

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA DA REGENERAÇÃO ÓSSEO EM COELHOS,
ATRAVÉS DO USO DE QUITOSANA, HIDROXIAPATITA E GELATINA.**

Rosane Stephany Carvalho Silva

Patos

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS - PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**AVALIAÇÃO TOMOGRÁFICA DA REGENERAÇÃO ÓSSEO EM COELHOS,
ATRAVÉS DO USO DE QUITOSANA, HIDROXIAPATITA E GELATINA.**

Rosane Stephany Carvalho Silva

Graduanda

Orientador: Prof. Dr. Adílio Santos de Azevedo – IFPB/SOUSA

Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

Patos – PB

Abril 2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S586t Silva, Rosane Stephany Carvalho

Avaliação tomográfica da regeneração óssea em coelhos, através do uso de quitosana, hidroxiapatita e gelatina / Rosane Stephany Carvalho Silva. – Patos, 2014.

26f.: il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

“Orientação: Prof. Dr. Adílio Santos de Azevedo”.

“Co-orientação: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá”.

Referências.

1. Biomateriais. 2. Regeneração Óssea. I. Título.

CDU 615.463:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ROSANE STEPHANY CARVALHO SILVA

Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médica Veterinária.

ENTREGUE EM ____/____/____

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Adílio Santos de Azevedo

Nota

Prof(a). Msc. Ana Lucélia de Araujo

Nota

Prof. Dr Marcelo Jorge Calvacanti de Sá

Nota

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ROSANE STEPHANY CARVALHO SILVA

Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Medica Veterinária.

APROVADO EM...../...../.....

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Adílio Santos de Azevedo

Prof(a). Msc. Ana Lucélia de Araujo

Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

*A minha mãe, Rosangela Carvalho por todo amor, compreensão, apoio e incentivo a mim
dedicados em todos os anos de minha vida, Com amor, dedico.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e forças e sempre me abençoar e nunca me desamparar.

A minha mãe Rosângela Carvalho, a pessoa mais maravilhosa do mundo por toda sua dedicação e por todo o esforço e trabalho para a minha formação e conselhos que me tornaram a pessoa que sou hoje, sendo meu maior exemplo de vida, espero orgulhar-la cada dia mais. Obrigada por tudo.

Aos meus irmãos Ismael, Rafael e Ramon, pelo carinho e apoio e mesmo distante sempre estavam presente em minha vida e por torcerem pelo meu sucesso.

Aos meus vizinhos Marluce e Edson que são como se fossem da família, por sempre se preocuparem com meu bem estar por toda a ajuda e conselhos, sou muita grata a Deus por ter-lós em minha vida.

Ao meu namorado Lucas, por todo o amor e companheirismo e por aguentar meus abusos nos momentos de estresse.

As minhas amigas Aldenora, Janaina, Hislania, Sara, Lísley, Patricya, Gabrielle, que fiz aqui em Patos e sei que ficarão pra sempre em minha vida, pois são amizades sinceras.

Ao meu grande amigo Samuel Lucena que me ajudou no experimento e sempre estava pronto a me ajudar.

Ao meu orientador Adílio, obrigada pela confiança e ensinamentos depositados, por todo apoio durante a realização desse experimento, você que acompanhava de perto meu desespero e estava sempre pronto a ajudar.

Ao professor Sérgio Azevedo por fazer a análise estatística, fator importante para a conclusão deste experimento.

A equipe cirúrgica que participou do experimento.

Ao Grupo de Biomateriais do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) por fornecerem os compósitos utilizados no experimento.

Aos animais utilizados no experimento, que tornaram possível escrever esse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIACÕES

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
OBJETIVOS.....	14
Objetivo geral.....	14
Objetivo Específicos.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Hidroxiapatita	16
2.2... Quitosana.....	17
2.3 Gelatina	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1... Animais.....	18
3.2 Aquisição dos implantes.....	19
3.3 Procedimento cirúrgico.....	19
3.4 Tomografia computadorizada.....	20
3.5 Análise estatística.....	22
4. RESULTADOS	22
5. DISCUSSÃO.....	23
6. CONCLUSÃO.....	25
7. REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

	Pag.
Tabela 1 Média e desvio padrão da densidade mineral óssea em UH da lacuna óssea realizada na região metafisária tibial proximal em coelhos.....	23
Gráfico 1 Avaliação da densitometria óssea em UH da lacuna óssea realizada na região metafisária tibial proximal em coelhos.....	22

LISTA DE FIGURAS

	Pg.
Figura 1 Ossos da tíbia posicionados anatomicamente, iniciação da tomografia computadorizada.....	21
Figura 2 Digitalização das imagens tomográficas, calculo do valor de atenuação em UH.....	21

LISTA DE ABREVIACOES

C- Grupo controle

IM- Intramuscular

IV- Via Intramuscular

QHG- Quitosana, Hidroxiapatita, Gelatina

TC- Tomografia computadorizada

UH- Unidades Hounsfield

RESUMO

SILVA, ROSANE STEPHANY CARVALHO. **Avaliação tomográfica da regeneração óssea em coelhos, através do uso de quitosana, hidroxiapatita e gelatina.** (Trabalho de conclusão de curso em Medicina Veterinária).

Devido à busca constante da medicina para obter um modelo de tratamento em que se possa acelerar o processo de regeneração óssea sem trazer prejuízos aos pacientes, o presente estudo busca avaliar a eficácia do uso de quitosana, hidroxiapatita e gelatina na regeneração do tecido ósseo em coelhos. Foram utilizados 8 coelhos adultos, 4 machos e 4 fêmeas, da raça Nova Zelândia, pesando em média 3 kg. Os animais foram submetidos a um período experimental de 30 dias. Onde cada animal foi controle denominado Grupo controle (C), que não foi tratado, usado como controle, em que foi feita uma osteotomia no membro direito na metáfise tibial com broca ortopédica de 4mm, e tratamento Grupo (QHG) que foi o grupo tratado com o composto contendo em sua formulação quitosana, hidroxiapatita e gelatina onde foram introduzidas na metáfise tibial esquerda após a osteotomia com a mesma broca usada no grupo controle. Os animais foram eutanasiados aos 30 dias após o procedimento cirúrgico. Realizou-se tomografias computadorizadas (TC), com 30 dias de pós-operatório de acordo com o momento da eutanásia dos animais, visando acompanhar o processo de reparação óssea. Para a comparação dos grupos quanto à cicatrização óssea foi utilizado o teste *t* de Student para dados com distribuição normal, ou o teste U de Mann-Whitney para dados sem distribuição normal. O nível de significância adotado em todas as análises será de 5%. Mesmo não apresentando diferença estatística entre os grupos, o grupo QHG apresentou média de radiopacidade maior que o grupo C.

Palavras-chave: Biomateriais, Fosfatos de cálcio, Biopolímeros, Compósitos, Osteotomias.

ABSTRACT

SILVA, ROSANE STEPHANY CARVALHO. **Tomography assessment of bone regeneration in rabbits, using chitosan, hydroxyapatite and gelatin.** (Work completion of Veterinary Medicine course).

Due to constant search of medicine for a model of treatment that can accelerate the process of bone regeneration without bringing harm to patients, the present study aimed to evaluate the efficacy of chitosan , gelatin and hydroxyapatite in bone tissue regeneration in rabbits . 8 adult rabbits, 4 males and 4 females, New Zeland, weighing on average 3 kg were used . The animals were subjected to a trial period of 30 days. Where each animal control was called control group (C), which was not treated and used as a control, in which an osteotomy was made in the right tibial metaphysis member in orthopedic drill 4mm, and treatment group (QHG) which was treated group with the composite satisfaction in their formulation chitosan, hydroxyapatite and gelatin which were introduced in the left tibial metaphysis after osteotomy with the same drill used in the control group. The animals were euthanized at 30 days after surgery. Was performed computed tomography (CT), 30 days postoperatively according to the euthanasia of animals, aiming to follow the process of bone repair. To compare the groups regarding bone healing Student's t test for normally distributed data or the Mann - Whitney test for data without normal distribution was used. The significance level for all analyzes will be 5 % . Even with no significant difference between groups, the QHG group showed higher radiopacity than group C.

KEYWORDS: Biomaterials, Calcium phosphates, Biopolymers, Composites, osteotomy.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a eficácia do compósito quitosana, hidroxiapatita e gelatina, na regeneração do tecido ósseo de coelhos.

.

Objetivos específicos

- a) Caracterizar o processo de regeneração óssea influenciado pelo tratamento empregado;
- b) Quantificar o tecido ósseo neorformado pelo tratamento;
- c) Comparar a eficácia do tratamento na regeneração do tecido ósseo em coelhos;
- d) Quantificar por meio da tomografia computadorizada o tecido ósseo neorformado

1. INTRODUÇÃO

A busca constante de terapias cada vez mais eficazes é um desafio aos profissionais e pesquisadores das áreas médicas, sejam eles da Medicina, Medicina Veterinária ou Odontologia. O desejo de se desenvolver tratamentos a base de compósitos que possam acelerar e maximizar o processo de regeneração dos tecidos orgânicos vem sendo alvo de várias investigações e isso levou a interação de várias áreas, sejam elas tecnológicas, engenharia, mecânica e informática. Essa multidisciplinaridade é pré-requisito para os grandes avanços que a cada dia podemos observar nas terapias médicas, sendo essa grande área chamada de engenharia de tecidos. No contexto da engenharia do tecido ósseo, vários são os materiais que podem ser utilizados com o objetivo de favorecer a osteogênese e proporcionar aos pacientes uma recuperação mais rápida e satisfatória, sem complicações adjacentes, tais como as cerâmicas de fosfatos de cálcio, biopolímeros e metais. Dessa forma, fica evidente a importância das pesquisas dos biomateriais com o objetivo de desenvolver compósitos com alto poder osteogênico e favorecer o processo de cura dos pacientes, sendo às vezes essas terapias a única chance que o mesmo tem de poder ser curado de uma possível lesão ou pelo menos ter uma melhor qualidade de vida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O emprego de materiais intitulados biomateriais vem sendo cada vez mais constante como adjuvante no processo de regeneração do tecido ósseo seja na Medicina, Odontologia e na Medicina Veterinária. A utilização desses substitutos ósseos é requerida em várias ocasiões tais como: traumatismos de alta energia, processos infecciosos, neoplasias ósseas e artrodeses. Isso se justifica em muitos casos em que a obtenção de enxertos ósseos autógenos esteja impossibilitada. Então podemos definir que os biomateriais são estruturas utilizadas em meios orgânicos, com função de interagir com o meio biológico produzindo algum efeito benéfico (WILLIAMS, 1987).

Dentre os grupos de biomaterias que vem merecendo destaque em pesquisas médicas no processo de reparo ósseo, podemos destacar os cimentos de fosfatos de cálcio e os biopolímeros (AZEVEDO et al, 2012; KHOR e LIM, 2003).

2.1 Hidroxiapatita

O fosfato de cálcio mais estudado e que merece destaque dentre esta classe de biomaterias é a hidroxiapatita, que está presente no organismo dos vertebrados, compondo 55% do tecido ósseo e 96% do esmalte dentário. Apresenta formulação química $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, com relação cálcio/fósforo de 1,67, dando característica de baixa solubilidade e grande densidade em relação a outros fosfatos de cálcio, sendo de difícil absorção (GUSTALDI e APARECIDA, 2010).

A hidroxiapatita preenche pré-requisitos básicos de biocompatibilidade, bioatividade e ser bioinerte (LEGEROS, 2002). Essas características são devidas esse fosfato de cálcio apresentar formulação físico-química bem semelhante com a parte inorgânica do osso, sendo composto quase que exclusivamente de cálcio e fósforo (GUSTALDI e APARECIDA, 2010). Dessa forma esse tipo de implante serve como substrato, disponibilizando íons cálcio e fósforo para que os osteoblastos produzam matriz óssea pela absorção osteoclástica, e assim possa acelerar o processo de osteogênese pela sua capacidade de osteocondução (AZEVEDO et al., 2012; BOHNER, 2010). No estudo de Vital et al. (2006), utilizando hidroxiapatita, foi evidenciado excelente biocompatibilidade

do implante e que ainda o processo de regeneração do tecido ósseo ocorreu mais rápido em relação ao grupo não tratado. Em outro estudo utilizando vários fosfatos de cálcio, ficou evidenciado que a hidroxiapatita estimula um processo de neoformação óssea em maior quantidade que outros tratamentos (AZEVEDO et al.; 2012).

2.2 Quitosana

Dentre os biopolímeros que nos últimos anos vem sendo mais estudados em vários segmentos médicos e em especial nos processos regenerativos ósseos está a quitosana (FROHBERGH et al.; 2012), que é um polissacarídeo, extraída da quitina que é o segundo biopolímero mais abundante da natureza por ser encontrado principalmente na carapaça de crustáceos (AZEVEDO et al.; 2007). Apresenta fórmula química N-acetil-D-glicosamina e apresenta-se bem semelhante à matriz extracelular dos tecidos inclusive o tecido ósseo (UENO et al., 2001), apresentando receptores para manose em sua estrutura química de superfície, ativando assim macrófagos a sintetizarem fatores inflamatórios como fator beta transformador, fator de necrose tumoral e interleucinas 6 e 8, que estimulam o processo inflamatório, acelerando o reparo da lesão e atuando também na diferenciação celular (GORZELANNY et al., 2010; UENO et al., 2001). No estudo de GE et al. (2004), evidenciaram o potencial da quitosana na substituição do tecido ósseo, demonstrando que houve tanto in vitro quanto in vivo aumento de formação de matriz óssea.

A associação de biopolímeros com fosfatos de cálcio vem sendo uma alternativa viável no arsenal para incremental o processo de osteogênese, uma vez que os fosfatos de cálcio atuam como substrato para formação da matriz óssea e os biopolímeros, como por exemplo, a quitosana estimulam fatores indutores para acelerar o processo de regeneração do tecido ósseo (FROHBERGH et al., 2012; GE et al., 2004).

2.3 Gelatina

A gelatina é uma proteína colagenosa que vem sendo estudada e usada há algumas décadas em várias áreas como alimentícia, farmacêutica, cosmética e mais recentemente vem sendo alvo de estudo na engenharia de tecidos associada à biomateriais, com o intuito de favorecer o processo de cicatrização óssea (ROHANIZADEH et al., 2008; YOUNG et al., 2005). Entre os biomateriais que são associados à gelatina, podemos citar as cerâmicas de fosfatos de cálcio e os biopolímeros, sendo a gelatina um material biocompatível e que

atua na liberação controlada dos materiais e de fatores inflamatórios, favorecendo assim o processo de osteogênese pela estimulação dos osteoblastos e liberação destes fatores de crescimento (LIU et al., 2009; HUANG et al., 2005; YAO et al., 2004). No estudo de Kawai et al. (2000), eles observaram que a gelatina é um ótimo meio de liberação controlada de fator de crescimento e que essa associação favoreceu a proliferação fibroblástica, acelerando o processo de cicatrização tecidual. Já no estudo de Kim et al. (2005), utilizando compósito formado por gelatina e hidroxiapatita, observaram ligação e proliferação osteoblástica de forma satisfatória, apresentando grande potencial como material a ser usado para reparação óssea.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

O experimento foi realizado no Hospital Veterinário (HV) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) em Patos, Paraíba e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição (CEP – Protocolo Nº 10/2012.).

Foram utilizados 8 coelhos adultos, 4 machos e 4 fêmeas, da raça Nova Zelândia, pesando em média 3 kg, provenientes de um criatório da cidade de Patos PB. O período de avaliação experimental foi de 30 dias. . Durante o período experimental, os animais foram alocados em gaiolas individuais. Antes do início do experimento, os animais passaram por um período de adaptação de sete dias e início do experimento, os animais passaram por um período de adaptação de sete dias e vermifugados com Albendazol 20mg/Kg. Os coelhos foram alimentados com ração comercial balanceada e água potável fornecida *ad libitum*. Os animais foram controle deles mesmo.

Realizou-se duas osteotomias, uma em cada metáfise tibial de cada membro. Na tibia direita não foi implantado nenhum material sendo este considerado como controle do processo regenerativo ósseo. No membro esquerdo foi implantado na tibia o compósito composto de quitosana, hidroxiapatita e gelatina sendo o grupo tratamento.

Os animais foram eutanasiados aos 30 dias após o procedimento cirúrgico, as tíbias coletadas passaram pela avaliação tomográfica computadorizada.

3.2 Aquisição dos implantes

Os compósitos foram fornecidos pelo Grupo de Biomateriais do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

3.3 Procedimento cirúrgico

No pré-operatório cada animal foi submetido a jejum sólido por 4 horas e líquido por 2 horas. A tricotomia foi feita com aparelho de tricotomia compreendendo 4 cm acima e abaixo da região medial da articulação de ambos os joelhos. A medicação anestésica foi constituída de cetamina na dose de 10 mg/kg administrado pela via intravenosa (IM) e xilazina na dose de 2,5 mg/kg (IM). Houve a realização de anestesia epidural com lidocaína 2% na dose de 0,22 ml/kg associado ao tramadol na dose de 1 mg/kg em todos os animais. A anti-sepsia das áreas operatórias foram realizadas com solução alcoólica de clorexidina 0,5%.

Após a delimitação da área operatória com panos de campo, uma incisão cutânea foi efetuada ao longo da margem medial da epífise tibial de aproximadamente 3 cm, em seguida o tecido subcutâneo houve o divulsionamento até expor o perióstio, sendo este tecido incisado e expondo o osso. Foi realizado em cada metáfise proximal uma osteotomia com uma broca ortopédica circular de 4mm. O processo de osteotomia foi realizado com instilação local de solução de NaCl 0,9%, evitando assim osteólise. Esse processo realizou se nas metáfises tibiais de ambos os membros pélvicos. A osteotomia da tíbia esquerda foi colocada o compósito sendo considerado o grupo QHG (tratamento), e na osteotomia na metáfise tibial direita, não foi colocado nenhum implante, sendo constituído de grupo C (controle). Após a introdução dos implantes do grupo QHG e a confecção da osteotomia do grupo C, o perióstio e o tecido subcutâneo foram suturados com categut cromado 3-0 com sutura simples contínua. A aproximação dos bordos da ferida cirúrgica foi feita com sutura em zigue-zague com categut 3-0, a musculatura com sutura em ponto X feita com nylon cirúrgico 3-0. A pele foi unida com mononailon 3-0 empregando-se sutura simples interrompida.

Nos primeiros dez dias de pós-operatório (PO) foram feita anti-sepsia da ferida cirúrgica com solução de NaCl a 0,9% e kuraderm spray até a remoção dos pontos externos. Nos primeiros cinco dias de PO, foi administrado pela via intramuscular (IM) enrofloxacin na dose de 10mg/kg duas vezes ao dia, para evitar assim processo infeccioso. Para o controle da dor e também evitar processo inflamatório exacerbado, foi administrado pela via IM uma vez ao dia durante os três primeiros dias de PO, meloxicam na dose de 0,2 mg/kg no primeiro dia e nos dois dias subsequentes 0,1 mg/kg.

3.4 Tomografia computadorizada

Foram realizadas tomografias computadorizadas (TC), 30 dias de pós-operatório de acordo com o momento da eutanásia dos animais, visando acompanhar o processo de reparação óssea. Os valores obtidos com a medição em cada animal foram somados e calculados para obtenção da média para cada lesão óssea, avaliando e submetendo à análise estatística. Para a realização dos exames de TC, os animais foram eutanasiados e coletada as tíbias esquerda e direita de cada animal. Os ossos foram posicionados em uma placa de acordo com a posição *in vivo* que seria adotada. Como mostra a figura-1

Os exames de TC realizados com o aparelho helicoidal GE Hi-Speed FXI e protocolo com 120 kVp e auto mA na velocidade de uma rotação por segundo. Houve a obtenção das imagens sem administração de contraste iodado intravenoso. De acordo com a figura-2. A aquisição das imagens foram obtidas em cortes transversais de 1 mm de espessura com filtro para partes ósseas. Antecedendo os exames, o aparelho foi devidamente calibrado para melhor padronização dos resultados. Após o exame tomográfico e digitalização das imagens, foi calculado o valor de atenuação em HU (unidades Hounsfield) do osso a partir da média de três das regiões de interesse a serem avaliadas. Cada ROI teve sua área previamente padronizada para melhor uniformidade dos resultados. O software para análises tomográficas foi o E-film.



Figura 1- Ossos da tíbia posicionados anatomicamente, iniciação da tomografia computadorizada.



Figura 2- Digitalização das imagens tomográficas, calculo do valor de atenuação em HU (unidades Hounsfield)

3.5 Análise estatística

Para a comparação dos grupos quanto à cicatrização óssea na avaliação por tomografia computadorizada, foi utilizado o teste *t* de Student para dados com distribuição normal, ou o teste U de Mann-Whitney para dados sem distribuição normal.

4. RESULTADOS

Na avaliação de TC para medir a densitometria óssea em UH entre os dois grupos, podemos observar de acordo com o gráfico 1 que não houve diferença estatística ($p = 0,248$). Mesmo assim a média de radiopacidade da região óssea que foi implantado o compósito foi maior comparada a do grupo controle de acordo com a tabela 1.

Gráfico 1 – Avaliação da densitometria óssea em UH da lacuna óssea realizada na região metafisária tibial proximal em coelhos.

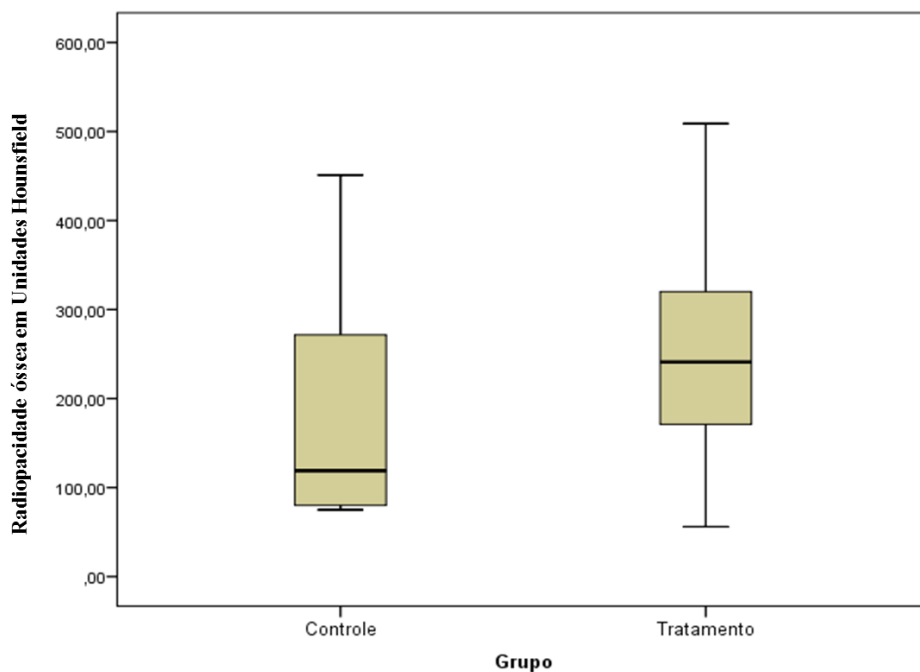


Tabela 1 – Média e desvio padrão da densidade mineral óssea em UH da lacuna óssea realizada na região metafisária tibial proximal em coelhos.

COELHOS	Densidade mineral óssea em UH	
	Controle	Tratamento
01	133,5	509,43
02	451,3	55,5
03	382,86	142
04	159,5	325,2
05	76,75	223,5
06	75	257,5
07	103,64	315,2
08	83	199,5
MÉDIA	183,19	253,47
DESVIO PADRÃO	148,41	136,23
MEDIANA	118,57	240,50
INTERVALO INTERQUARTIL	133,90	132,58

5. DISCUSSÃO

A avaliação da cicatrização óssea pelo uso da TC é uma medida não invasiva e dentre as avaliações de diagnóstico por imagem, apresenta-se como uma avaliação objetiva, e com alta qualidade de imagem. Sendo dessa forma uma alternativa importante para as avaliações estruturais ósseas (HENES et al., 2012), podendo ser método de avaliação experimental visando obter dados quantitativos para comparação entre grupos (AZEVEDO et al., 2014; BOER et al., 1998)

Mesmo não apresentando diferença estatística entre os grupos, o grupo QHG apresentou média de radiopacidade maior que o grupo C. A não diferença estatística pode ser explicada pelo número limitado de cobaias, mesmo evento ocorrido no estudo de Azevedo et al. (2014). Também outra variável que podemos explicar essa não diferença estatística foi o tempo experimental empregado de apenas trinta dias. Segundo KEALY e MCALLISTER (2005) e DENNY e BUTTERWORTH, o tempo de formação clínica do calo ósseo e mineralização total das lesões ósseas em pacientes adultos ocorre entre dois e doze meses. Nos primeiros trinta dias de cicatrização óssea a formação da matriz óssea é constituída por tecido ósseo não lamelar (primário), sendo constituído principalmente por colágeno tipo I pouco mineralizado (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Dessa forma, pode ser suposto que o tempo de avaliação do presente estudo e o número limitado de animais influenciou na não diferença estatística entre os grupos.

Mesmo assim, a média de radiopacidade do grupo QHG foi maior, sendo esse fato explicado pelas características dos materiais empregados no compósito. A quitosana e a gelatina são biopolímeros catiônicos que além de estimular a agregação celular em sua estrutura, também induz a liberação de fatores indutores para a diferenciação celular, aumentando a população de osteoblastos nas lesões ósseas acelerando a cicatrização. Outro fato importante é a atração de íons cálcio, que é aniônico, que esses biopolímeros atraem para a mineralização da matriz óssea (GORZELANNY et al., 2010; KIM et al., 2005). Os osteoblastos apresentam em sua estrutura celular vesículas ricas em cálcio, que atuam na mineralização da matriz óssea (JONHSON, 2000), sendo assim, a estimulação celular pelos biopolímeros, aumentando a população osteoblástica no local da lesão óssea acarreta em mineralização mais rápida da matriz óssea sintetizada.

Já a hidroxiapatita é um fosfato de cálcio osteocondutor, que atua servindo como substrato para matriz óssea e assim contribui para repor segmentos ósseos perdidos ou mesmo acelerar o processo de cicatrização óssea (AZEVEDO et al., 2012).

6. CONCLUSÃO

Pode ser concluído com o presente trabalho que o biocompósito utilizado no estudo aumentou o processo de cicatrização óssea mesmo não havendo diferença estatística.

A avaliação de TC é um método alternativo e pode ser bem empregado para avaliação da cicatrização óssea em processos lesivos.

7. REFERÊNCIAS

AZEVEDO, A. S.; SÁ, M. J. C.; FOOK, M. V. L.; NÓBREGA NETO, P. I.; SOUSA, O. B.; AZEVEDO, S. S.; TEIXEIRA, M. W.; COSTA, F. S.; ARAÚJO A. L. Use of chitosan and b-tricalcium phosphate, alone and in combination, for bone healing in rabbits. **J Mater Sci: Mater Med.** v. 25, p. 481–486, 2014.

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

AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; LIA FOOK, M. V.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.23, p.27-34, 2007.

BOER, F. C. D.; BRAMER, J. A. M.; PATKA, P.; BAKKER, F. C.; BARENTSEN, R. H.; FEILZER, A. J.; LANGE, E. S. M.; HAARMAN, H. J. T. M. **Arch Orthop Trauma Surg.** v. 117, p. 345-350, 1998.

BOHNER, M. Resorbable biomaterials as bone graft substitutes. **Materials today.** v. 13, p. 24-30, 2010.

DENNY, H. R.; BUTTERWORTH, S. J. **Cirurgia Ortopédica em Cães e Gatos.** 4ª ed. São Paulo-SP: ROCA, 2006. 496 p.

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

GE, Z.; BAGUENARD, S.; LIM, L. Y.; WEE, A.; KHOR, E. Hydroxyapatite-chitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. **Biomaterials.** v. 25, p. 1049-1058, 2004.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**. v. 33, p. 1352-1358, 2010.

HENES, F. O.; NUCHTERN, J. V.; GROTH, M.; HABERMANN, C. R.; REGIER, M.; RUEGER, J. M.; ADAM, G.; GROBTERLINDER, L. G. Comparison of diagnostic accuracy of Magnetic Resonance Imaging and Multidetector Computed Tomography in the detection of pelvic fractures. **European Journal of Radiology**. v, 81, p. 2337–2342, 2012.

HUANG, Y.; ONYERI, S.; SIEWE, M.; MOSHFEGHIAN, A.; MADIHALLY, S. V. In vitro characterization of chitosan–gelatin scaffolds for tissue engineering. **Biomaterials**. v. 26, p. 7616-7627, 2005.

JOHNSON, L. R. **Fundamentos de fisiologia médica**. 2ª Ed., Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 502-511, 2000.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10ª ed. Rio de Janeiro-RJ: GUANABARA KOOGAN, 2004. 488 p.

KAWAI, K.; SUZUKI, S.; TABATA, Y.; IKADA, Y.; NISHIMURA, Y. Accelerated tissue regeneration through incorporation of basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin microspheres into artificial dermis. **Biomaterials**. v. 21, p. 489-499, 2000.

KEALY, J. K.; MCALLISTER, H. **Radiologia e ultra-sonografia do cão e do gato**. 3ª ed. Barueri-SP: MANOLE, 2005. 436 p.

KIM, H.; KIM, H.; SALIH, V. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin–hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. **Biomaterials**. v. 26, p. 5221-5230, 2005.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. **Biomaterials**. v. 24, p. 2339-2349, 2003.

LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 395, p. 81-98, 2002.

LIU, Y.; LU, Y.; TIAN, X.; CUI, G.; ZHAO, Y.; YANG, Q.; YU, S.; XING, G.; ZHANG, B. Segmental bone regeneration using an rhBMP-2-loaded gelatin/nanohydroxyapatite/fibrin scaffold in a rabbit model. **Biomaterials**. v. 30, p. 6276-6285, 2009.

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

VITAL, C. C.; BORGES, A. P. B.; FONSECA, C. C.; TSIOMIS, A. C.; CARVALHO, T. B.; FONTES, E. B.; SENA, M. P.; FÓFANO, G. Biocompatibilidade e comportamento de compósitos de hidroxiapatita em falha óssea na ulna de coelhos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v.58, n.2, p.175-183, 2006.

WILLIAMS, D.F.; Definitions in biomaterials, Progress in Biomedical Engineering. **J. Periodontol.**, v.4, n.3, p.521-524, 1987.

YAO, C.; LIU, B; HSU, S.; CHEN, Y.; TSAI, C. Biocompatibility and biodegradation of a bone composite containing tricalcium phosphate and genipin crosslinked gelatin. **J Biomed Mater Res A**. v. 69, p. 709-717, 2004.

YOUNG, S.; WONG, M.; TABATA, Y.; MIKOS, A. G. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. **Journal of controlled release**. v. 109, p. 256-274, 2005.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 1999. 663 p.