



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO

**Utilização de quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, na
regeneração óssea em coelhos**

**PATOS-PB
2013**

ADÍLIO SANTOS DE AZEVEDO

Utilização de quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, na regeneração óssea em coelhos

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG em cumprimento do requisito necessário para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Orientador

PATOS-PB
2013



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

A994u

Azevedo, Adílio Santos de

Utilização de quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, na regeneração óssea em coelhos. – Patos, 2013.

99 f.: il. color.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto”

Referências.

1. Biomateriais. 2. Biopolímeros. 3. Fosfatos de cálcio. I. Título.

CDU 619:636.92

BANCA EXAMINADORA

Nome: AZEVEDO, Adílio Santos de

Título: Utilização de quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, na regeneração óssea em coelhos

DATA: ____ / ____ / ____.

Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto - UFCG/Patos-PB
Orientador

Prof. Dr. Luiz Eduardo Carvalho Buquera – UFPB/Areia-PB

Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa – UFCG/Campina Grande-PB

Prof. Dr. João Moreira da Costa Neto – UFBA/Salvador-BA

Prof. Dr. Danilo José Ayres de Menezes – UFCG/Patos-PB

*“Enxugará toda lágrima de
seus olhos e já não haverá
morte, nem luto, nem grito,
nem dor, porque passou a
primeira condição.”*

Apocalipse – 21:4

AGRADECIMENTOS

Ao Deus pai eterno e todo poderoso, que está fora do tempo e do espaço e que nossa mente tão pequena e pobre ainda não tem condições de compreender um ser superior que rege tudo e todos no céu e na terra.

Ao Nosso Senhor Jesus Cristo, verdadeiro Deus, verdadeiro Homem, que veio a terra para criar uma nova aliança com nós homens e que afaga todas nossas dores e nossos fardos diários. Ele que sofreu por todos nós em uma morte e morte de cruz. Ridicularizado e humilhado como uma ovelha que vai ao matadouro. Porém não abriu a boca. Homem das dores e experimentado no sofrimento. Foi esmagado por causa de nossos pecados e castigado por causa de nossos crimes. O castigo que nos salvou pesou sobre ele. Fomos curados graças as suas chagas.

Ao Espírito Santo que ilumina nossa mente e dá sabedoria ao nosso coração, mantendo-nos sempre no caminho correto e trilhando rumo ao horizonte da paz.

A minha mãe que tanto amo, mulher guerreira e que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos. Dedico com todo coração todas as minhas vitórias a ti. Tu és um espelho de vida, amor e humildade para mim.

Ao meu irmão, que tanto amo e tenho orgulho. Serve sempre de espelho para mim, não só como pessoa, mas também como profissional.

Ao meu Pai, que as mágoas do passado foram curadas e sei da importância que tens para mim. Meu amor está contigo.

Aos meus familiares vivos e já falecidos. Todos vocês contribuíram direta ou indiretamente para eu trilhar até esse momento.

Ao meu avô Nenê (*in memoriam*) Paum como chamava carinhosamente. Homem com espírito elevado, com compreensão diferenciada. Foi um exemplo de pai, marido, irmão, avó. Nesses últimos tempos tenho sentido muita saudade de você vovô. Mas sei que nos encontraremos um dia.

A minha noiva Ana Clara, que entrou em minha vida e tem um papel fundamental em tudo. Meu amor é seu e caminharemos juntos nas batalhas diárias.

Aos meus orientadores Pedro e Marcelo, a quem devo muito por tudo que aprendi e pelo crédito que vocês depositaram em mim. Ficarei muito agradecido sempre por todos os momentos que passamos juntos e que iremos passar, não só profissionalmente, mas também cotidianamente.

Aos meus amigos, aos funcionários da UFCG e IFPB, aos colegas professores do IFPB e todos os meus professores e colegas da UFCG Campus Patos. Aqui será sempre minha casa que guardarei no meu coração com tanto amor e carinho.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o processo de regeneração óssea em coelhos através do uso de biopolímeros e fosfatos de cálcio em dois experimentos distintos. Foram utilizados coelhos adultos, de ambos os sexos da raça Nova Zelândia. Os animais foram divididos ao acaso em momentos de acordo com a experimentação. Foram realizadas perfurações em ambas as tíbias, e introduzidos os implantes de acordo com cada experimento e comparados com grupo controle. Foi realizada avaliação tomográfica para comparar o processo de cicatrização óssea através da radiodensidade das lesões no tecido ósseo. Na avaliação histológica descritiva comparativa, constatou-se que todos os tratamentos, em todos os momentos, estimularam reações mais acentuadas e aceleraram o reparo ósseo. Na análise morfométrica, todos os tratamentos induziram formação óssea significativamente maior que o grupo controle ($p < 0,05$) e na avaliação de microscopia eletrônica de varredura, o grupo tratado apresentou maior neoformação óssea que o grupo controle. Conclui-se que os biomateriais utilizados nos experimentos desta tese induzem neoformação óssea maior que o grupo controle.

Palavras chave: Biomateriais, biopolímeros, fosfatos de cálcio, implantes, cirurgia experimental.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the process of bone regeneration in rabbits by the use biopolymers and calcium phosphate in two separate experiments. Adult rabbits of both sexes, of New Zealand race. Animals were randomly divided according to experimental moments. Were made perforations both tibias and were introduced implants according to each experiment and compared with the control group. Computed tomography evaluation was conducted to compare the healing process through the radiodensity of bone lesions in bone tissue. The histological comparative descriptive, it was found that all treatments, at all times, stimulated reactions more pronounced and accelerated bone repair. In the morphometric analysis, all treatments induced bone formation significantly higher than the control group ($p < 0.05$) and in the evaluation of scanning electron microscopy, the treated group showed greater bone neoformation than the control group. It is conclude that biomaterials used in the experiments of this thesis induce bone formation greater than the control group.

Keywords: biomaterials, biopolymers, calcium phosphates, implants, experimental surgery.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO.....	15
REFERÊNCIAS.....	17
Capítulo I - Quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, usados no processo de regeneração óssea: artigo de revisão.....	20
Resumo.....	21
Abstract.....	34
INTRODUÇÃO.....	22
REVISÃO DE LITERATURA.....	23
BIOPOLÍMEROS.....	23
Quitosana.....	23
Gelatina.....	25
CERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO.....	26
Hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio.....	26
CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS.....	29
Capítulo II - Utilização de quitosana e β -trifosfato de cálcio, isolados e associados, no reparo ósseo em coelhos.....	35
Resumo.....	36
Abstract.....	37
INTRODUÇÃO.....	38

MATERIAL E MÉTODOS.....	39
RESULTADOS.....	43
DISCUSSÃO.....	45
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
Figuras.....	50
Capítulo III - Uso do compósito formado por quitosana, hidroxiapatita e gelatina na regeneração do tecido ósseo em coelhos.	
.....	54
Resumo.....	55
Abstract.....	56
INTRODUÇÃO.....	58
MATERIAL E MÉTODOS.....	60
RESULTADOS.....	65
DISCUSSÃO.....	65
CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
FIGURAS.....	72
ANEXO.....	75

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1** Unidades de glicosaminas na estrutura química da quitosana com grau de desacetilação acima de 60 %. Figura utilizada do trabalho de GONSALVES et al. (2011)..... 24
- Figura 2** Utilização clínica de fosfato de cálcio. A – Fratura distal de fêmur esquerdo em cão; B – Redução da fratura utilizando placa óssea bloqueada de reconstrução; C – Utilização de β -trifosfato de cálcio em pó no foco da fratura. Fonte pessoal, 2013..... 27

Capítulo II

- Figura 1** Média e desvio padrão da radiodensidade em Hounsfield unidades (HU), da area osteotomizada que recebeu os tratamentos (C = controle; QUI = Quitosana; QUI + TCP = quitosana associada ao β -fosfato tricálcio, TCP = β -fosfato tricálcio)..... 50

Figura 2 Avaliação histológica descritiva aos 45 dias. A (grupo controle) - círculo vermelho indicando local osteotomizado preenchido por osso imaturo neoformado. B (grupo QUI) - círculo vermelho mostrando a implantação da quitosana cercado por reação celular intensa e setas escuras mostrando vasos sanguíneos. C (grupo TCP) - círculo vermelho indicando local osteotomizado preenchido por tecido ósseo neoformado. D (TCP + grupo QUI) - círculo vermelho indicando local da osteotomia com reação celular intensa ao redor do implante e círculo preto identificando área osteomizada preenchido por tecido ósseo neoformado. Obj. 4x..... 51

Figura 3 Avaliação histológica descritiva aos 90 dias. A (grupo C) - círculo vermelho indicando local osteotomizado preenchido por osso imaturo neoformado, com pouca reação celular. B (grupo QUI) - círculo vermelho mostrando a implantação da quitosana cercado por reação celular intensa e círculo escuro mostrando grande quantidade de osso neoformado. C (grupo TCP) - círculo vermelho indicando local osteotomizado preenchido por osso neoformado em processo de organização. D (grupo TCP + QUI) - círculo vermelho indica o local da osteotomia preenchido por osso neoformado, já em processo de organização, e setas pretas mostram reação celular. Obj. 4x..... 52

Figura 4 Média e desvio padrão da area em mm², de tecido ósseo neoformado na interface osso/implante de acordo com o tratamento empregado (grupo C; QUI; QUI + TCP; TCP)..... 53

Capítulo III

Figura 1 A. Setas pretas indicando os osteoblastos na região de osso neoformado do grupo controle Obj 40X. B. Círculo preto indicando o biomaterial e setas pretas indicando osteoblastos ativos em grande quantidade. Obj. 10X..... 72

Figura 2 A. Círculo preto indicando local da osteotomia preenchido por osso neoformado no grupo controle. B. Círculo preto indicando o biomaterial com grande intensidade de tecido ósseo neoformado em volta do compósito no grupo QHG. Obj. 5X..... 72

Figura 3 Neoformação óssea, em μm^2 , na metáfise tibial de coelhos de acordo com os grupos..... 73

Figura 4 Círculo vermelho indicando local da osteotomia preenchido por osso neoformado no grupo controle e no grupo QHG. Setas vermelhas indicando osso neoformado. Notar preenchimento completo da osteotomia no grupo QHG em relação ao grupo C. MEV 50X..... 73

Figura 5 Avaliação de EDS comparando o grupo QHG com o grupo C. Notar que no grupo QHG há presença de Nitrogênio, indicando presença do compósito na área de avaliação. Nota-se também que a percentagem de íons Ca e P no grupo QHG é maior em comparação ao grupo C..... 74

INTRODUÇÃO

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

A associação de áreas médicas com áreas tecnológicas vem ganhando cada vez mais respaldo e importância no meio científico, visando proporcionar terapias cada vez mais inovadoras e capazes de tratar de forma mais eficaz os pacientes, diminuindo assim problemas inerentes às lesões específicas de tecidos e órgãos, sendo essa multidisciplinaridade uma grande alternativa nos meios médicos. Nesse contexto, uma grande área foi desenvolvida pela junção da medicina com a engenharia de materiais, sendo essa associação chamada de engenharia de tecidos. O propósito da engenharia de tecidos é desenvolver materiais compatíveis com o meio orgânico, podendo substituir ou agir como adjuvante no tratamento de lesões de vários tecidos e órgãos, inclusive o tecido ósseo (KHAN & PEH, 2003; ROHANIZADEH et al., 2008; CAMARGO et al., 2009).

Entre os biomateriais desenvolvidos e utilizados de forma satisfatória para a regeneração do tecido ósseo, podemos citar os biopolímeros e os fosfatos de cálcio (AZEVEDO et al., 2013). Entre os vários biopolímeros que vêm sendo estudados com ênfase na comunidade científica, os que vêm merecendo destaque são a quitosana e a gelatina (UENO et al., 2001; KHAN et al., 2012), que se apresentam como materiais biocompatíveis e biotoleráveis (FROHBERGH et al., 2012; HAFEZI et al., 2012). Atuam com carreadores e aceleram o processo de osteogênese por vários fatores de estimulação celular, principalmente a osteoindução de células mesenquimais indiferenciadas contidas no tecido ósseo em osteoblastos, acelerando dessa forma a osteogênese (ROHANIZADEH et al., 2008; AZEVEDO et al., 2013).

Os fosfatos de cálcio que merecem destaque na engenharia de tecidos, que são bem conhecidos e aplicados na cirurgia óssea, podemos respaldar a hidroxiapatita e o β -trifosfato de cálcio, que atuam como substrato para células do tecido ósseo produzirem

26 osteóide em maior quantidade e assim acelerar a reparação desse tecido (AZEVEDO et
27 al., 2012). Dessa forma são caracterizados apenas como materiais osteocondutores, que
28 estimulam o crescimento de vasos sanguíneos no local implantado, sendo absorvido e
29 substituído gradativamente por tecido ósseo do próprio paciente, sendo esse processo
30 chamado de osteotransdução (COSTA et al., 2013). Esse processo depende da relação
31 estequiométrica de cálcio e fósforo que compõe o biomaterial (GUSTALDI e
32 APARECIDA, 2010). Também se apresentam biocompatíveis e atóxicos (LEGEROS,
33 2002). Como as características físico-químicas dos fosfatos de cálcio são bem
34 semelhantes à fase mineral do tecido ósseo, estes não induzem reação de rejeição, sendo
35 assim alternativa viável para repor segmentos ósseos perdidos em traumas e podem ser
36 utilizados em várias situações em que se deseje uma cicatrização óssea mais rápida
37 (GUSTALDI e APARECIDA, 2010).

38 O objetivo da presente tese foi estudar o processo de regeneração óssea com a
39 utilização de diferentes biomateriais, por meio de uma revisão de literatura acerca do
40 tema e da experimentação científica, em coelhos, para avaliar a aplicabilidade de
41 biopolímeros e cerâmicas de fosfatos de cálcio no processo de osteogênese.

42

43

44

45

46

47

48

49

REFERÊNCIAS

50

51

52 AZEVEDO, A. S.; SA, M. J. C.; COSTA NETO, P. I.; FOOK, M. V. L.; PORTELA, R.
53 A.; AZEVEDO, S. S. Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na
54 regeneração do tecido ósseo de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e
55 histológico. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 49, p. 12-18, 2012.

56

57 AZEVEDO, A. S.; SA, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; NOBREGA NETO, P. I.; SOUSA,
58 O. B.; AZEVEDO, S. S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula
59 óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico.
60 **Ciência Rural.** v. 43, p. 1265-1270, 2013.

61

62 CAMARGO, N. H. A.; DELIMA, S. A.; AGUIAR, J. F.; GEMELLI, E.; TOMIYAMA,
63 M. Synthesis and Characterization of Nanostructures Calcium Phosphates Powders and
64 Calcium Phosphates/-Al₂O₃ Nanocomposites. **Journal of Advanced Materials.** vol.
65 41, p. 33-43, 2009.

66

67 COSTA, D. O.; PROWSE, P. D. H.; CHRONES, T.; SIMS, S. M.; HAMILTON, D.
68 W.; RIZKALLA, A. S.; DIXON, S. J. The differential regulation of osteoblast and
69 osteoclast activity by surface topography of hydroxyapatite coatings. **Biomaterials.**
70 v.xxx, p. 1-12, 2013.

71

72 FROHBERGH, M. E.; KATSMAN, A.; BOTTA, G. P.; LAZAROVICI, P.;
73 SCHAUER, C. L.; WEGST, U. G. K.; LELKES, P. I. Electrospun hydroxyapatite-
74 containing chitosan nanofiberscrosslinked with genipin for bone tissue engineering.
75 **Biomaterials.** v. 33, 9167-9178, 2012.

76

77 GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. FOSFATOS DE CÁLCIO DE INTERESSE
78 BIOLÓGICO: IMPORTÂNCIA COMO BIOMATERIAIS, PROPRIEDADES E
79 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE RECOBRIMENTOS. *Química Nova*. v. 33, n. 6, p.
80 1352-1358, 2010.

81

82 HAFEZI, F.; HOSSEINNEJAD, F.; FOOLADI, A. A. I.; MAFI, S. M.; AMIRI, A.;
83 NOURANI, M. R. Transplantation of nano-bioglass/gelatin scaffold in a non-
84 autogenous setting for bone regeneration in a rabbit ulna. *J Mater Sci*. v. 23, p. 2783-
85 2792, 2012.

86

87 KHAN, M. N.; ISLAM, J. M. M.; KHAN, M. A. Fabrication and characterization of
88 gelatin-based biocompatible porous composite scaffold for bone tissue
89 engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. v. 100, p. 3020-3028,
90 2012.

91

92 KHAN, T. A.; PEH, K. K. A preliminary investigation of chitosan film as dressing for
93 punch biopsy wounds in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*. v. 6, p.
94 20-26, 2003.

95

96 LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates.
97 *Clinical Orthopaedics and Related Research*. v. 395, p. 201-209, 2002.

98

99 ROHANIZADEH, R.; MICHAEL V. SWAIN, M. V.; REBECCA S. MASON, R.
100 S. Gelatin sponges (Gelfoam) as a scaffold for osteoblasts. *J MaterSci: Mater Med*. v.
101 19, p. 1173-1182, 2008.

102

103 UENO, H.; NAKAMURA, F.; MURAKAMI, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.;
104 FUJINAGA, T. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by
105 fibroblasts and the growth factors production by macrophages. **Biomaterials**. v. 22, p.
106 2125-2130, 2001.

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158

CAPÍTULO I

Quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, usados no processo de regeneração óssea: artigo de revisão

Artigo submetido à revista científica MedVep, com ID 001289, enviado na data de 05 de Novembro de 2013.

159 **Quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, usados no processo de regeneração**
160 **óssea: artigo de revisão**

161

162 **Chitosan, gelatin, hydroxyapatite and β - calcium triphosphate, used in the process of bone**
163 **regeneration: review article**

164

165 **Adílio Santos de AZEVEDO¹ Marcelo Jorge Cavalcanti de SÁ² Pedro Isidro da NÓBREGA NETO²**

166

167

168 **RESUMO**

169 O objetivo da presente revisão é compilar informações acerca do uso de biopolímeros e fosfatos de cálcio
170 no processo de regeneração óssea. Dentre os biopolímeros que merecem destaque pode-se citar a
171 quitosana pelo seu potencial osteoindutor e a gelatina, mais recentemente estudada no processo de
172 reparação óssea, servindo com carreador. Os fosfatos de cálcio mais estudados e que merecem posição de
173 destaque são a hidroxiapatita e o β -trifosfato de cálcio. Sabe-se que ambos apresentam capacidade de
174 osteocondução e servem de substrato para acclerar a cicatrização de defeitos ósseos. Esses biomateriais
175 são alternativa viável no processo de osteogênese, promovendo regeneração óssea mais acelerada para os
176 pacientes.

177 **Palavras chave:** Biomateriais, biopolímeros, fosfatos de cálcio.

178

¹ Discente de doutorado do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, 58700-970, Patos, PB, Brasil. E-mail: adilio_vet@yahoo.com.br. *Autor para correspondência.

²Professor Doutor do curso de Medicina Veterinária da UAMV, CSTR, UFCG, campus Patos-PB. E-mail: mjcdesa@gmail.com; pedroisidro@ymail.com.

179 INTRODUÇÃO

180 A utilização de biomateriais em áreas médicas vem ganhando cada vez mais espaço e destaque, uma
181 vez que possibilitam aos pacientes a cura mais rápida das possíveis lesões que acometem tecidos e órgãos,
182 podendo esses materiais, serem a melhor opção no tratamento destas lesões. Essa interdisciplinaridade
183 entre áreas tecnológicas e medicina é chamada de engenharia de tecidos, que tem por objetivo
184 desenvolver terapias cada vez mais eficazes para a promoção da saúde dos pacientes. Vários são os
185 biomateriais utilizados com o intuito de reparar uma determinada lesão e até mesmo acelerar o processo
186 de regeneração tecidual. Dentre os biomateriais mais estudados e utilizados em meios orgânicos, podem-
187 se citar os biopolímeros e os fosfatos de cálcio. Nas últimas décadas, essas duas classes de biomateriais
188 vêm sendo muito utilizadas e estudadas no processo de osteogênese, uma vez que os experimentos
189 indicam que estes atuam acelerando a cicatrização de lesões do tecido ósseo ^{1, 2, 3}.

190 A disponibilidade de biopolímeros e fosfatos de cálcio no mercado para uso em procedimentos
191 cirúrgicos reparadores do tecido ósseo, seja na Medicina, na Medicina Veterinária ou Odontologia é de
192 grande importância, pois além de prontos para uso, não induzem reação de rejeição, não levam risco à
193 transmissão de doenças e são ilimitados, diferentemente dos enxertos ósseos que além da limitação de
194 todos os fatores citados, aumentam o tempo e risco cirúrgico para a sua obtenção e podem predispor os
195 pacientes a riscos de morbidade no local da coleta do enxerto ^{4, 5, 6}.

196 Pelas investigações e estudos acerca da utilização dos biomateriais na regeneração do tecido ósseo e
197 a comprovação quanto à cicatrização das lesões neste tecido, o objetivo da presente revisão é compilar
198 dados a respeito do mecanismo de ação da quitosana, gelatina, hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, e
199 mostrar a aplicabilidade desses biomateriais e suas capacidades de promover o processo de osteogênese.

200

201

202

203

204

205

206

207

208 **REVISÃO DE LITERATURA**

209

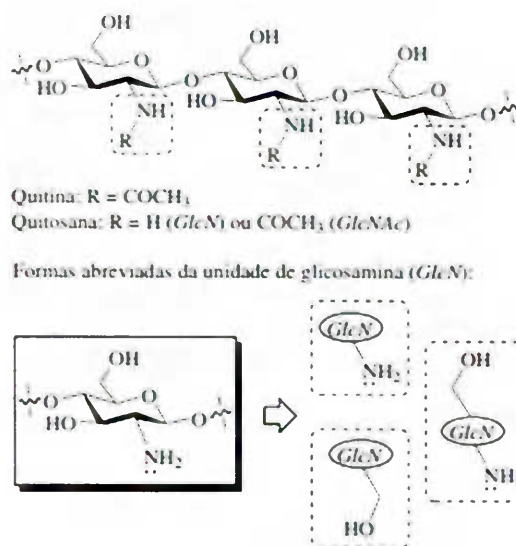
210 **BIOPOLÍMEROS**211 **Quitosana**

212 Entre o grupo de biopolímeros muito estudados e que merecem destaque pela grande capacidade em
213 estimular e acelerar a cicatrização de vários tecidos pode-se citar a quitosana, que é obtida a partir do
214 processo da desacetilação da quitina, que é o segundo biopolímero mais abundante na natureza, perdendo
215 apenas para a celulose, sendo esse biopolímero encontrado abundantemente na natureza, principalmente
216 na carapaça dos crustáceos^{7,8,9}.

217 A quitosana tem ampla aplicação nas áreas médicas e muitos estudos já foram realizados e outros
218 tantos estão sendo conduzidos para demonstrar a capacidade de promover o reparo de lesões, incluindo
219 lesões do tecido ósseo, apresentando grande potencial para aplicabilidade na engenharia de tecidos⁷.

220 Apresenta fórmula química composta por unidades estruturais de 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose
221 unidas por ligações glicosídicas β (1 \rightarrow 4), que após a desacetilação da quitina apresenta em sua estrutura
222 unidades D-glicosamina (Figura 1), que compõe a matriz extracelular dos tecidos orgânicos inclusive o
223 tecido ósseo^{10,9}. Sua característica policatiônica é a responsável pela sua ligação com produtos e
224 substâncias orgânicas aniônicas, interagindo por ligações eletroestáticas e estimulando as células da
225 reparação tecidual a liberarem fatores indutores e citocinas, estimulando a citodiferenciação e
226 promovendo a cicatrização tecidual.

227 Outro fato importante está relacionado com a natureza da quitosana, que se liga as
228 glicosaminoglicanas presentes na matriz extracelular dos tecidos orgânicos, favorecendo com que haja
229 incorporação do biomaterial ao tecido e dessa forma possa ocorrer a colonização de células e induzir
230 respostas cicatriciais mais rápidas, evidenciando sua biocompatibilidade e importância quanto a
231 utilização como biomaterial¹¹.



232

233

234

Figura 1: Unidades de glicosaminas na estrutura química da quitosana com grau de desacetilação acima de 60 %.
 Figura utilizada do trabalho de GONSALVES et al. (2011).

235

236

237

238

239

240

Estudos *in vitro* demonstram a capacidade osteoindutora da quitosana, caracterizando-a como um material que atua na citodiferenciação celular e acelera o processo de osteogênese. Foi demonstrado *in vitro* a capacidade de bioatividade osteoindutora de compósitos a base de quitosana pela capacidade de proliferação osteoblástica². Também foi demonstrado que a quitosana não estimula diretamente a formação da matriz extracelular dos tecidos, porém atua estimulando os macrófagos a liberarem fatores indutores da inflamação, acelerando a regeneração tecidual¹⁰.

241

242

243

244

245

246

247

Os estudos atuais sugerem que a quitosana em meio orgânico, inclusive no tecido ósseo, atua estimulando sua ligação com os macrófagos, que por sua vez promove a liberação de fatores indutores inflamatórios, tais como fator de crescimento transformador (TGF), fator de necrose tumoral (TNF) e citocinas (principalmente interleucinas 1, 6 e 8), favorecendo a produção e deposição de matriz extracelular no foco da lesão onde o biomaterial foi implantado. Essa ligação é mediada por receptores de superfície dos macrófagos, que são receptores glicoproteicos, os quais interagem com a molécula química da quitosana e ativam os macrófagos, acelerando o processo de cicatrização óssea^{10,12}.

248

249

250

Em um estudo utilizando quitosana em coelhos, foi evidenciado por meio do estudo histológico que havia muita celularidade na interface osso/implante, principalmente osteoblastos ativos, osteoclastos e células mesenquimais em diferenciação, tanto aos 30 como aos 60 dias pós-implante. Também se

251 constatou por meio da análise morfométrica das lâminas, na interface osso/implante que continha
252 quitosana, houve um aumento significativo de osso neoformado, tendo esse biomaterial acelerado o
253 processo de osteogênese³. Em outro estudo foi concluído que a quitosana atua acelerando a reparação
254 óssea em coelhos em avaliações que duraram 24 semanas¹³. Em estudo sobre neoformação óssea
255 utilizando compósito à base de hidroxiapatita e quitosana associado a células-tronco, em ratos, ficou
256 evidenciado que além de promover a proliferação celular óssea, essa associação induziu também aumento
257 significativo na quantidade de tecido ósseo neoformado¹⁴. Em cães, foi observado experimentalmente que
258 a utilização de quitosana induziu e potencializou a neoformação óssea nos tecidos ósseos periodontais.
259 Então além de poder ser utilizada isoladamente no tecido ósseo lesionado, a quitosana pode compor
260 biocompósitos para acelerar o processo de osteogênese¹⁵.

261 Gelatina

262 A gelatina é um biopolímero oriundo de proteínas colagenosas, sendo estas compostas
263 principalmente por prolina, hidroxiprolina e glicina, e que estão contidas em quase todos os tecidos e
264 órgãos, inclusive no osso. Vem sendo estudada e usada há algumas décadas em várias áreas, tais como
265 alimentícia, farmacêutica, cosmética e mais recentemente vem sendo alvo de estudo na engenharia de
266 tecidos, associada a outros biomateriais, com o intuito de favorecer o processo de cicatrização óssea^{16, 17,}
267 ¹⁸.

268 Apresenta-se como material biocompatível, biodegradável e atóxico, atuando como suporte para a
269 agregação e crescimento celular e na liberação controlada de substâncias¹⁹. Atua favorecendo a
270 proliferação de fibroblastos, os quais produzem colágeno, acelerando o processo de cicatrização das
271 feridas²⁰. Sua estrutura química é aniônica, favorecendo a atração de íons cálcio e fosfatos para ligação
272 molecular, tendo sido observada a biomineralização da gelatina²¹, apresentando-se um material bioativo,
273 por sua completa calcificação do filme empregado.

274 Vários são os biomateriais associados à gelatina com o objetivo de melhorar suas propriedades
275 físico-químicas e auxiliar no processo de resistência e absorção do compósito^{22,23}. Entre os biomateriais
276 que são associados à gelatina, podem-se citar os fosfatos de cálcio e outros biopolímeros^{24,25,26,27}.

277 Em um estudo *in vitro*, foi desenvolvido um compósito à base de gelatina, quitosana e fosfatos de
278 cálcio. Os autores concluíram que o biocompósito empregado apresentava resistência mecânica e

279 densidade adequada, era atóxico e biocompatível, e recomendaram o uso na engenharia de tecidos para
280 promover a regeneração do tecido ósseo²⁸.

281 Noutro estudo, observou-se que a gelatina é um ótimo meio de liberação controlada de fator de
282 crescimento e que seu uso no compósito empregado favoreceu a proliferação fibroblástica, acelerando o
283 processo de cicatrização tecidual²⁹. Já no estudo utilizando compósito formado por gelatina e
284 hidroxiapatita, observou-se ligação e proliferação osteoblástica de forma satisfatória, apresentando grande
285 potencial como material a ser usado para reparação óssea³⁰. Pesquisas observaram que a gelatina
286 favorece a ligação de íons cálcio presente na hidroxiapatita, sendo esse biocompósito uma alternativa
287 eficaz para promover a osteogênese em lesões ósseas³¹.

288 FOSFATOS DE CÁLCIO

289 Hidroxiapatita e β -Trifosfato de Cálcio

290 Os fosfatos de cálcio mais estudados e utilizados para reparação óssea tanto na medicina humana
291 quanto na medicina veterinária e odontologia, e que merecem destaque por suas capacidades de
292 interagirem com o tecido ósseo são a hidroxiapatita (HA) e o β -trifosfato de cálcio (TCP)^{1,32}. Apresentam
293 formulação química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ respectivamente. A relação molar cálcio/fósforo (Ca/P)
294 da HA é de 1,67 e do TCP é de 1,5, sendo essa proporção importante no requisito de solubilidade e
295 densidade dos materiais, pois quanto menor ela for maior será a solubilidade e menor será a densidade da
296 biocerâmica, sendo o contrário verdadeiro, alterando dessa forma a capacidade de absorção desses
297 biomateriais⁴. Outra característica importante é a porosidade do biomaterial, pois quanto maior a
298 porosidade, menos denso e mais rapidamente absorvível é o material. A porosidade é importante também
299 para o processo de osteocondução, uma vez que entre os poros crescem tecidos orgânicos como vasos
300 sanguíneos, além de promover adesão celular e propiciar um entrelaçamento com o tecido do paciente,
301 para que a biocerâmica possa ser absorvida e o osteóide seja depositado em seu lugar, processo esse
302 conhecido como osteotransdução^{33,34}.

303 A HA com razão molar Ca/P 1,67 é a cerâmica de fosfato de cálcio mais estudada nas áreas médicas
304 como substituto ósseo, porém sua biodegradação é lenta, apresentando dessa forma uso clínico limitado.
305 Estudos indicam que sua reabsorção é gradativa e começa quatro ou cinco anos após implantação. Já o
306 TCP com razão molar Ca/P 1,5 apresenta biodegradação mais rápida que a HA e vem sendo alvo de

307 muitos estudos, em que estes apontam que sua reabsorção começa entre seis e quinze semanas pós-
308 implantação, apresentando velocidade de absorção desejável, podendo ser uma ótima alternativa como
309 material promotor da osteogênese em traumatologia (Figura 2). Mais recentemente vem sendo estudado a
310 mistura da HA com o TCP conhecido como cerâmicas bifásicas, reduzindo dessa forma o tempo de
311 biodegradação. São considerados biocompatíveis e bioativos^{4,35}. Essas características devem-se à
312 semelhança da formulação físico-química destes fosfatos de cálcio com a parte inorgânica do osso, já que
313 os mesmos são compostos quase que exclusivamente de cálcio e fósforo⁶. Dessa forma esse tipo de
314 implante serve como substrato, disponibilizando íons cálcio e fósforo para que os osteoblastos produzam
315 matriz óssea pela absorção osteoclástica, e assim possa acelerar o processo de osteogênese pela sua
316 capacidade de osteocondução^{32,36}.



317

318 **Figura 2:** Utilização clínica de fosfato de cálcio. A – Fratura distal de fêmur esquerdo em cão; B –
319 Redução da fratura utilizando placa óssea bloqueada de reconstrução; C – Utilização de β -trifosfato de
320 cálcio em pó no foco da fratura. Fonte pessoal, 2013.

320 Os estudos *in vitro* mostram que o processo de absorção dos fosfatos de cálcio é mediado
321 principalmente pelos osteoclastos, os quais promovem um microambiente acidificado, que dessa forma
322 promove a absorção do biomaterial. Esse processo foi observado em um estudo *in vitro* que a absorção
323 das cerâmicas de fosfatos de cálcio era realizada pelos osteoclastos cultivados, onde o microambiente
324 apresentava um pH mais ácido que o pH fisiológico, favorecendo assim o processo de absorção³⁷. Outro
325 estudo *in vitro* mostrou a absorção de HA e TCP pelos osteoclastos e mineralização por parte dos
326 osteoblastos, tendo sido também utilizado modelo animal *in vivo* no qual foi evidenciado osteointegração
327 dos implantes ao tecido ósseo das cobaias, com osteoblastos ativos e lacunas ósseas, evidenciando a
328 presença da absorção osteoclástica³⁸, comprovando assim a biocompatibilidade desses fosfatos de cálcio
329 em contato com meio biológico.

330 Em estudos utilizando hidroxiapatita, evidenciou-se excelente biocompatibilidade do implante e
331 aceleração do processo de regeneração do tecido ósseo em relação ao grupo controle¹. Em outro estudo
332 utilizando vários fosfatos de cálcio, ficou evidenciado que a hidroxiapatita associada ao trifosfato de
333 cálcio estimula um processo de neoformação óssea em maior quantidade que outros tratamentos aos 30
334 dias de observação³². Em um estudo para reparar defeitos periodontais em cães utilizando na composição
335 do composto fosfato de cálcio bifásico, ficou evidenciado que houve a regeneração do defeito com
336 completa reabilitação dos pacientes³⁹. Em estudo utilizando histologia e microscopia eletrônica de
337 transmissão, vários fosfatos de cálcio em defeitos na área cortical de ossos longos em caprinos foram
338 avaliados, tendo os estudiosos concluído que os implantes eram biocompatíveis, que a biodegradação era
339 através de absorção osteoclástica e que o tipo de cicatrização era realizada pela deposição de lamelas
340 ósseas, caracterizando assim cicatrização intramembranosa³⁴.

341 **CONCLUSÃO**

342 Conclui-se que tanto os biopolímeros quanto os fosfatos de cálcio revisados aqui apresentam
343 capacidade de promover e acelerar o processo de osteogênese, sem apresentarem efeitos de toxicidade em
344 meio orgânico, sendo alternativa viável para maximizar a reparação de lesões do tecido ósseo. Outro fato
345 importante é a alternativa de se associar os biomateriais sejam de uma mesma classe ou de classes
346 diferentes para acelerar o processo de cicatrização óssea.

347

348

349

350

351

352

353

354

355 REFERÊNCIAS

- 356 1. VITAL, C. C.; BORGES, A. P. B.; FONSECA, C. C.; TSIOMIS, A. C.; CARVALHO, T. B.;
357 FONTES, E. B.; SENA, M. P.; FÓFANO, G. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de
358 hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v.58, n.2, p.175-183.
359 2006.
- 360 2. FROHBERGH, M. E.; KATSMAN, A.; BOTTA, G. P.; LAZAROVICI, P.; SCHAUER, C. L.;
361 WEGST, U. G. K.; LELKES, P. I. Electrospun hydroxyapatite-containing chitosan nanofiberscrosslinked
362 with genipin for bone tissue engineering. *Biomaterials.* v. 33, 9167-9178, 2012.
- 363 3. AZEVEDO, A. S.; SA, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; NOBREGA NETO, P. I.; SOUSA, O. B.;
364 AZEVEDO, S. S. Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido
365 ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural.* v. 43, p. 1265-1270, 2013.
- 366 4. LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. *Clinical*
367 *Orthopaedics and Related Research*, v. 395, p. 201-209, 2002.
- 368 5. SPIN-NETO, R.; PAVONE, C.; FREITAS, R. M.; MARCANTONIO, R. A. C.; MARCANTONIO-
369 JUNIOR, E. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura.
370 *Revista de Odontologia da UNESP.* v.37, p. 155-161, 2008.
- 371 6. GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. FOSFATOS DE CÁLCIO DE INTERESSE BIOLÓGICO:
372 IMPORTÂNCIA COMO BIOMATERIAIS, PROPRIEDADES E MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE
373 RECOBRIMENTOS. *Química Nova.* v. 33, n. 6, p. 1352-1358, 2010.
374
- 375 7. KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials.* v. 24, p. 2339-
376 2349, 2003.
- 377 8. JAFARI, J.; EMAMI, S. J.; SAMADIKUCHAKSARAEI, A.; BAHAR, M. A.; GORJIPOUR, F.
378 Electrospun chitosan-gelatin nanofiberous scaffold: Fabrication and *in vitro* evaluation. *Bio-Medical*
379 *Materials and Engineering.* v. 21, p.99-112, 2011.

- 381 9. GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M.; SOARES, N. A.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C.
382 DIFERENTES ESTRATÉGIAS PARA A RETICULAÇÃO DA QUITOSANA. *Química Nova*. v.34,
383 p.1215-1223, 2011.
- 384 10. UENO, H.; NAKAMURA, F.; MURAKAMI, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.; FUJINAGA,
385 T. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth
386 factors production by macrophages. *Biomaterials*. v. 22, p. 2125-2130, 2001.
- 387 11. LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. QUITOSANA: BIOPOLÍMERO FUNCIONAL COM
388 POTENCIAL INDUSTRIAL BIOMÉDICO. *Química Nova*. v.32, p.672-678, 2009.
- 389 12. GORZELANNY, C.; POPPELMANN, B.; PAPPELBAUM, K.; MOERSCHBACHER, B. M.;
390 SCHNEIDER, S. W. Human macrophage activation triggered by chitotriosidase-mediated chitin and
391 chitosan degradation. *Biomaterials*. v. 31, p. 8556-8563, 2010.
- 392 13. WANG, X.; MA, J.; WANG, Y.; HE, B. Bone repair in radii and tibias of rabbits with phosphorylated
393 chitosan reinforced calcium phosphate cements. *Biomaterials*, v.23, p.4167-4176, 2002.
- 394 14. LIU, H.; PENG, H.; WU, Y.; ZHANG, C.; CAI, Y.; XU, G.; LI, Q.; CHEN, X.; JI, J.; ZHANG, Y.;
395 OUYANG, H. W. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds
396 by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. *Biomaterials*. v. 34, p. 4404-4417,
397 2013.
- 398 15. PARK, J. S.; CHOI, S. H.; MOON, I. S.; CHO, K. S.; CHAI, J. K.; KIM, C. K. Eight-week
399 histological analysis on the effect of chitosan on surgically created one-wall intrabony defects in beagle
400 dogs. *Journal of Clinical Periodontology*. v. 30, p. 443-453, 2003.
- 401 16. ROSS-MURPHY, S. B. Structure and rheology of gelatin gels: recent progress. *Polymer*. v. 33, n. 12.
402 p. 2622-2627, 1992.
- 403 17. YOUNG, S.; WONG, M.; TABATA, Y.; MIKOS, A. G. Gelatin as a delivery vehicle for the
404 controlled release of bioactive molecules. *Journal of controlled release*. v.109, p. 256-274, 2005.

- 406 18. ROHANIZADEH, R.; MICHAEL V. SWAIN, M. V.; REBECCA S. MASON, R. S. Gelatin sponges
407 (Gelfoam) as a scaffold for osteoblasts. **J Mater Sci: Mater Med.** v. 19, p. 1173-1182, 2008.
- 408 19. HAFEZI, F.; HOSSEINNEJAD, F.; FOOLADI, A. A. I.; MAFI, S. M.; AMIRI, A.; NOURANI, M.
409 R. Transplantation of nano-bioglass/gelatin scaffold in a non-autogenous setting for bone regeneration in
410 a rabbit ulna. **J Mater Sci.** v. 23, p. 2783-2792, 2012.
- 411 20. DRAYE, J. P.; DELAEY, B.; VAN DE VOORDE, A.; BULCKE, A. V. D.; REU, B. D.; SCHACHT,
412 E. In vitro and in vivo biocompatibility of dextran dialdehyde cross-linked gelatin hydrogel films.
413 **Biomaterials.** v. 19, p. 1677-1687, 1998.
- 414 21. WANG, C.; FRYDRYCH, M.; CHEG, B. Strong and bioactive gelatin-graphene oxide
415 nanocomposites. **Soft Matter.** v.7, p. 6159-6166, 2011.
- 416 22. FRYDRYCH, M.; WAN, C.; STENGLE, R.; O'KELLY, K. U.; CHEN, B. Structure and mechanical
417 properties of gelatin/sepiolitenanocomposite foams. **Journal of Materials Chemistry.** v.21, p. 9103-
418 9111, 2011.
- 419 23. MU, C.; LI, X.; GUO, J.; BI, C.; LI, D. Effects of Montmorillonite on the Structure and Properties of
420 Gelatin-Polyethylene Glycol Composite Fibers. **Journal of Applied Polymer Science.** v. 129, p. 773-
421 778, 2012.
- 422 24. BIGI, A.; BRACCI, B.; PANZAVOLTA, S. Effect of added gelatin on the properties of calcium
423 phosphate cement. **Biomaterials.** v. 25, p. 2893-2899, 2004.
- 424 25. YAO, C.; LIU, B.; HSU, S.; CHEN, Y.; TSAI, C. Biocompatibility and biodegradation of a bone
425 composite containing tricalcium phosphate and genipin crosslinked gelatin. **J Biomed Mater Res A.** v. 69,
426 p. 709-717, 2004.
- 427 26. HUANG, Y.; ONYERI, S.; SIEWE, M.; MOSHFEGHIAN, A.; MADIHALLY, S. V. In vitro
428 characterization of chitosan-gelatin scaffolds for tissue engineering. **Biomaterials.** v. 26, p. 7616-7627,
429 2005.
- 430

- 431 27. LIU, H.; PENG, H.; WU, Y.; ZHANG, C.; CAI, Y.; XU, G.; LI, Q.; CHEN, X.; JI, J.; ZHANG, Y.;
432 OUYANG, H. W. The promotion of bone regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds
433 by effects on integrin-BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. **Biomaterials**. v. 34, p. 4404-4417,
434 2013.
- 435 28. KHAN, M. N.; ISLAM, J. M. M.; KHAN, M. A. Fabrication and characterization of gelatin-based
436 biocompatible porous composite scaffold for bone tissue engineering.
437 **Journal of Biomedical Materials Research Part A**. v. 100, p. 3020-3028, 2012.
- 438 29. KAWAI, K.; SUZUKI, S.; TABATA, Y.; IKADA, Y.; NISHIMURA, Y. Accelerated tissue
439 regeneration through incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin
440 microspheres into artificial dermis. **Biomaterials**. v. 21, p. 489-499, 2000.
- 441 30. KIM, H.; KIM, H.; SALIH, V. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of
442 gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**. v. 26, p. 5221-5230, 2005.
- 443 31. SANGEETHA, K.; THAMIZHAVEL, A.; GIRIJA, E. K. Effect of gelatin on the in situ formation of
444 Alginate/Hydroxyapatite nanocomposite. **Materials Letters**. v. 91, p. 27-30, 2013.
- 445 32. AZEVEDO, A. S.; SA, M. J. C.; COSTA NETO, P. I.; FOOK, M. V. L.; PORTELA, R. A.;
446 AZEVEDO, S. S. Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do tecido ósseo
447 de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 49, p. 12-
448 18, 2012.
- 449 33. YAMADA, S.; HEYMANN, D.; BOULER, J. M.; DACULSI, G. Osteoclastic resorption of calcium
450 phosphate ceramics with different hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ratios. **Biomaterials**. v. 18, p.
451 1037-1041, 1997.
- 452 34. OOMS, E. M.; WOLKE, J. G. C.; VAN DE HEUVEL, M. T.; JESCHKE, B.; JANSEN, J. A.
453 Histological evaluation of the bone response to calcium phosphate cement implanted in cortical bone.
454 **Biomaterials**. v. 24, p. 989-1000, 2003.
- 455

- 456 35. PEREIRA, M. M.; VASCONCELOS, W. L.; ZAVAGLIA, C. A. C. Materiais cerâmicos – ciência e
457 aplicação como biomaterial. In: ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais:**
458 **fundamentos e aplicações.** Guanabara Koogan, 2012. Cap. 3, p. 61-81.
- 459 36. COSTA, D. O.; PROWSE, P. D. H.; CHRONES, T.; SIMS, S. M.; HAMILTON, D. W.; RIZKALLA,
460 A. S.; DIXON, S. J. The differential regulation of osteoblast and osteoclast activity by surface topography
461 of hydroxyapatite coatings. **Biomaterials.** v.xxx, p. 1-12, 2013.
- 462 37. SCHILLING, A. F.; LINHART, W.; FILKE, S.; GEBAUER, M.; SCHINK, T.; RUEGER, J. M.;
463 AMLING, M. Resorbability of bone substitute biomaterials by human osteoclasts. **Biomaterials.** v. 25, p.
464 3963-3972, 2004.
- 465 38. LANGSTAFF, S.; SAYER, M.; SMITH, T. J. N.; PUGH, S. M. Resorbable bioceramics based on
466 stabilized calcium phosphates. Part II: evaluation of biological response. **Biomaterials.** v. 22, p. 135-150,
467 2001.
- 468 39. REIS, E. C. C.; BORGES, A. P. B.; ARAÚJO, M. V. F.; MENDES, V. C.; GUAN, L.; DAVIES, J. E.
469 Periodontal regeneration using a bilayered PLGA/calcium phosphate construct. **Biomaterials.** v. 32, p.
470 9244-9253, 2011.
- 471
- 472
- 473
- 474
- 475
- 476
- 477
- 478

479 **ABSTRACT**

480 The objective of this review is to compile information about the use of biopolymers and calcium
481 phosphates in the process of bone regeneration. Among the biopolymers that are worth mentioning we
482 can cite the osteoinductive potential by chitosan and gelatin more recently studied in bone repair process,
483 serving with carrier. Calcium phosphates most studied and deserve a prominent position are
484 hydroxyapatite and β -calcium triphosphate. It is known that both have the ability to serve as
485 osteoconductive substrate and to accelerate the healing of bone defects. These biomaterials are viable in
486 the process of osteogenesis, promoting bone regeneration faster to patients.

487 **Keywords:** biomaterials, biopolymers, calcium phosphate.

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

498

499

500

501

502

503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533

CAPÍTULO II

Utilização de quitosana e β -trifosfato de cálcio, isolados e associados, no reparo

ósseo em coelhos

Artigo aceito para publicação na revista científica Journal of Materials of Science: Materials in Medicine com ID JMSM6119R1 aprovado na data de 05 de novembro de 2013.

534 **Utilização de quitosana e β -trifosfato de cálcio, isolados e associados, no reparo**
535 **ósseo em coelhos**

536

537 **Use of chitosan and β -tricalcium phosphate, singly and in combination, on bone**
538 **healing in rabbits**

539 **A. S. Azevedo • M. J. C. Sá • M. V. L. Fook • P. I. Nóbrega Neto • O. B. Sousa • S. S. Azevedo • M.**
540 **W. Teixeira • F. S. Costa • A. L. Araújo**

541 **A. S. Azevedo (Author for correspondence) • M. J. C. Sá • P. I. Nóbrega Neto • O. B. Sousa • S. S.**
542 **Azevedo • A. L. Araújo** - Unidade acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e
543 Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Av. Universitária s/n,
544 Bairro Santa Cecília, 58700-970, Patos, PB, Brazil. E-mail: adilio_vet@yahoo.com.br

545 **M. V. L. Fook** - Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEM), UFCG, Campina Grande, PB,
546 Brazil.

547 **W. Teixeira • F. S. Costa** - Departamento de Medicina Veterinária (DMV), Universidade Federal Rural
548 do Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brazil.

549

550 **RESUMO**

551 O objetivo do presente trabalho foi avaliar o processo de regeneração óssea em
552 coelhos através da utilização de quitosana e β -trifosfato de cálcio, isolados e associados.
553 Foram utilizados 12 coelhos adultos, de ambos os sexos, da raça Nova Zelândia e
554 pesando em média $3,0 \pm 0,57$ kg. Os animais foram divididos ao acaso de acordo com
555 dois momentos experimentais, sendo que seis animais foram eutanasiados 45 dias após
556 a cirurgia e seis 90 dias após a cirurgia. Foram realizadas duas osteotomias em cada
557 tibia. As osteotomias da tibia esquerda compuseram os grupos controle e quitosana, e as
558 da tibia direita os grupos β -trifosfato de cálcio isolado e associado à quitosana. Na
559 avaliação tomográfica não houve diferença estatística, porém a radiopacidade mostrou-
560 se maior nos grupos tratados. Na avaliação histológica descritiva comparativa,

561 constatou-se que todos os tratamentos, em ambos os momentos estudados e sem
562 diferenças entre si, estimularam reações mais acentuadas e aceleraram o reparo ósseo.
563 Na análise morfométrica, todos os tratamentos induziram formação óssea
564 significativamente maior que o grupo controle ($p < 0,05$).

565

566 **Palavras-chave:** biomateriais, fosfatos de cálcio, biopolímeros, cicatrização óssea,
567 osteogênese.

568

569 **ABSTRACT**

570 The aim of this research was to evaluate the process of bone regeneration in rabbits
571 by the use of chitosan and β -tricalcium phosphate, independently and in combination.
572 Twelve male and female rabbits, New Zealand breed, with an average weight of
573 3.0 ± 0.57 kg were used. Animals were randomly divided according with two
574 experimental moments, being six animals euthanized 45 days after surgery, and six
575 euthanized 90 days after surgery. We performed two osteotomies in each tibia. The left
576 tibia was composed by chitosan and the control group, and the right tibia contained
577 groups β -tricalcium phosphate isolated and associated with chitosan. At the
578 tomographic evaluation showed no statistical difference, however radiopacity was
579 higher in treated groups. At the comparative descriptive histological evaluation, it was
580 found that the treatment in both periods studied, stimulated reactions more pronounced
581 and accelerated bone repair. In morphometric analysis, treatments differed from the
582 control, was observed higher bone formation ($p < 0,05$).

583 **Key-words:** biomaterials, calcium phosphate, biopolymers, bone healing, osteogenesis.

584

585
586

1. INTRODUÇÃO

587 O uso de biomateriais na rotina cirúrgica ortopédica vem sendo cada vez mais
588 constante e possibilitando uma ótima alternativa em vários casos em que se requeira um
589 adjuvante no processo de reparação óssea.

590 Dentre os biomateriais, os fosfatos de cálcio são amplamente estudados e
591 utilizados em cirurgias ósseas e odontológicas [1,2], sendo o β -trifosfato de cálcio um
592 osteocondutor com excelentes propriedades de biodegradação, caracterizado por uma
593 rápida absorção e substituição por matriz óssea [3,4].

594 Mais recentemente os biopolímeros vêm sendo alvo de muitas investigações,
595 com destaque para a quitosana, que estimula a indução óssea, favorecendo a reparação
596 mais rápida [5], pela sua capacidade de estimular receptores da superfície dos
597 macrófagos, promovendo assim liberação de fatores de crescimento, maximizando o
598 processo de osteogênese [6,7,8].

599 Inúmeras associações de biomateriais vêm sendo estudadas com intuito de
600 acelerar e maximizar a regeneração do tecido ósseo [9], sendo a associação da quitosana
601 e β -trifosfato de cálcio uma alternativa nos processos reparativos do tecido ósseo, já que
602 essa mistura possibilita o estímulo da indução óssea causado pela quitosana, como
603 também a osteocondução, que é a disposição de substrato de minerais, estimulada pelo
604 β -trifosfato de cálcio, favorecendo dessa forma a incrementação da formação de matriz
605 óssea pelos osteoblastos, em que alguns estudos apontam para o potencial na associação
606 de um biopolímero com cerâmicas de fosfatos de cálcio para reparar o tecido ósseo
607 [5,10].

608 O objetivo do presente trabalho foi avaliar o processo de regeneração óssea,
609 estimulada pelo uso de quitosana e β -trifosfato de cálcio, isolados e associados, nos
610 defeitos produzidos na tíbia de coelhos.

611 2. MATERIAL E MÉTODOS

612 O presente estudo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de
613 Animais da Universidade Federal de Campina Grande, segundo o protocolo de
614 aprovação nº 10/2012.

615

616 2.1. Animais

617 Neste experimento utilizou-se 12 coelhos da raça Nova Zelândia, adultos, sendo 5
618 fêmeas e 7 machos, hípidos, pesando $3,0 \pm 0,57$ (média \pm desvio padrão) kg, provenientes
619 de um criatório. Foram constituídos dois momentos experimentais, com seis animais em
620 cada momento, de acordo com o período de eutanásia (45 ou 90 dias após o
621 procedimento cirúrgico). Os animais foram alocados em gaiolas individuais,
622 vermifugados com albendazol 5% (Ibazole 5% - IBASA) na dose de 20 mg/kg por via
623 oral e passaram por um período de adaptação de sete dias antes do início do
624 experimento, recebendo ração comercial para coelhos, 30 gramas da ração duas vezes
625 ao dia e água potável *ad libitum*, que foram fornecidos também durante todo o
626 experimento.

627

628 2.2. Síntese e caracterização dos implantes

629 Os implantes utilizados neste estudo foram fornecidos pelo Grupo de
630 Biomateriais, Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de
631 Campina Grande (UFCG). Para a preparação dos implantes na forma de esponja, foi
632 utilizada quitosana (Sigma- Aldrich, 448.877, peso molecular = 190×10^3 g/mol -
633 310×10^3 g/mol , grau de desacetilação = 75% - 85%) , ácido acético glacial (Vetec) e
634 genipina (Sigma- Aldrich , 6902778, peso molecular = 226,23 g/mol, pureza $\geq 98\%$

635 HPLC). Para processamento de andaimes foi utilizado etanol absoluto 99,5° GL
636 (Nuclear), álcool hidratado 70 ° INPM (TUPI) e hidróxido de sódio (Vetec).

637 Para a síntese e caracterização de β -fosfato tricálcio, foi utilizado o método de
638 precipitação envolvendo uma reação de neutralização entre a solução de ácido fosfórico
639 (H_3PO_4) e hidróxido de cálcio [$Ca(OH)_2$]. As quantidades estequiométricas das
640 soluções foram determinadas de acordo com o valor da razão atômica entre o cálcio e os
641 átomos de fósforo a partir de fosfato de cálcio. O pó de $Ca(OH)_2$, foi adicionada a água
642 desionizada e agitada vigorosamente e aquecida sob temperatura de 80° C. A esta
643 solução foi lentamente adicionado H_3PO_4 , sob agitação constante. Após a mistura
644 completa dos dois reagentes, a temperatura foi elevada para 100° C e a agitação foi
645 continuada até que a viscosidade fosse atingida. A pasta cerâmica obtida foi seca a 110°
646 C durante 24 horas e depois o produto foi desaglomerado, classificado em 200 mesh
647 para se obter o pó e tratado pelo calor a 20 ° C por minuto e mantida a 1100° C durante
648 2 horas.

649

650 2.3. Procedimento cirúrgico

651 Após a tricotomia, realizou-se a medicação pré-anestésica com acepromazina
652 (Acepran 1% - VETNIL), na dose de 1 mg/kg por via intravenosa (IV) e anestesia com
653 tiletamina associada ao zolazepam (Zoletil 100 – VIRBAC) na dose de 15 mg/kg IV.
654 Foi realizada também anestesia epidural com lidocaína 2% (Anestésico Bravet –
655 BRAVET) na dose de 0,22 mL/Kg, associado ao tramadol (Tramal– PFIZER) na dose
656 de 1 mg/Kg. Após antisepsia da área operatória com solução de clorexidine a 0,5%
657 (Riohex 0,5% - RIOQUÍMICA), fez-se uma incisão cutânea ao longo da margem
658 medial da crista da tíbia e divulsão do tecido subcutâneo e muscular. Foi feita ressecção
659 longitudinal do periósteo e dois orifícios foram construídos, um na metáfise proximal e

660 outro na distal, com broca cirúrgica de 3,0 mm de diâmetro para colocação dos
661 implantes em ambas as tíbias. Os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma: no
662 grupo controle (C), não foi introduzido nenhum implante e a osteotomia foi realizada na
663 porção proximal da metáfise tibial esquerda, e o grupo quitosana (QUI) com 85% de
664 desacetilação na porção distal do mesmo membro. Na porção proximal da metáfise
665 proximal da tíbia direita foi introduzido o pó de β -fosfato tricálcico (TCP), proporção de
666 Ca/P de 1,5 e na porção distal da metáfise tibial, foi introduzido β -fosfato tricálcico com
667 quitosana (QUI + TCP). Todos os implantes foram autoclavados antes do uso. A síntese
668 dos tecidos foi realizada plano por plana até o fechamento total da ferida cirúrgica. Este
669 procedimento foi realizado em ambos os membros.

670

671 2.4. Pós-operatório

672 No pós-operatório os animais receberam enrofloxacin (Biofloxacin 2,5% -
673 BIOVET) na dose de 10 mg/kg por via intramuscular (IM), uma vez ao dia durante 5
674 dias e meloxicam (Maxicam 0,2% - OURO FINO) na dose de 0,2 mg/kg, IM, no
675 primeiro dia e 0,1 mg/kg nos dois dias subsequentes. A higienização da ferida cirúrgica
676 foi realizada com solução fisiológica e Kuraderm prata (Kuraderm Prata - AVIPEC)
677 durante os 10 primeiros dias do pós-operatório, tendo os pontos cutâneos sido
678 removidos após esse período.

679

680 2.5. Exame de tomografia computadorizada

681 Após o término do período de observação destinado a cada momento experimental,
682 os animais foram anestesiados com propofol 1% (propofol 10mg/mL - CRISTÁLIA) e
683 em seguida eutanasiados com administração de cloreto de potássio 19,1% (solução de

684 cloreto de potássio 19,1% - ISOFARMA), os quais tiveram parada cardiorrespiratória.
685 Após a eutanásia, as tíbias foram colhidas e encaminhadas para realização tomografia
686 computadorizada com o aparelho helicoidal GE Hi-Speed FXI e protocolo com 120
687 kVp e auto mA na velocidade de uma rotação por segundo. A aquisição das imagens
688 foram obtidas em cortes transversais de 1 mm de espessura com filtro para partes
689 ósseas. Após o exame tomográfico e digitalização das imagens, foi calculado o valor de
690 atenuação em HU (Unidades Hounsfield) do osso a partir da média de três das regiões
691 de interesse a serem avaliadas. Cada ROI teve sua área previamente padronizada para
692 melhor uniformidade dos resultados. O *software* para análises tomográficas foi o E-film.

693

694 2.6. Histologia da interface osso/implante

695 Após a análise tomográfica foram colhidos os fragmentos do tecido ósseo que
696 continham os implantes, para a avaliação microscópica. Os fragmentos ósseos foram
697 submetidos à fixação com formalina tamponada a 10% durante 10 dias. Logo após o
698 material foi lavado em água corrente e descalcificado em mistura de partes iguais de
699 solução de ácido fórmico 5% + ácido clorídrico 5%, durante 14 dias. Os fragmentos
700 foram incluídos em parafina líquida e posteriormente os blocos foram cortados em fatias
701 transversais de 5 μ m de espessura e montados em lâminas histológicas. De cada bloco
702 foram obtidas quatro lâminas, sendo estas submetidas à técnica de hematoxilina-eosina
703 para visualização histológica, avaliando-se na interface osso-implante os graus de
704 reação endosteal e periosteal, a proliferação e diferenciação celular no tecido cicatricial
705 e a cicatrização óssea da lesão. Nessa análise, foi realizada a avaliação descritiva
706 qualitativa e a comparação entre os momentos e grupos.

707

708

709 2.7. Morfometria da interface osso/implante

710 A neoformação óssea induzida pelos tratamentos foi quantificada através da análise
711 morfométrica das lâminas, através do programa *Image Pro Plus*, versão 6.2®. Para essa
712 análise, foram realizadas capturas e digitalização das imagens que compreenderam a
713 interface osso/implante. Foram obtidas imagens sequenciadas de cada lâmina analisada
714 para quantificar em μm^2 e transformar em mm^2 todo o tecido ósseo neoformado em
715 cada interface osso/implante, obtendo-se a média dos valores para cada grupo estudado.

716

717 2.8. Avaliação estatística

718 A comparação da cicatrização óssea induzida pelos tratamentos foi realizada por
719 momento experimental e entre os grupos. Inicialmente foi realizado o teste de
720 normalidade de Anderson-Darling para a verificação da distribuição dos dados. Para
721 variáveis com distribuição normal, os grupos foram comparados pela análise de
722 variância (ANOVA) de um critério de classificação, com comparações múltiplas pelo
723 teste de Tukey. Para variáveis com distribuição não normal, a comparação foi realizada
724 pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, com comparações múltiplas pelo teste de
725 Nemenyi [11]. O nível de significância adotado foi de 5% e as análises foram feitas com
726 o programa estatístico MINITAB versão 14.0.

727

728 3. RESULTADOS

729 3.1. Avaliação de tomografia computadorizada

730 Na avaliação tomográfica, não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre os
731 tratamentos nem entre os momentos, porém pôde-se notar, de acordo com a Fig. 1, que

732 as médias de radiopacidade obtidas em HU dos grupos TCP+QUI, QUI e TCP foram
733 maiores nos momentos experimentais estudados em relação ao grupo C.

734

735 3.2. Avaliação histológica descritiva das lâminas

736 Na avaliação histológica descritiva, pôde-se observar aos 45 dias, na interface
737 osso/implante, que os grupos QUI, TCP e TCP+QUI apresentaram maior reação celular
738 do tipo granuloma que o grupo C. Também foi observado no centro dos granulomas,
739 nos mesmos grupos, maior neovascularização e presença do biomaterial envolvido por
740 células com neoformação óssea, sendo essa reação mais intensa no grupo QUI+TCP e
741 QUI (Fig.2). Pôde-se notar maior quantidade de tecido ósseo neoformado na interface
742 osso/implante no grupo QUI e QUI+TCP em relação aos demais grupos, sendo as
743 reações do grupo TCP maiores que a do grupo C.

744 Na avaliação histológica aos 90 dias, na interface osso/implante dos grupos QUI e
745 TCP+QUI, evidenciou-se maior reação celular com presença de granuloma que os
746 demais grupos. Notou-se também intensa neovascularização nos grupos com menor
747 grau no grupo C. Observou-se que os biomateriais ainda estavam presentes e envolvidos
748 por células. Todos os grupos apresentavam cicatrização óssea avançada, porém nos
749 grupos QUI e QUI+TCP essa reação era mais intensa que os demais (Fig. 3).

750

751 3.3. Avaliação morfométrica do tecido ósseo neoformado

752 Na avaliação morfométrica das lâminas, pode-se observar diferença estatística
753 ($p<0,05$) entre os grupos C e QUI aos 45 dias. Já aos 90 dias houve diferença estatística
754 ($p<0,05$) entre o grupo C e QUI, QUI+TCP e TCP como mostrado na Fig. 4.

755

756 4. DISCUSSÃO

757 A avaliação tomográfica do tecido ósseo é uma modalidade de investigação bem
758 aplicável e confiável para medição da densidade óssea [12]. No presente estudo, apesar
759 de não se ter notado diferença estatística, possivelmente ocorrida pelo número limitado
760 de animais empregados neste estudo, houve uma tendência de maior radiopacidade dos
761 demais grupos em relação ao grupo C. Esse fato pode ser explicado pela característica
762 da quitosana que é um material osteoindutor, que estimula a liberação de fatores de
763 crescimento, diferenciação e agregação celular no leito da lesão, favorecendo e
764 acelerando o processo de regeneração do tecido ósseo [13], associada às características
765 do trifosfato de cálcio, que é um material osteocondutor, que atua como substrato,
766 disponibilizando minerais, favorecendo assim a mineralização da matriz extracelular,
767 estimulando a osteogênese [14]. Características estas encontradas no presente
768 experimento, com processo de mineralização avançado dos tratamentos em relação ao
769 controle.

770 Na avaliação histológica descritiva, tanto aos 45 quanto aos 90 dias os grupos QUI,
771 QUI+TCP e TCP estimularam reações mais intensas e evidentes em comparação ao
772 grupo C. Essa característica de reações mais amplas e maiores com o uso dos
773 tratamentos nesse estudo é explicado pela característica da quitosana que é um
774 biopolímero osteoindutor, que estimula a liberação de fatores de crescimento e
775 diferenciação celular, incrementando e maximizando o processo de osteogênese [7,15],
776 em conjunto com o TCP que é um fosfato de cálcio osteocondutor, que atua na
777 mineralização da matriz óssea, favorecendo assim uma cicatrização mais rápida [16,17],
778 como observado em um estudo utilizando diferentes fosfatos de cálcio [9]. Vem sendo
779 promissora a associação de biopolímeros com fosfatos de cálcio [5], em que essa união
780 de materiais atua promovendo a diferenciação celular e acelerando a deposição de

781 osteóide no defeito ósseo, acelerando o processo de osteogênese [17], fato esse
782 observado em nosso estudo, em que a ampla celularidade e neoformação óssea ficou
783 evidente nos tratamentos empregados em comparação ao controle.

784 Na avaliação morfométrica entre os momentos e grupos, os materiais que
785 continham quitosana e o trifosfato de cálcio estimularam neoformação óssea maior que
786 o grupo controle. Esse processo é explicado pela capacidade da quitosana em estimular
787 a liberação, no sítio da lesão, das interleucinas 1, 6 e 8 e outros fatores inflamatórios,
788 pelos macrófagos, que atuam acelerando o processo de reparação tecidual, estimulando
789 uma maior osteogênese [6], processo esse observado no presente estudo. Em um estudo
790 recente ficou evidenciado que a quitosana estimulou neoformação óssea 10 vezes maior
791 que um fosfato de cálcio [18]. Associado à quitosana, o trifosfato de cálcio é um
792 material osteocondutor, que disponibiliza íons de cálcio e fósforo, para que os
793 osteoblastos possam assim sintetizar osteóide, incrementando ainda mais o processo de
794 reparo ósseo [9]. No presente experimento, podemos observar que a quitosana isolada
795 ou associada ao trifosfato de cálcio favorecem a osteogênese, com maior neoformação
796 óssea nas lesões ósseas.

797 5. CONCLUSÃO

798 Conclui-se que a quitosana e o β -trifosfato de cálcio empregados nesse estudo
799 estimulam maior osteogênese em relação ao grupo controle, sendo a associação desses
800 biomateriais muito promissora no processo de reparação do tecido ósseo.

801

802

803

804

805

806 **REFERÊNCIAS**

- 807 [1] Alghamdi HS, Bosco R, Van Den Beucken JJJP, Walboomers XF, Jansen JA.
808 Osteogenicity of titanium implants coated with calcium phosphate or collagen type-I in
809 osteoporotic rats. *Biomaterials* 2013; 34:3747-57.
- 810 [2] Reis ECC, Borges APB, Araújo MVF, Mendes VC, Guan L, Davies JE. Periodontal
811 regeneration using a bilayered PLGA/calcium phosphate constructo. *Biomaterials* 2011;
812 32:9244-53.
- 813 [3] Guastaldi AC, Aparecida AH. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância
814 como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Quim Nova*
815 2010; 33:1352-58.
- 816 [4] Bohner M. Resorbable biomaterials as bone graft substitutes. *Mater Today* 2010;
817 13:24-30.
- 818 [5] Khor E, Lim LY. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*
819 2003; 24:2339-49.
- 820 [6] Gorzelanny C, Pöppelmann B, Pappelbaum K, Moerschbacher BM, Schneider SW.
821 Human macrophage activation triggered by chitotriosidase-mediated chitin and chitosan
822 degradation. *Biomaterials* 2010; 31:8556-63.
- 823 [7] Ueno H, Nakamura F, Murakami M, Okumura M, Kodosawa T, Fujinaga T.
824 Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and
825 the growth factors production by macrophages. *Biomaterials* 2001; 22:2125-30.
- 826 [8] Peluso G, Petillo O, Ranieri M, Santin M, Ambrosia L, Calabró D, et al. Chitosan-
827 mediated stimulation of macrophage function. *Biomaterials* 1994; 15:1215-20.

- 828 [9] Azevedo AS, Sa MJC, Costa Neto PI, Fook MVL, Portela RA, Azevedo SS.
829 Avaliação de diferentes proporções de fosfato de cálcio na regeneração do tecido ósseo
830 de coelhos: estudo clínico-cirúrgico, radiológico e histológico. *Braz J Vet Res Anim Sci*
831 2012; 49:12-18.
- 832 [10] Ge Z, Baguenard S, Lim LY, Wee A, Khor E. Hydroxyapatite-chitin materials as
833 potential tissue engineered bone substitutes. *Biomaterials* 2004; 25:1049-58.
- 834 [11] Zar JH. *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, New Jersey:Prentice Hall;
835 1999.
- 836 [12] Adams JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol* 2009; 71:415-24.
- 837 [13] Park YJ, Lee YM, Park SM, Shenn SY, Chung CP, Lee SJ. Platelet derived growth
838 factor releasing chitosan sponge for periodontal bone regeneration. *Biomaterials* 2000;
839 21:153-59.
- 840 [14] Ehara A, Ogata K, Imazato S, Ebisu S, Nakano T, Umakoshi Y. Effects of α -TCP
841 and TetCP on MC3T3-E1 proliferation, differentiation and mineralization. *Biomaterials*
842 2003; 24:831-36.
- 843 [15] Liu H, Peng H, Wu Y, Zhang C, Cai Y, Xu G, et al. The promotion of bone
844 regeneration by nanofibrous hydroxyapatite/chitosan scaffolds by effects on integrin-
845 BMP/Smad signaling pathway in BMSCs. *Biomaterials* 2013; 34:4404-17.
- 846 [16] Eriskin C, Kalyon DM, Wang H. Functionally graded electrospun
847 polycaprolactone and β -tricalcium phosphate nanocomposites for tissue engineering
848 applications. *Biomaterials* 2008; 29:4065-73.

849 [17] Frohbergh ME, Katsman A, Botta GP, Lazarovici P, Schauer CL, Wegst UG, et al.
850 Electrospun hydroxyapatite-containing chitosan nanofibers cross linked with genipin for
851 bone tissue engineering. *Biomaterials* 2012; 33:9167-78.

852 [18] Azevedo AS, Sá MJC, Fook MVL, Nobrega Neto PI, Sousa OB, Azevedo SS.
853 Hydroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido
854 ósseo em coelhos. *Cienc Rural* 2013; 43:1265-70.

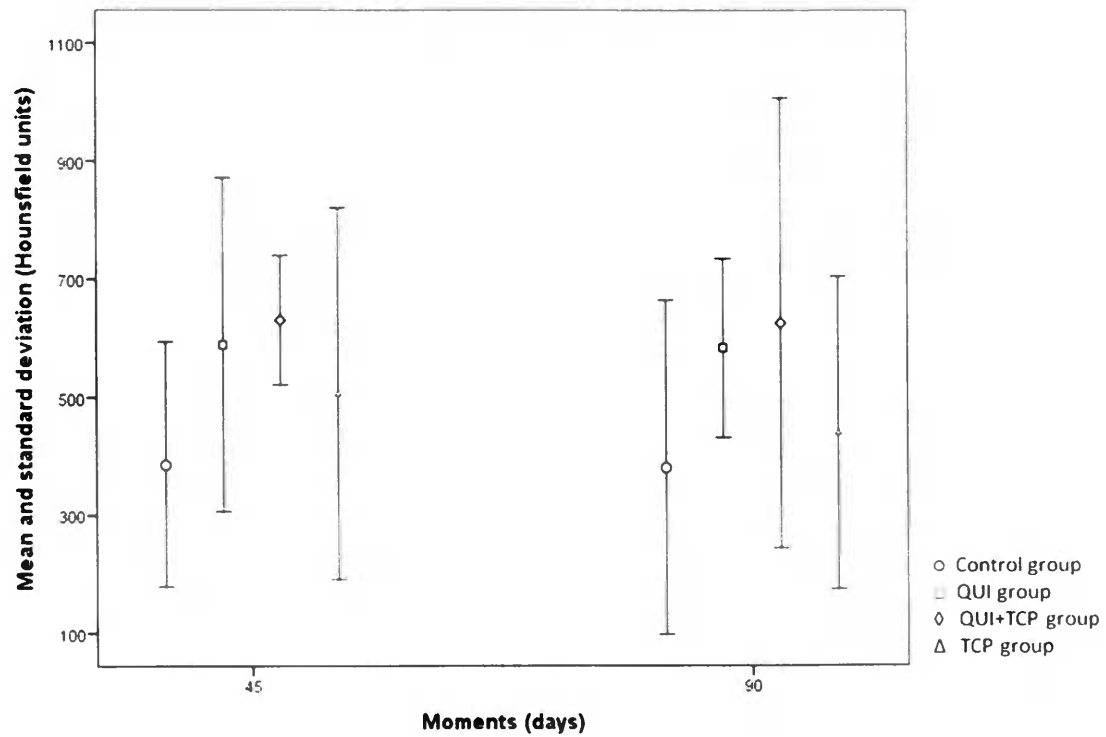
855

856 **Figuras**

857

858 **Figura 1** – Média e desvio padrão da radiodensidade em Hounsfield unidades (HU), da area
859 osteotomizada que recebeu os tratamentos (C = controle; QUI = Quitosana; QUI + TCP =
860 quitosana associada ao β -fosfato tricálcio, TCP = β -fosfato tricálcio).

861



862

863

864

865

866

867

868

869

870

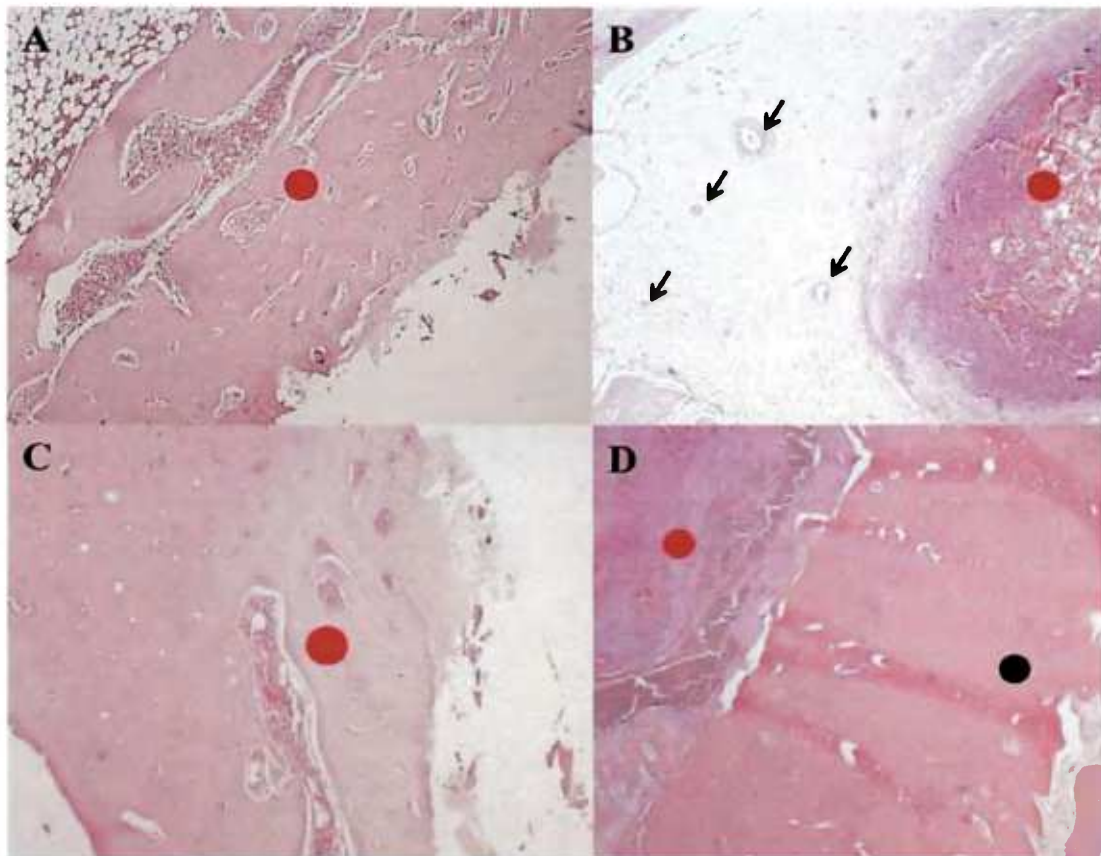
871

872

873

874

875 **Figura 2** – Avaliação histológica descritiva aos 45 dias. A (grupo controle) - círculo vermelho
876 indicando local osteotomizado preenchido por osso imaturo neoformado. B (grupo QUI) - círculo
877 vermelho mostrando a implantação da quitosana cercado por reação celular intensa e setas escuras
878 mostrando vasos sanguíneos. C (grupo TCP) - círculo vermelho indicando local osteotomizado
879 preenchido por tecido ósseo neoformado. D (TCP + grupo QUI) - círculo vermelho indicando local
880 da osteotomia com reação celular intensa ao redor do implante e círculo preto identificando área
881 osteomizada preenchido por tecido ósseo neoformado. Obj. 4x.



882

883

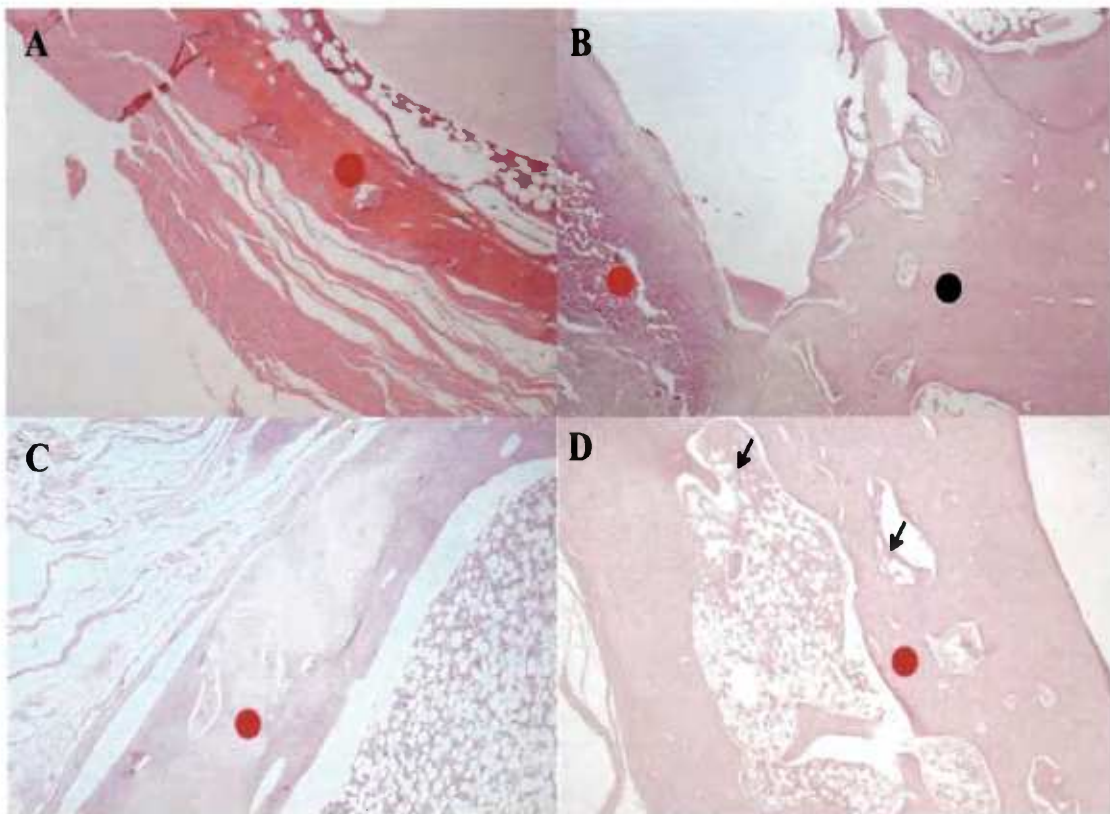
884

885

886

887

888 **Figura 3** - Avaliação histológica descritiva aos 90 dias. A (grupo C) - círculo vermelho indicando
889 local osteotomizado preenchido por osso imaturo neoformado, com pouca reação celular. B (grupo
890 QUI) - círculo vermelho mostrando a implantação da quitosana cercado por reação celular intensa e
891 círculo escuro mostrando grande quantidade de osso neoformado. C (grupo TCP) - círculo vermelho
892 indicando local osteotomizado preenchido por osso neoformado em processo de organização. D
893 (grupo TCP + QUI) - círculo vermelho indica o local da osteotomia preenchido por osso neoformado,
894 já em processo de organização, e setas pretas mostram reação celular. Obj. 4x.



895

896

897

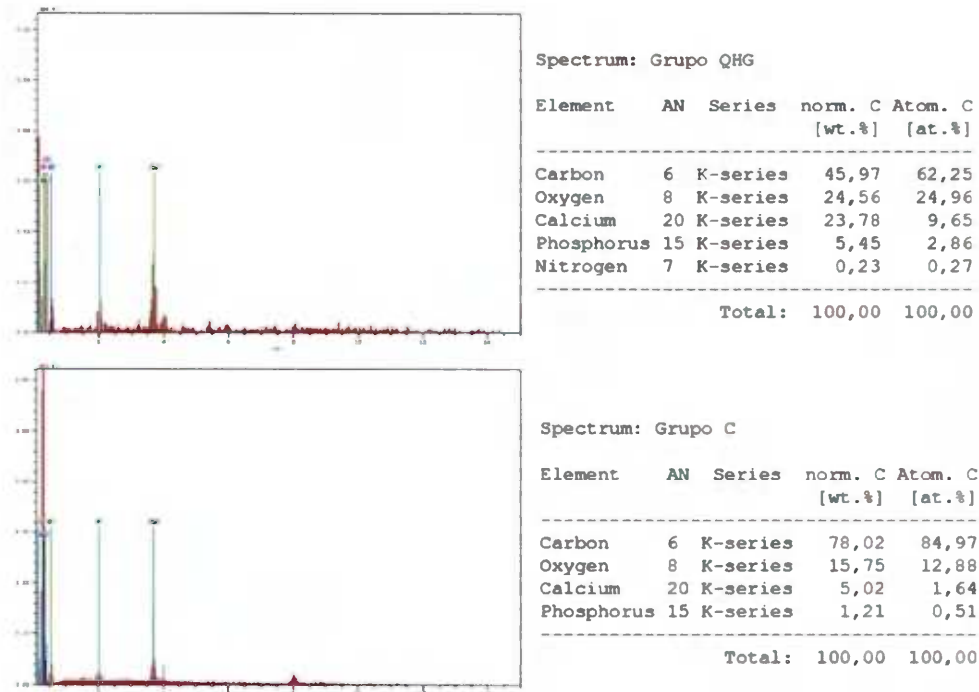
898

899

900

901

1366 Figura 5 – Avaliação de EDS comparando o grupo QHG com o grupo C. Notar que no
 1367 grupo QHG há presença de Nitrogênio, indicando presença do compósito na área de
 1368 avaliação. Nota-se também que a percentagem de íons Ca e P no grupo QHG é maior em
 1369 comparação ao grupo C.
 1370



1371

1372

1373

1374

1375

1376

1377

1378

1379

1380

1381

1382

ANEXOS – NORMAS DAS REVISTAS

1383

1384

1385 **NORMAS PARA PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS**

1386

1387 **MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais**
1388 **de Estimação**

1389

1390 1. Objetivo

1391 A MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária – Pequenos Animais e Animais de
1392 Estimação têm sua publicação trimestral, com trabalhos de pesquisa, casos clínicos e
1393 revisões de literatura, destinados aos Médicos Veterinários e profissionais de áreas afins,
1394 além de atualizações e informações diversas.

1395

1396 2. Normas Gerais

1397 2.1

1398 Os trabalhos enviados para publicação devem ser inéditos, não sendo permitida a sua
1399 apresentação simultânea em outro periódico. À MEDVEP reservam-se todos os direitos
1400 autorais dos trabalhos publicados, inclusive de tradução, permitindo, entretanto, a sua
1401 posterior reprodução como transcrição e com devida citação de fonte, sendo que nenhum
1402 dos autores será remunerado.

1403 2.2

1404 A MEDVEP receberá para publicação trabalhos redigidos em português, sendo os
1405 textos de inteira responsabilidade dos autores. A redação deve ser clara e precisa,
1406 evitando-se trechos obscuros, incoerências e ambigüidades.

1407 2.3

1408 A MEDVEP reserva-se o direito de submeter todos os trabalhos originais à apreciação
1409 da Comissão de Publicação Científica. Os conceitos emitidos nos trabalhos publicados
1410 serão
1411 de responsabilidade exclusiva dos autores, não refletindo obrigatoriamente a opinião da
1412 Comissão Científica e do Conselho Editorial.

1413 2.4

1414 As datas de recebimento, reformulação (se houver) e de aceitação do trabalho
1415 constarão, obrigatoriamente, no final do mesmo, quando da sua publicação.

1416

1417 3. Forma de apresentação

1418 Elementos constituintes obrigatórios e ordem de apresentação:

- 1419 3.1
- 1420 Trabalho de pesquisa: Título em português, título em inglês, nome(s) do(s) autor(es),
1421 titulação do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, introdução, revisão da literatura,
1422 proposição, material e métodos, resultados e discussão, conclusões ou considerações
1423 finais, abstract, keywords e referências.
- 1424 3.2
- 1425 Relato de casos clínicos: Título em português, título em inglês, nome(s) do(s)
1426 autor(es), titulação do(s) autor(es), resumo, descritores, introdução e revisão da
1427 literatura, proposição, relato do(s) caso(s) clínico(s), discussão, conclusões ou
1428 considerações finais, abstract, keywords e referências.
- 1429 3.3
- 1430 Revisão da literatura: Título em português, título em inglês, nome(s) do(s) autor(es),
1431 titulação do(s) autor(es), resumo, palavras-chave, introdução e proposição, revisão da
1432 literatura, discussão, conclusão ou considerações finais, abstract, keywords e referências.
- 1433 3.4
- 1434 Matéria da capa: A pauta e os elementos constituintes obrigatórios ficam a critério do
1435 corpo editorial, dos consultores indicados e do(s) autor(es) responsável(eis) pela produção
1436 da matéria.
- 1437 3.5
- 1438 Editorial: Opinião comentada do editor, corpo editorial ou autor convidado, em que se
1439 discutem o conteúdo da revista e possíveis alterações na missão e/ou forma da
1440 publicação.
- 1441 3.6
- 1442 Conversando com o leitor: Título em português, nome(s) e titulação do(s) autor(es),
1443 comentários sobre assuntos de relevância, com citação no corpo do texto da(s) fonte(s) da
1444 informação apresentada.
- 1445 3.7
- 1446 Entrevista: Pergunta: questões pertinentes sobre um determinado assunto da área
1447 médica, formulada de maneira sucinta. Resposta: restrita à questão formulada, com
1448 nome(s) do(s) entrevistado(s) e titulação.
- 1449 3.8
- 1450 Lançamentos e tecnologia: Notícia de lançamento de material ou equipamento de
1451 Medicina Veterinária; usar o mínimo possível de propaganda nos artigos, reservar um
1452 espaço para propaganda.
- 1453
- 1454 4. Anúncios publicitários

- 1455 Devem estar em conformidade com as especificações contratadas com o setor comercial.
1456 A
1457 revista MEDVEP exime-se de qualquer responsabilidade pelos serviços e/ou produtos
1458 anunciados, cujas condições de fornecimento e veiculação publicitária estão sujeitas ao
1459 Código de Defesa do Consumidor e ao CONAR (Conselho Nacional de Auto-
1460 regulamentação
1461
1462 Publicitária).
1463
1464 5. Comitê de Ética
1465 5.1
1466 Todos os trabalhos que envolvam estudos com seres vivos, deverão estar de acordo
1467 com os Princípios Éticos para Uso de Animais de Laboratório, do SBCAL/COBEA, <http://www.cobea.org.br>, e terem sido aprovados pela Comissão de Ética da Instituição. Enviar
1468 cópia da aprovação do CEP (Comitê de Ética em Pesquisa).
1469
1470 OBS.: Trabalhos que não atendam este item não serão publicados.
1471
1472 6. Apresentação de originais e suporte físico
1473 Os originais destinados à MEDVEP deverão ser redigidos de acordo com o Estilo
1474 Vancouver.
1475 6.1
1476 Os originais deverão ser redigidos na ortografia oficial e digitados na fonte Arial
1477 tamanho 12 em folhas de papel tamanho A4, com espaço duplo e margem de 2cm de
1478 cada
1479 um dos lados, tinta preta, páginas numeradas no canto superior direito, não sendo
1480 impostas regras para o tamanho do artigo ou o número de figuras; porém, se por demais
1481 extenso, o conselho editorial pode pedir para que seja reduzido. Encaminhar também
1482 cópia
1483 do trabalho gravada em CD Rom, sempre acompanhada de 1 cópia em papel, sem
1484 nenhuma identificação dos autores. Em folha à parte deve constar o título do trabalho,
1485 nome completo dos autores, suas titulações mais importantes, endereço principal para
1486 correspondência, telefone e e-mail. (De todos os autores.)
1487 6.2
1488 Os elementos que fazem parte do texto devem ser apresentados como se segue:
1489 Primeira página:
1490 a) Título e subtítulo (português/inglês): deve ser conciso contendo somente as
1491 informações necessárias para a identificação do conteúdo.

- 1492 b) Especificação: se o trabalho é resumo ou parte de dissertação/tese ou monografia
1493 mestrado/doutorado ou especialização, iniciação científica ou outros.
1494 c)
1495 Nome(s) do(s) autor(es): por extenso na ordem a ser publicada, contendo sua
1496 titulação e instituição à qual é afiliado(a).
1497 d) Endereço principal para correspondência e e-mail: do autor responsável pelo artigo.
1498
1499 Demais páginas: devem ser estruturadas conforme a categoria do artigo (item 3).
1500 a) Título e subtítulo (português/inglês).
1501 b) Resumo e Abstract: consiste na apresentação concisa e seqüencial, em um único
1502 parágrafo; deve ter no máximo 250 palavras, ressaltando-se o objetivo, material e
1503 métodos, resultados e conclusões.
1504 c)
1505 Palavras-chave e Keywords: correspondem às palavras ou expressões que
1506 identifiquem o conteúdo do artigo. Para a determinação dos descritores, deve-se consultar
1507 a lista de "Descritores em Ciências da Saúde – DeCS", elaborada pela BIREME ([http://](http://decs.bvs.br)
1508 decs.bvs.br). De 3 a 5 descritores.
1509 d) Introdução: deve apresentar com clareza a proposta do estudo tratado na pesquisa. O
1510 objetivo deve ser concisamente apresentado.
1511 e) Revisão de Literatura: deve ser pertinente, abrangendo os clássicos e artigos atuais.
1512 f) Relato do(s) caso(s) clínico(s): com informações claras e suficientes para bom
1513 entendimento, ilustrado com fotos. Citar autorização do paciente/responsável para
1514 divulgação do caso clínico.
1515 g) Material e métodos: identificar os métodos, equipamentos e procedimentos em detalhes
1516 suficientes para permitir que outros pesquisadores reproduzam os resultados. Métodos
1517 publicados devem ser referenciados, incluindo métodos estatísticos, oferecendo
1518 referências
1519 e descrições breves que tenham sido publicadas, mas ainda não sejam bem conhecidas,
1520 descrever métodos novos ou substancialmente modificados, dar as razões para usá-los e
1521 avaliar as suas limitações. Citar aprovação CEP (nº protocolo).
1522 h) Resultados: devem ser apresentados com o mínimo possível de discussão ou
1523 interpretação pessoal, acompanhados de tabelas e ilustrações, quando necessário. Não
1524 repetir no texto todos os dados já apresentados em ilustrações e tabelas, enfatizando
1525 somente as observações importantes. Podem ser apresentados juntamente com a
1526 discussão.
1527 i) Discussão: enfatizar os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões
1528 resultantes. Deve restringir-se ao significado dos dados obtidos, evitando-se hipóteses não

1529 fundamentadas nos resultados. Relatar observações de outros estudos relevantes e
1530 relacioná-los ao conhecimento já existente.

1531 j) Conclusão(ões) ou Considerações finais: deve(m) ser pertinente(s) ao(s) objetivo(s)
1532 propostos e justificadas nos dados obtidos. Devendo ser respondida a hipótese de
1533 trabalho.

1534 k) Referências as referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que
1535 são primeiramente mencionadas no texto. Identificar as referências no texto, tabelas

1536
1537 e legendas por números arábicos entre parênteses. Os títulos de periódicos devem
1538 ser abreviados de acordo com Index Medicus e impressos sem negrito, itálico ou grifo,
1539 devendo-se usar a mesma apresentação em todas as referências, não devendo ser
1540 pontuados. Nas publicações com até seis autores, citam-se todos; acima de seis autores,
1541 citam-se os seis primeiros, seguidos da expressão et al. A exatidão das referências é de
1542 responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos em andamento e os
1543 não publicados não devem ser incluídos na lista de referências, mas citados em notas de
1544 rodapé com asterisco.

1545
1546 Folhas à parte:

1547 a) Agradecimentos (se houver): agradecimentos de ajuda técnica, apoio financeiro e
1548 material devem especificar sua natureza, sua contribuição. Podem ser mencionadas
1549 pessoas que tenham contribuído intelectualmente para o artigo, mas cujas contribuições
1550 não justifiquem a autoria. Os autores devem obter autorização das pessoas às quais são
1551 dirigidos os agradecimentos.

1552 b) Legendas: deverão ser claras, concisas e precedidas da numeração correspondente.

1553 c) Endereço, telefone e e-mail de todos os autores: para o encaminhamento de
1554 correspondências pela Comissão de Publicação.

1555 d) Norma de publicação e declaração de responsabilidade assinada por todos os
1556 autores.

1557
1558 6.3 Citação no texto: é a menção no texto de uma informação extraída de um documento
1559 ou um canal de informação. Não serão aceitas citações no Sistema alfabético, somente
1560 no Sistema numérico (números entre parênteses): quando uma publicação tiver
1561 dois autores, ambos são citados; quando a citação tiver três ou mais autores, apenas o
1562 primeiro deve ser citado, seguido da expressão et al. Exemplos: um autor: Segundo Porto
1563 Neto (1); dois autores: Macedo, Silva (2); mais de dois autores: Alvarenga et al. (3); ou
1564 no final da frase entre parênteses (Porto Neto, Macedo, Silva, Alvarenga et al.) (4).

1565

- 1566 7. Numeração, citação, ilustrações e posição das tabelas, quadros, figuras e gráficos
- 1567 7.1As ilustrações (gráficos, desenhos, etc.) devem ser construídas preferencialmente em
- 1568 programa apropriado como Word, Excel, Corel ou outros, fornecidas em formato digital
- 1569 junto com o CD Rom do artigo e também apresentadas em folhas separadas (papel) e
- 1570 numeradas consecutivamente em algarismos arábicos.
- 1571 7.2As fotografias deverão ser fornecidas em slides ou cromos originais, não-
- 1572 digitalizadas, com cópias numeradas e com o nome do artigo, não contendo
- 1573 nenhuma forma de identificação dos autores. O autor deverá ter uma cópia deste
- 1574 material caso ocorra extravio.
- 1575 7.3.
- 1576 Câmeras digitais: Para obter uma impressão com qualidade em uma imagem digital,
- 1577 geralmente é necessário resolução entre 240 e 300 pixels por polegada (ou em termos de
- 1578 impressão, pontos por polegada, ppp). A câmera deve produzir um tamanho de imagem de
- 1579 3.900 × 5.400 pixels. As imagens deverão ser gravadas em CD-ROM e com cópia. TODAS
- 1580 AS
- 1581 ILUSTRAÇÕES (GRÁFICOS, DESENHOS, FOTOS, ETC.) ESTARÃO SUJEITAS À
- 1582 AVALIAÇÃO E
- 1583 ELAS DEVEM SER ENVIADAS SEPARADAMENTE DO TEXTO. Para mais informações,
- 1584 enviar e-
- 1585 mail para edicao@medvep.com.br.
- 1586 7.4
- 1587 As tabelas, quadros, gráficos e figuras devem ser numerados consecutivamente em
- 1588 algarismos arábicos.
- 1589 7.5
- 1590 As legendas de tabelas e quadros devem ser colocadas na parte superior destes.
- 1591 7.6
- 1592 As legendas de figuras e gráficos devem ser colocadas na parte inferior destes.
- 1593 7.7
- 1594 Todas as tabelas, quadros, figuras e gráficos, sem exceção, devem ser citados no texto.
- 1595
- 1596 8. Termos científicos
- 1597 8.1
- 1598 Os termos científicos devem ser grafados por extenso, em vez de seus
- 1599 correspondentes simbólicos abreviados.
- 1600 8.2
- 1601 Unidades de medida devem ser apresentadas rigorosamente de acordo com o Sistema
- 1602 Internacional de Medidas.

- 1603
- 1604 9. Exemplos de referências
- 1605 a) Livro com um autor
- 1606 Carranza Junior FA. Glickman periodontia clínica. 7ª ed. Trad. de André M. Rodrigues. Rio
1607 de Janeiro: Guanabara Koogan; 1992.
- 1608 b) Livro com dois autores
- 1609 Primosh RE, Mathewson RJ. Fundamentals of pediatric dentistry. 4th ed. Chicago:
1610 Quintessence; 1999.
- 1611 c) Em suporte eletrônico
- 1612
- 1613 Falzon MR. Implants: adults and children [monograph on CD-ROM]. 3rd ed. New York:
1614 Wiley; 2000.
- 1615 Carmell LP, Green DL. Histopathology [monograph online]. Philadelphia: Lippincott; 2001.
1616 [cited 2002 Jan 22]. Available from: URL: <http://www.hist.com/dentistry>
- 1617 d) Capítulo de livro
- 1618 Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. Basic and clinical
1619 pharmacology. 6th ed. Norwalk, CN: Appleton and Lange; 1995. p.361-80.
- 1620 e) Em suporte eletrônico
- 1621 Chandler RW. Principles of internal fixation. In: Wong DS, Fuller LM. Prosthesis
1622 [monograph on CD-ROM] 5th ed. Philadelphia: Saunders; 1999.
- 1623 Tichemor WS. Persistent sinusitis after surgery. In: Tichemor WS. Sinusitis: treatment plan
1624 that works for asthma and allergies too [monograph online]. New York: Health On the Net
1625 Foundation; 1996 [cited 1999 May 27]. Available from: URL: [http://www.sinuses.com/
1626 postsurg.htm](http://www.sinuses.com/postsurg.htm)
- 1627 f) Artigo de periódico
- 1628 Meira r, Barcelos R, Primo LG. Respostas do Complexo dentino-pulpar aos traumatismos
1629 em dentes decíduos. J Bras Odontopediatr Odontol Bebê 2003; 6(20):50-55.
- 1630 g) Com mais de seis autores
- 1631 Ono I, Ohura T, Narumi E, Kawashima L, Nakamura IR, Otawa LL et al. Three-dimensional
1632 analysis of craniofacial bones. J Craniomaxillofac Surg 2000; 20:49-60.
- 1633 h) Em suporte eletrônico
- 1634 Zöllner N, Antoniazzi JH. Estudo in vitro da permeabilidade radicular de dentes humanos,
1635 na presença ou não de doença periodontal. ECLER Endod [periódico online] 1999; 1(1).
1636 Disponível em: URL: <http://www.bireme.br/scler> [2000 dez. 1]
- 1637 i) Artigo sem indicação de autor
- 1638 Ethics of life and death. World Med J 2000; 46:60-64.
- 1639 j) Organização ou Sociedade como autor

- 1640 Organização Panamericana da Saúde. Prevenção e controle de doenças infecciosas. Bol
1641 Oficina Sanit Panam 1999;151:223-72.
- 1642 k) Volume com suplemento
- 1643 Shen HM. Risk assessment of nickel carcinogenicity. Environ Health Perspect 1994;102
1644 Suppl 1:275-82.
- 1645 l) Fascículo com suplemento
- 1646 Moy AB. Centripetal tension and endothelial. Chest 1994;105(3Suppl):107-8.
- 1647 m)
- 1648 Resumo
- 1649 Collins JG, Kirtland BC. Experimental periodontics retards hamster fetal growth [abstract
1650 1117]. J Dent Res 1995;74:158.
- 1651 n) Artigo citado por outros autores – apud
- 1652 Edwards MK. Magnetic resonance of the head and neck. Dent Clin North Am
1653 1993;37(4):591-611 apud Dutra VD, Fontoura HES. A utilização da ressonância magnética
1654 nuclear em odontologia: revisão da literatura e relato de caso. Rev Fac Odontol Porto
1655 Alegre 1995;36(2):20-3.
- 1656 o) Dissertações e Teses
- 1657 Soares-Gow S. Avaliação da permeabilidade da superfície dentinária radicular após
1658 apicectomia e tratamento com os lasers de Er:YAG ou CO2 9,6: um estudo in vitro [Tese
1659 de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.
- 1660 p) Em suporte eletrônico
- 1661 Ballester RY. Efeito de tratamentos térmicos sobre a morfologia das partículas de pó e
1662 curvas de resistência ao CREEP em função do conteúdo de mercúrio, em quatro ligas
1663 comerciais para amálgama [Tese em CD-ROM]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da
1664 USP; 1993.
- 1665 Lourenço LG. Relação entre a contagem de microdensidade vasal tumoral e o prognóstico
1666 do adenocarcinoma [Tese online]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo;
1667 1999[citado 1999 Jun 10]. Disponível em: URL: <http://www.epm.br/cirurgia/gastro/laercio>
- 1668 q) Trabalho apresentado em evento
- 1669 Lima MGGC, Duarte RC, Sampaio MCC. Prevalência dos defeitos de esmalte em crianças
1670 de
1671 baixo peso [resumo A027]. In: 16ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa
1672 Odontológica; 1999 set. 8-11; Águas de São Pedro. Anais. São Paulo: SBPqO; 1999. p.12.
- 1673 r) Em suporte eletrônico
- 1674 Gomes SLR. Novos modos de conhecer: os recursos da Internet para uso das Bibliotecas
1675 Universitárias [CD-ROM]. In: 10º Seminário Nacional de Bibliotecas Universitárias; 1998
1676 Out 25-30; Fortaleza. Anais. Fortaleza: Tec Treina; 1998.

- 1677 Barata RB. Epidemiologia no século XXI: perspectivas para o Brasil. In: 4º Congresso
1678 Brasileiro de Epidemiologia [online]; 1998 Ago 1-5; Rio de Janeiro. Anais eletrônicos. Rio
1679 de Janeiro: ABRASCO; 1998 [citado 1999 Jan 17]. Disponível em: URL: [http://](http://www.abrasco.com.br/apirio98/)
1680
1681 www.abrasco.com.br/apirio98/
1682
- 1683 10. Avaliação
- 1684 10.1 Os originais que deixarem de cumprir qualquer uma das normas aqui publicadas
1685 relativas à forma de apresentação, por incompletude ou inadequação, serão sumariamente
1686 devolvidos antes mesmo de serem submetidos à avaliação quanto ao mérito do trabalho e
1687 à conveniência de sua publicação.
- 1688 10.2 Uma vez aprovados na avaliação quanto à forma de apresentação, os originais serão
1689 submetidos à apreciação da Comissão de Publicação, Conselho Editorial ou de
1690 Assessores
1691 ad hoc, que dispõem de plena autoridade para avaliar o mérito do trabalho e decidir sobre
1692 a conveniência de sua publicação, podendo, inclusive, reapresentá-los aos autores, com
1693 sugestões para que sejam feitas as alterações necessárias no texto e/ou para que os
1694 adaptem às normas editoriais da revista.
- 1695 10.3 Os prazos fixados para nova submissão dos originais corrigidos serão informados no
1696 ofício que acompanha os originais e deverão ser rigorosamente respeitados. A nova
1697 submissão fora dos prazos estipulados acarretará o cancelamento definitivo do processo
1698 de
1699 avaliação.
- 1700 10.4 Os trabalhos que, a critério da Comissão de Publicação, do Conselho Editorial ou de
1701 Assessores ad hoc, não forem considerados convenientes para publicação na MEDVEP
1702 serão informados aos autores que poderão enviar para outros veículos se assim
1703 desejarem.
- 1704 10.5 Durante todo o processo de avaliação, os nomes dos avaliadores permanecerão em
1705 sigilo perante os autores, e os nomes dos autores permanecerão em sigilo perante os
1706 avaliadores. Para tanto, serão utilizados originais sem identificação dos autores.
- 1707 10.6 Sistema peer review
1708
- 1709 11. Advertências
- 1710 A preparação dos originais deve ser realizada seguindo-se rigorosamente as normas aqui
1711 publicadas. A não observância de qualquer uma das normas acarretará a devolução
1712 sumária dos originais, antes mesmo de sua apreciação pela comissão de avaliação.
- 1713 12. Custos de publicação para assinantes

1714 12.1 – Assinantes da Medvep não tem custo para publicação. Para cada grupo de 2
1715 autores,
1716 pelo menos um deve ser assinante. O envio do exemplar será feito apenas para os autores
1717 assinantes. Os demais autores caso desejem deverão fazer a aquisição do exemplar
1718 avulso, ou
1719 do artigo em PDF.

1720 13. Custos de publicação para não assinantes

1721 13.1 – Para autores que não sejam assinantes, serão cobradas as taxas de:

1722 •

1723 US\$ 15,00 (Quinze dólares), para tramitação do artigo. A submissão do artigo
1724 obrigatoriamente deve estar acompanhada da taxa de tramitação, que pode ser em
1725 cheque ou moeda. Em caso da não aprovação do artigo o valor da taxa não será
1726 devolvido.

1727 •

1728 US\$ 30,00 (Trinta dólares) por página impressa caso o artigo seja aprovado para
1729 publicação. A Taxa de publicação deverá ser paga somente após o recebimento
1730 da carta com informação da Edição de publicação do artigo, seu respectivo valor
1731 atualizado, e as formas de pagamento.

1732 13.2 – Os valores e condições de publicação podem sofrer alterações, sendo válidas
1733 sempre as
1734 normas publicadas no site na data do envio do trabalho.

1735

1736 14. Encaminhamento dos originais

1737 14.1 Toda correspondência deve ser enviada para EDITOR- MEDVEP, R. Desembargador
1738 Antonio de Paula, 2240 Sala 08 – Boqueirão – 81450-750 – Curitiba, PR. Informações
1739 suplementares: (41) 3039-1100 ou e-mail: edicao@medvep.com.br.

1740 14.2 Todos os artigos devem ser enviados com registro, preferencialmente por SEDEX,
1741 pago
1742 pelos autores.

1743

1744 15. Declaração:

1745 Título do artigo: _____

1746 _____

1747 _____

1748

1749 O(s) autor(es) abaixo assinado(s) submeto(emos) o trabalho intitulado acima à apreciação
1750 da MEDVEP – Revista Científica de Medicina Veterinária Pequenos Animais e Animais de

1751
1752 Estimação, para ser publicado, declaro(mos) estar de acordo que os direitos autorais
1753 referentes ao citado trabalho tornem-se propriedade exclusiva da MEDVEP desde a data
1754 de sua submissão, sendo vedada qualquer reprodução total ou parcial, em qualquer outra
1755 parte ou meio de divulgação de qualquer natureza, sem que a prévia e necessária
1756 autorização seja solicitada e obtida junto à MEDVEP. No caso de o trabalho não ser
1757 aceito,
1758 a transferência de direitos autorais será automaticamente revogada, sendo feita a
1759 devolução do citado trabalho por parte da MEDVEP. Declaro(amos) ainda que é um
1760 trabalho original, sendo que seu conteúdo não foi ou está sendo considerado para
1761 publicação em outra revista, quer no formato impresso ou eletrônico. Concordo(amos) com
1762 os direitos autorais da revista sobre ele e com as todas as normas acima descritas, com
1763 total responsabilidade quanto às informações contidas no artigo, assim como em relação
1764 às
1765 questões éticas.
1766

1767

1768

1769

1770

1771

1772

1773

1774

1775

1776

1777

1778

1779

1780

1781

1782 Journal of Materials Science: Materials in Medicine**1783 Title Page**

1784 The title page should include:

1785• The name(s) of the author(s)

1786• A concise and informative title

1787• The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

1788• The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

1789 Abstract

1790 Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or
1791 unspecified references.

1792 Text**1793 Text Formatting**

1794 Manuscripts should be submitted in Word.

1795 • Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

1796 • Use italics for emphasis.

1797 • Use the automatic page numbering function to number the pages.

1798 • Do not use field functions.

1799 • Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

1800 • Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

1801 • Use the equation editor or MathType for equations.

1802 • Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

1803 Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

1804• LaTeX macro package (zip, 182 kB)

1805 Headings

1806 Please use no more than three levels of displayed headings.

1807 Abbreviations

1808 Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

1809 Footnotes

1810 Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the

1811 reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic

1812 details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

1813 Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters

1814 (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not

1815 given reference symbols.

1816 Always use footnotes instead of endnotes.

1817 Acknowledgments

1818 Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The

1819 names of funding organizations should be written in full.

1820 Scientific style

1821 Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units.

1822 References

1823 Citation

1824 Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

- 1825 1. Negotiation research spans many disciplines [3].
 1826 2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
 1827 3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

1828 Reference list

1829 The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for
 1830 publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use
 1831 footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

1832 The entries in the list should be numbered consecutively.

1833 • **Journal article**

1834 Smith JJ. The world of science. *Am J Sci.* 1999;36:234–5.

1835 • **Article by DOI**

1836 Slifka MK, Whitton JL. Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med.* 2000;
 1837 doi:10.1007/s001090000086

1838 • **Book**

1839 Blenkinsopp A, Paxton P. Symptoms in the pharmacy: a guide to the management of common illness.
 1840 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 1998.

1841 • **Book chapter**

1842 Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. In: Bourne GH, Danielli JF,
 1843 Jeon KW, editors. *International review of cytology.* London, Academic; 1980. pp. 251–306.

1844 • **Online document**

1845 Doe J. Title of subordinate document. In: *The dictionary of substances and their effects.* Royal Society of
 1846 Chemistry; 1999. [http://www.rsc.org/dose/title of subordinate document](http://www.rsc.org/dose/title%20of%20subordinate%20document). Accessed 15 Jan 1999.

1847 Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations.
 1848 see

- 1849 • www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

1850 For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and
 1851 reference list.

- 1852 • EndNote style (zip, 3 kB)

1853 Tables

- 1854 • All tables are to be numbered using Arabic numerals.

- 1855 • Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

- 1856 • For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

- 1857 • Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the
 1858 end of the table caption.

- 1859 • Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance
 1860 values and other statistical data) and included beneath the table body.

1861 Artwork and Illustrations Guidelines

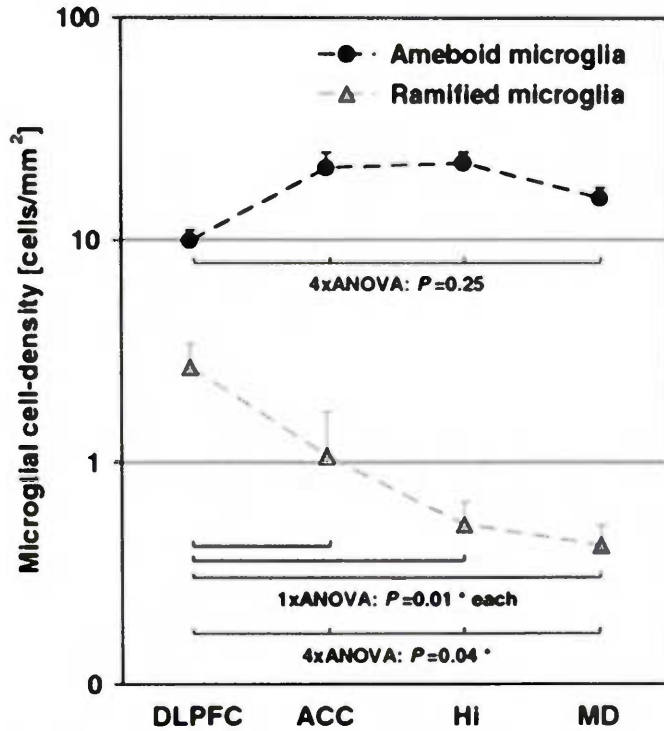
1862 For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line
 1863 drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest
 1864 accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

1865 Electronic Figure Submission

- 1866 • Supply all figures electronically.

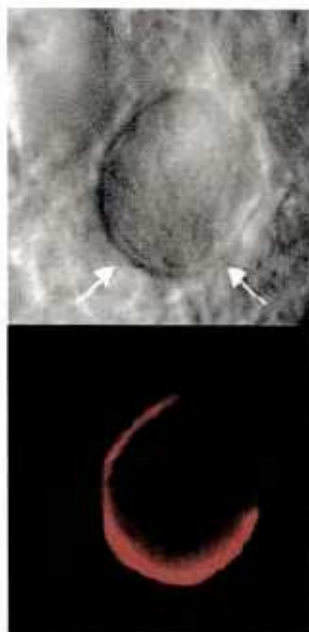
- 1867 • Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- 1868 • For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- 1869 • Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- 1870 • Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

1872 Line Art



- 1873
- 1874 • Definition: Black and white graphic with no shading.
- 1875 • Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- 1876 • All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- 1877 • Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- 1878 • Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

1881 Halftone Art



1882

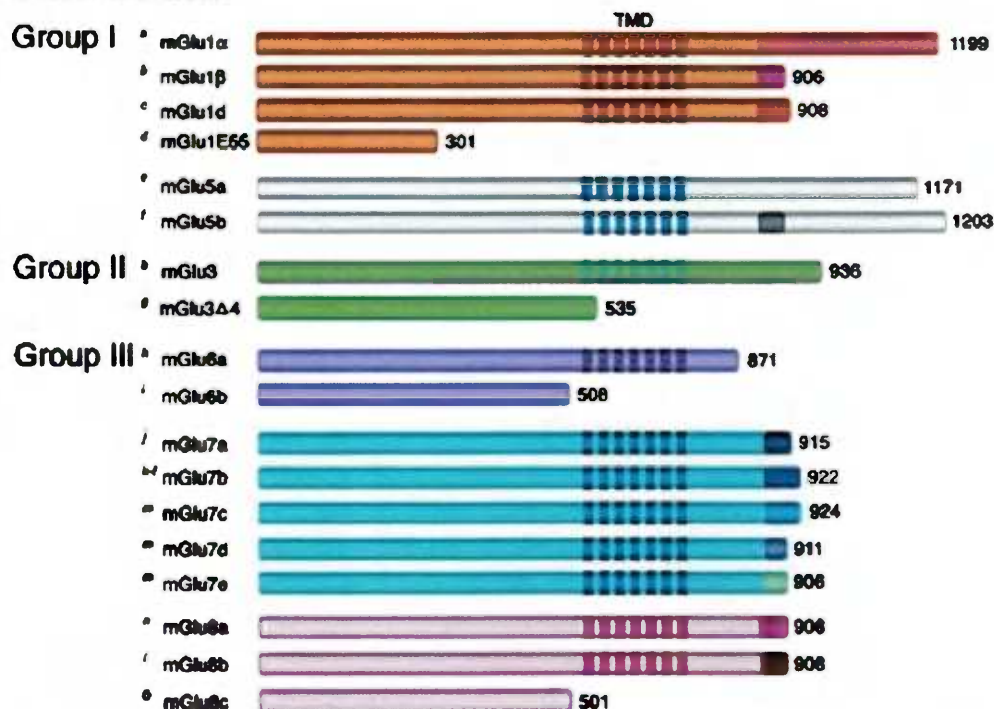
1883• Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

1884• If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

1885

1886• Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

1887 Combination Art



1888

1889• Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

1890

1891• Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

1892 Color Art

1893• Color art is free of charge for online publication.

1894• If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be

1895 visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple

1896 way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different
1897 colors are still apparent.

1898• If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

1899• Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

1900 Figure Lettering

1901 • To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

1902 • Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

1903 • Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and

1904 20-pt type for the axis label.

1905 • Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

1906 • Do not include titles or captions within your illustrations.

1907 Figure Numbering

1908• All figures are to be numbered using Arabic numerals.

1909• Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

1910• Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

1911• If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive

1912 numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online

1913 appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

1914 Figure Captions

1915 • Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the
1916 captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

1917 • Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

1918 • No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the
1919 caption.

1920 • Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate
1921 points in graphs.

1922 • Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at
1923 the end of the figure caption.

1924 Figure Placement and Size

1925• When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

1926• For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234
1927 mm.

1928• For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198
1929 mm.

1930 Permissions

1931 If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright
1932 owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for
1933 free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In
1934 such cases, material from other sources should be used.

1935 Accessibility

1936 In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

1937• All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-
1938 Braille hardware)

1939• Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then
1940 be able to distinguish the visual elements)

- 1941• Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1
- 1942 **Guidance to Authors**
- 1943 **Text**
- 1944 Content supplement
- 1945• The typical length of the article is suggested to be 5 pages of text. However, shorter and longer articles will
- 1946 be considered for publication. An uninterrupted page of text contains approximately 1,300 words. A typical
- 1947 Article contains about 3,000 words of text supplemented by five small display items (figures and/or tables)
- 1948 including their figure caption/table descriptions. References are not included in the maximum 5 pages of
- 1949 text.
- 1950 Article Structure: new category
- 1951• Every article is required to consist of the following sections: Introduction, Materials and Methods, Results,
- 1952 Discussion, Conclusion, and Acknowledgments.
- 1953• Introduction: Offers background information and a statement of the author's hypothesis. An introduction
- 1954 usually describes the theoretical background, indicates why the work is important, states a specific research
- 1955 question, and poses a specific hypothesis to be tested.
- 1956• Materials and Methods: The methods section explains exactly how the authors performed the experiment. It
- 1957 describes both specific techniques and the overall experimental strategy used by the scientists.
- 1958 Results:
- 1959• The results section contains the data collected during experimentation. It presents an objective view of the
- 1960 results using appropriate statistical analysis.
- 1961• Every article that contains statistical testing should clearly identify the name of the statistical evaluation, the
- 1962 n for each statistical analysis, the comparisons of interest, a justification for the use of that test, the alpha
- 1963 level for all tests, whether the evaluations were one-tailed or two-tailed, and the actual P value for each test
- 1964 (not merely "significant" or " $P < 0.5$ ").
- 1965• Discussion: The discussion section explains the authors interpretation of their data and how they connect it
- 1966 to other published works in the field. Authors must use the discussion to describe what their work suggests
- 1967 and how it relates to other studies. In this section, authors can anticipate and address any possible objections
- 1968 to their work. The discussion section is also a place where authors can suggest areas of improvement for
- 1969 future research.
- 1970• Conclusions: The conclusion section summarizes the fundamental findings of the work in relation to the
- 1971 tested hypothesis and impact to the field of study.
- 1972• Acknowledgments: Acknowledgments are a brief statement at the end of the references and notes. It should
- 1973 comprise the following:
- 1974• funding information pertinent to the performed work
- 1975• Any clarification regarding conflicts of interest of the authors.
- 1976• An optional note describing the roles or responsibilities of the authors or supporting staff.
- 1977 **Electronic Supplementary Material**
- 1978 Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be
- 1979 published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as
- 1980 certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.
- 1981 **Submission**
- 1982• Supply all supplementary material in standard file formats.
- 1983• Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation
- 1984 and e-mail address of the corresponding author.
- 1985• To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long
- 1986 download times and that some users may experience other problems during downloading.
- 1987 **Audio, Video, and Animations**
- 1988• Always use MPEG-1 (.mpg) format.

1989 Text and Presentations

1990• Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

1991• A collection of figures may also be combined in a PDF file.

1992 Spreadsheets

1993• Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.

1994• If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls

1995 files (MS Excel).

1996 Specialized Formats

1997• Specialized format such as .pdb (chemical), .vrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be

1998 supplied.

1999 Collecting Multiple Files

2000• It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

2001 Numbering

2002• If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation,

2003 similar to that of figures and tables.

2004• Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource

2005 3)", "... additional data are given in Online Resource 4".

2006• Name the files consecutively, e.g. "ESM_3.mpg", "ESM_4.pdf".

2007 Captions

2008• For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

2009 Processing of supplementary files

2010• Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion,

2011 editing, or reformatting.

2012 Accessibility

2013 In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make

2014 sure that

2015• The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

2016• Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to

2017 seizures caused by such effects are not put at risk)

2018 Does Springer provide English language support?

2019 Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This

2020 may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case,

2021 you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language

2022 will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review

2023 process.

2024 The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer publishes in.

2025 Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

2026 Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

2027 For Authors from China

2028 文章在投稿前进行专业的语言润色将对作者的投稿进程有所帮助。作者可自愿选择使用Springer推荐的编辑

2029 服务，使用与否并不作为判断文章是否被录用的依据。提高文章的语言质量将有助于审稿人理解文章的内容

2030 ，通过对学术内容的判断来决定文章的取舍，而不会因为语言问题导致直接退稿。作者需自行联系Springer

2031 推荐的编辑服务公司，协商编辑事宜。

2032 • 理文编辑

2033 For Authors from Japan

- 2034 ジャーナルに論文を投稿する前に、ネイティブ・スピーカーによる英文校閲を希望されている方には、
 2035 Edanz社をご紹介します。サービス内容、料金および申込方法など、日本語による詳しい説明はエダ
 2036 ンズグループジャパン株式会社の下記サイトをご覧ください。
 2037 ● エダンズ グループ ジャパン

2038 For Authors from Korea

- 2039 영어 논문 투고에 앞서 원어민에게 영문 교정을 받고자 하시는 분들께 Edanz 회사를 소개해 드립니다.
 2040 서비스 내용, 가격 및
 2041 신청 방법 등에 대한 자세한 사항은 저희 Edanz Editing Global 웹사이트를 참조해 주시면 감사하겠습니다.
 2042 ● Edanz Editing Global

2043 After acceptance

- 2044 Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web
 2045 page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order
 2046 OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.
 2047 Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the
 2048 proofs.

2049 Open Choice

- 2050 In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article
 2051 is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option,
 2052 Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based
 2053 article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink.
 2054 ● Springer Open Choice

2055 Copyright transfer

- 2056 Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication
 2057 and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under
 2058 copyright laws.
 2059 Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open
 2060 access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

2061 Offprints

- 2062 Offprints can be ordered by the corresponding author.

2063 Color illustrations

- 2064 Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to
 2065 make a contribution towards the extra costs.

2066 Proof reading

- 2067 The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the
 2068 text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not
 2069 allowed without the approval of the Editor.
 2070 After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to
 2071 the article.

2072 Online First

- 2073 The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable
 2074 with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

2075

2076

2077 **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied**
2078 **Biomaterials**

2079 Copyright © 2010 Wiley Periodicals, Inc., A Wiley Company



2080

2081 Edited By: Jeremy L. Gilbert

2082 Impact Factor: 2.308

2083 ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2012: 13/27 (Materials Science Biomaterials); 27/79 (Engineering
2084 Biomedical)

2085 Online ISSN: 1552-4981

2086 Associated Title(s): [Journal of Biomedical Materials Research Part A](#)

2087

2088

2089 **Author Guidelines**

2090

2091

2092 Visit the new [Author Services](#) today! Features include:

- 2093 • **Free access to your article for 10 of your colleagues**; each author of a paper may nominate up to
- 2094 10 colleagues. This feature is retrospective—even articles already published offer this feature for free
- 2095 colleague access.
- 2096 • **Access in perpetuity** to your published article.
- 2097 • **Production tracking** for your article and **easy communication with the Production Editor** via e-
- 2098 mail.
- 2099 • **A list of your favorite journals** with quick links to the Editorial Board, Aims & Scope, Author
- 2100 Guidelines and if applicable the Online Submission website; journals in which you have tracked
- 2101 production of an article are automatically added to your Favorites.
- 2102 • Guidelines on [optimizing your article](#) for maximum discoverability.

2103 **Publication Forms**

- 2104 • [Permission Request Form](#)

2105

2106

2107

2108 **Author Guidelines**

2109

2110

2111

Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials

2112

2113

Information for Contributors

2114

2115

2116

2117 **Aims and Scope**

2118 **Journal of Biomedical Materials Research Part B: *Applied Biomaterials*** is an official journal of the Society
 2119 for Biomaterials, the Japanese Society for Biomaterials, the Australasian Society for Biomaterials, and the
 2120 Korean Society for Biomaterials. It is a peer-reviewed journal serving the needs of biomaterials
 2121 professionals who devise, promote, apply, regulate, produce, and market new biomaterials and medical
 2122 devices. Papers are published on device development, implant retrieval and analysis, manufacturing,
 2123 regulation of devices, liability and legal issues, standards, reviews of different device areas, and clinical
 2124 applications. Published manuscripts fit into one of six categories: original research reports, clinical device-
 2125 related articles, short research and development reports, review, special report, or columns and editorials.
 2126 Manuscripts from all countries are invited but must be in English. Authors are not required to be members
 2127 of a Society for Biomaterials.

2128 **Types of Articles Considered for Publication**

2129 **Original Research Reports:** Full-length papers consisting of complete and detailed descriptions of a
 2130 research problem, the experimental approach, the findings, and appropriate discussion. Findings should
 2131 represent significant new additions to knowledge.

2132 **Clinical Device-Related Articles:** Full-length papers addressing such issues as material processing,
 2133 device construction, regulatory matters, clinical trials, and device retrieval.

2134 **Reviews:** Scholarly and critical topic-oriented reviews that present a state-of-the-art view. While most
 2135 reviews are solicited, persons interested in contributing may contact the Editor.

2136 **Special Reports:** Reports of special topic-oriented symposia, device retrieval protocols, or other special
 2137 reports not described in the above categories, yet of interest to the applied biomaterials research
 2138 and development community. Potential contributors should contact the Editor before submitting special
 2139 reports.

2140 **Columns and Editorials:** While columns and guest editorials are preponderantly solicited, persons
 2141 interested in becoming columnists or contributing editorials are encouraged to contact the Editor.

2142 **Submission of Manuscripts**

2143 **Online Submission:**

2144 *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* is now receiving submitted
 2145 manuscripts online at <http://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-b>.

2146

2147 Submit all new manuscripts online. Launch your web browser and go
 2148 to <http://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-b>. Check for an existing user account. If you are submitting for the
 2149 first time, and you do not find an existing account, create a new account. Follow all instructions.

2150 At the end of a successful submission, a confirmation screen with manuscript number will appear and you
 2151 will receive an e-mail confirming that the manuscript has been received by the journal. If this does
 2152 not happen, please check your submission and/or contact tech support using the GetHelp Now link in the
 2153 right corner of any screen.

2154 **Upon Acceptance:** Manuscript files will now automatically be sent to the publisher for production. It is
 2155 imperative that files be in the correct format to avoid a delay in the production schedule.

2156 *JBMR Part B* has adopted a policy that requires authors to make a statement concerning potential conflict
 2157 of interest relating to their submitted articles. The Editorial Board asks authors of original reports
 2158 and reviews to disclose, at the time of submission: (1) any financial or employment arrangements they may
 2159 have with a company whose product figures prominently in the submitted manuscript or with a company

2160 making a competitive product; and (2) any grants or contracts from a government agency, a
 2161 nonprofit foundation, or a company supporting the preparation of the manuscript or the described research.
 2162 This information will be available to the reviewers of the manuscript. If the article is accepted for
 2163 publication, the editor will discuss with the authors the manner in which such information may
 2164 be communicated to the reader.

2165 At the time of submission, *JBMR Part B* asks authors to certify that all animals utilized in their research
 2166 were cared for according to the policies and principles established by the Animal Welfare Act and the
 2167 NIH Guide for Care and Use of Laboratory Animals.

2168 **Review Process:** All original reports and reviews receive critical review by at least two reviewers with
 2169 expertise in the major subject area of the paper. Reviewers may recommend "Acceptance as is,"
 2170 "Acceptance with modification," or "Rejection." If modification is required, the manuscript is returned to the
 2171 author(s). The revised manuscript is then re-reviewed by the original reviewers, and even re-revised if
 2172 necessary. Differences in opinion are resolved by submission either to a third reviewer or the Editor.

2173 Copyright/Licensing

2174 If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive
 2175 an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service
 2176 (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper. **For**
 2177 **authors signing the copyright transfer agreement:**

2178 If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright
 2179 transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples
 2180 associated with the Copyright FAQs below:

2181 CTA Terms and Conditions http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

2182 **For authors choosing OnlineOpen:** If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will
 2183 have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

2184 Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

2185 Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

2186 To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs
 2187 hosted on Wiley Author Services http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and
 2188 visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright-License.html>.

2189 If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of
 2190 the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY
 2191 license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For
 2192 more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please
 2193 visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

2194 For RCUK and Wellcome Trust authors click on the link below to preview the terms and conditions of this
 2195 license:

2196 Creative Commons Attribution License OAA

2197 To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs
 2198 hosted on Wiley Author Services

2199 http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and

2200 visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright-License.html>.

2201 Organization and File Formats

2202 **Manuscript:** For optimal production, prepare manuscript text in size 12 font on 8-1/2 x 11 inch page,
 2203 double-spaced, with at least 1-inch margins on all sides. Text files should be formatted as .doc or .rtf files.

2204 The results and discussion sections must be written separately and cannot be combined. Refrain from
 2205 complex formatting; the Publisher will style your manuscript according to the Journal design
 2206 specifications. Do not use desktop publishing software such as PageMaker or Quark Xpress or other
 2207 software such as LaTeX. If you prepared your manuscript with one of these programs, export the text to a
 2208 word processing format. Please make sure your word processing programs "fast save" feature is turned
 2209 off. Please do not deliver files that contain hidden text: for example, do not use your word processor's
 2210 automated features to create footnotes or reference lists. Manuscripts including references (but not figures
 2211 or tables) should be no longer than 18 pages.

2212
 2213 Please be sure to submit your illustrations and tables as separate files; the system will automatically create
 2214 a pdf file of your paper for the reviewers.

2215
 2216 Original research and short reports should appear in the following order: title page (including authors and
 2217 affiliations), abstract, keywords, introduction, materials and methods, results,
 2218 discussion, acknowledgments, references, figure legends. Number pages consecutively starting with the
 2219 title page as page 1. Abbreviations must conform to those listed in Council of Biology Editors' CBE Style
 2220 Manual, 5th Edition.

2221
 2222 When mentioning a material, chemical reagent, instrument, or other product, use the generic name only. If
 2223 further identification (proprietary name, manufacturer's name and address) is absolutely required, list it
 2224 in parentheses.

2225
 2226 **Title Page:** List the full title of the paper and each author's full name (first name, middle initial(s),
 2227 surname), department, institution, city, and state (and country if other than the United States). Indicate the
 2228 name and address of the author to whom reprint requests should be sent.

2229
 2230 **Abstract and Keywords:** Include an abstract of about 200 words maximum summarizing the aims,
 2231 findings, and conclusions of the paper. Below the abstract, list five keywords or phrases that best
 2232 characterize the subject matter of the manuscript.

2233
 2234 **Running Heads:** Supply a short title of no more than 65 characters, including spaces and punctuation, to
 2235 be used for running head copy.

2236
 2237 **References:** Number references consecutively as they appear in the text. Material accepted for publication
 2238 but not yet published may be listed in the References, but unpublished observations, personal
 2239 communications, and material submitted for publication but not yet accepted should be cited parenthetically
 2240 within the text (and not included among the numbered references). Style reference entries using the
 2241 Council of Biology Editors Style Manual, 5th Edition formats:

2242 *For journal articles:*

2243 Alexander A, Green WS. Total hip replacements: A second look. *J Soc Biomater* 1989;45:345–366.

2244 *For books/chapters:*

2245 Ricci JL, Guichet J-M. Total hip replacement: A third look. Cindra AB, Franklin DE, editors. *State of the art
 2246 orthopaedics*, vol 3, Hips. New York: Wiley; 1988:56–59.

2247 *For abstracts:*

- 2248 Davidson GRH. Total hip replacement: A fifth look. *TransABCS*1987;22-341–345.
- 2249 *For presentations:*
- 2250 Goodenough T. Total hip replacement: A sixth look. Presented at the 3rd Annu Mtg Orthop Res Soc,
2251 Boston, December 5–7, 1989.
- 2252
- 2253 **Figure Legends:** Please supply complete captions for all figures. Captions are to appear on a separate
2254 page at the end of the manuscript.
- 2255
- 2256 **Tables:** Please save Tables separately and supply numbers and titles for all. All table columns should have
2257 an explanatory heading. Tables should be submitted as doc or rtf files (it is preferred that tables
2258 are prepared using Word's table edit tool.)
- 2259
- 2260 **Illustrations:** When preparing digital art, please consider:
- 2261
- 2262 **Resolution:**
- 2263 The minimum requirements for resolution are:
- 2264 1200 DPI/PPI for black and white images, such as line drawings or graphs.
- 2265 300 DPI/PPI for picture-only photographs
- 2266 600 DPI/PPI for photographs containing pictures and line elements, i.e., text labels, thin lines, arrows.
- 2267 These resolutions refer to the output size of the file; if you anticipate that your images will be enlarged or
2268 reduced, resolutions should be adjusted accordingly.
- 2269
- 2270 **Formats:**
- 2271 For the editorial review process, GIF and JPEG files are acceptable; upon submission of a revision, TIFF or
2272 EPS files will be required. For the editorial review process, color images may be submitted in RGB
2273 color; upon revision, CMYK color will be required. Delivery of production-quality files early in the review
2274 process may facilitate smooth and rapid publication once a manuscript has been accepted.
- 2275 Note that these file formats are not acceptable for printing: JPG, GIF, PNG, PCX, PNG, XBM, Word, and
2276 Excel. We recommend creating your graphics in Photoshop, Illustrator, or Freehand and importing them into
2277 your page applications as TIFFs with all fonts included. Do not scan figures as JPEGs and convert to TIFFs.
- 2278 For further guidance on preparing digital figure files, authors are encouraged to
2279 visit <http://cjs.cadmus.com/da/applications.asp>.
- 2280
- 2281 To ensure that your digital graphics are suitable for print purposes, please go to RapidInspector™
2282 at <http://rapidinspector.cadmus.com/zwi/index.jsp>. This free, stand-alone software application will help you
2283 to inspect and verify illustrations right on your computer.
- 2284
- 2285 A legend must be provided for each illustration and must define all abbreviations used therein. Legends
2286 should be placed at the end of the manuscript text file.
- 2287
- 2288 **Color Illustrations:** Color figures are generally printed in the Journal at the author's expense. The
2289 published will provide cost estimates prior to printing. A limited number of color figures that are
2290 of critical importance and that significantly enhance the presentation will be considered for publication at the
2291 publisher's expense subject to editorial recommendation. Final decision on publication of color figures will be

2292 at the discretion of the Editor. All color figures will be reproduced in full color in the online edition of the
2293 journal at no cost to authors. For best reproduction, bright, clear colors should be used. Dark colors against
2294 a dark background do not reproduce well; please place your color images against a white background
2295 wherever possible.

2296
2297

2298 **Reprints:** Reprints may be ordered

2299 at <https://caesar.sheridan.com/reprints/redirect.php?pub=10089&acro=JEMB>.

2300
2301

2302 Note to NIH Grantees:

2303 Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH
2304 grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available
2305 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate.

2306

2307

??? Production Questions ???

2308

JBMB Production

2309

E-mail: jrnprodjbmb@cadmus.com

2310

2311

2312