna Abilio Diniz Melquiades de Medeiros – 10%