

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de
Araçatuba

GABRIELLI LOPES BATTURI

**Efeitos do uso de uma membrana de Quitosana
enriquecida com chá verde (*Camellia sinensis*) como
terapia para osseointegração de implantes sem
estabilidade primária**

Araçatuba

2025



GABRIELLI LOPES BATTURI

**Efeitos do uso de uma membrana de Quitosana
enriquecida com chá verde (*Camellia sinensis*) como
terapia para osseointegração de implantes sem
estabilidade primária**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade
Estadual Paulista (UNESP),
Universidade Estadual Paulista “Júlio
de Mesquita Filho”, Araçatuba, para
obtenção do título de Bacharel em
Odontologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Juliano
Milanezi de Almeida
Co-orientador: Prof. Dr. Luiz
Guilherme Fiorin

Araçatuba

2025

*Dedico esse trabalho à minha mãe **Erika Cristiane Delalibera Lopes**, aos meus avós **Diógenes Lopes** e **Marlene Delalibera** e aos meus tios **Patricia Aparecida Lopes** e **Luciano Pinto de Godoy**, as pessoas que mais me apoiaram e estiveram do meu lado durante todo o período da minha vida e a quem devo minha eterna gratidão, essa conquista é tão de vocês quanto minha, amo vocês.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, cuja presença orientou e fortaleceu cada passo desta caminhada. Foram nos momentos de incerteza e cansaço que encontrei, em Sua graça, a serenidade e coragem para continuar. Reconheço que todas as conquistas aqui alcançadas são fruto de Sua misericórdia e propósito em minha vida.

À minha mãe, **Erika Cristiane Delalibera Lopes**, registro minha eterna gratidão. Sua força e coragem sempre foram meu maior exemplo. Ser mãe solo nunca a impediu de me oferecer amor, cuidado e educação, mesmo diante dos desafios que muitas vezes pareciam impossíveis. Obrigada por cada renúncia silenciosa, cada noite mal dormida e cada esforço feito para que eu tivesse oportunidades que você, muitas vezes, não teve. Você me ensinou, com sua garra e resiliência, que o amor verdadeiro se traduz em dedicação e luta. Este trabalho é também seu, fruto da sua perseverança, da sua fé e do seu amor inabalável. Sou quem sou porque tive você ao meu lado, você é a forma mais pura do amor.

Ao meu avô, **Diógenes Lopes**, que assumiu com amor um papel que não era seu por obrigação, mas por escolha do coração. Foi ele quem esteve ao meu lado enquanto eu aprendia a andar de bicicleta e quem também continuou ao meu lado enquanto eu aprendia a caminhar pela vida. Seu apoio constante e sua presença firme foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Este trabalho carrega também seu nome, porque cada conquista minha é, antes de tudo, reflexo do amor que o senhor me deu. Eu o amo com todo o meu coração e sou infinitamente grata por ter tido o privilégio de ser sua neta.

À minha avó, **Marlene Delalibera**, sua presença constante, seu carinho e seu apoio incondicional estiveram comigo em cada momento da minha vida. Obrigada por ser meu porto seguro nos momentos difíceis, por ser meu lugar de carinho e por compartilhar comigo tanto amor, cuidado e orações. Eu a amo para todo sempre.

Aos meus tios, **Patrícia Ap. Lopes Godoy** e **Luciano Pinto Godoy**, que nunca medirem esforços para me oferecer amor, cuidado e apoio. Vocês sempre fizeram além do necessário, com generosidade e coração aberto, tornando minha vida mais leve e cheia de afeto. Sou eternamente grata por terem me dado um irmão de vida, **Caio Lopes Godoy**, que é uma das alegrias da minha vida. Obrigada por tudo o que fizeram e continuam fazendo por mim, amo vocês além da vida.

Ao meu orientador, **Juliano Milanezi de Almeida**, por apostar em mim e por me proporcionar tantas oportunidades durante a minha formação acadêmica. Sua dedicação, ética e sabedoria orientam todos os passos do nosso grupo de pesquisa. Sou eternamente grata por tudo o que aprendi nos âmbitos científico, profissional e pessoal com o senhor— aprendizados que levarei sempre comigo ao longo da minha jornada.

Ao meu co-orientador, **Luiz Guilherme Fiorin**, por ter sido um professor e profissional admirável e por ser responsável pelo meu apreço pela periodontia. Obrigada por todos os ensinamentos e por sempre saber me auxiliar da maneira mais genuína possível. Este trabalho só foi possível porque você estava presente. Agradeço por tudo o que compartilhamos.

Aos pós-graduandos, **Gabriela Carrara Simionato**, **Ester Oliveira Santos**, **Ruan Henrique Barra** e todos do grupo de pesquisa, por todos os aprendizados e por toda a ajuda que compartilhamos. Obrigada pela convivência e pelas inúmeras risadas. Vocês foram essenciais para a execução deste trabalho.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, e do vice-diretor, Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa. Processo nº 2024/16037-5.

Ao **Prof. Dr. Franscisley Ávila Souza**, que fez parte da minha formação desde as aulas de Cirurgia. Sua postura sempre solícita, simpática e acolhedora tornou cada conversa um momento de aprendizado genuíno.

Agradeço às pessoas que a vida me presenteou durante todos esses anos, por cada risada, cada conversa e cada momento compartilhado que tornou essa caminhada mais leve e inesquecível. Em especial, à **Maria Eduarda Gongalves Asman** e **Laura Giovana Martins Pereira**, que estiveram comigo nos momentos mais difíceis dessa jornada, suportando cada surto, enxugando cada lágrima e segurando minha mão nos dias em que tudo parecia desmoronar. sou profundamente grata por ter compartilhado alguns capítulos desse livro com vocês.

Como diz Saint-Exupéry em *O Pequeno Príncipe*: “**O essencial é invisível aos olhos.**” Encerrar estes agradecimentos é reconhecer que, ao longo desta jornada, o que mais fez diferença não foram apenas os resultados ou conquistas visíveis, mas o amor, a força, o apoio e a fé que caminharam comigo.

“Algum dia você olhará para trás e entenderá que cada passo — até os que doeram — estavam te conduzindo exatamente para onde você precisava estar. E perceberá que nunca caminhou sozinha: havia propósito, havia força, havia vida te guiando. Crescer é confiar, mesmo quando não se enxerga o caminho.”

Elizabeth Gilbert — “Comer, Rezar, Amar”

BATTURI, G. L. **Efeitos do uso de uma membrana de quitosana enriquecida com chá verde (*Camellia sinensis*) como terapia para osseointegração de implantes sem estabilidade primária.** Trabalho de conclusão de curso – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araçatuba, 2025.

RESUMO

O propósito do presente estudo foi avaliar e comparar a eficácia da membrana de quitosana associada ou não ao chá verde (*Camellia Sinensis*) Na osseointegração peri-implantar em implantes instalados em tíbias de ratos sem estabilidade primária. Sessenta ratos machos (*Rattus norvegicus* albinos, Wistar), foram divididos em 3 grupos (n=20). No dia zero os animais receberam um implante (4 x 2 mm – SLA) na metáfise proximal de ambas as tíbias, onde um defeito (3mm) foi confeccionado para gerar instabilidade. Foi acrescentado ou não a membrana no defeito peri-implantar no momento da cirurgia. **Grupo CO:** Os animais pertencentes receberam os implantes em ambas as tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido somente com o próprio coágulo. **Grupo QT:** Os animais receberam os implantes em ambas as tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido com a membrana de quitosana. **Grupo QTCV:** Os animais receberam os implantes em ambas as tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido com a membrana de quitosana associados ao chá verde (*Camellia Sinensis*). Tais foram eutanasiados em períodos distintos, sendo esses, 7 e 30 dias respectivamente. As peças coletadas foram processadas sem desmineralização para análise em microtomografia computadorizada (Micro-CT) e em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), os dados foram submetidos ao teste ANOVA e pós teste de Tukey significância de 5% ($p \leq 0,05$). A análise por Micro-CT demonstrou que o grupo QT apresentou os melhores resultados de osseointegração em ambos os tempos, com uma maior proporção de *volume ósseo/volume total* em comparação aos demais grupos. O uso da membrana de quitosana isoladamente é eficaz para promover a osseointegração de implantes com instabilidade primária, porém, a associação do chá verde, não demonstrou ser superior à quitosana pura, indicando que a adição do extrato não potencializou o processo de reparo ósseo.

Palavras
Biomaterial.

chave:

Osseointegração.

Implantes dentários.

BATTURI, G.L. **Effects of using a chitosan membrane enriched with green tea (*Camellia sinensis*) as a therapy for osseointegration of implants without primary stability.** 2025. Final year Project. School of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2025.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate and compare the efficacy of chitosan membrane, with or without green tea (*Camellia Sinensis*), in peri-implant osseointegration in implants placed in the tibias of rats lacking primary stability. Sixty male rats (*Rattus norvegicus albinos*, Wistar) were divided into 3 groups (n=20). On day zero, the animals received an implant (4 x 2 mm – SLA) in the proximal metaphysis of both tibias, where a defect (3mm) was created to generate instability. The membrane was either added to or not in the peri-implant defect at the time of surgery. Group CO: The animals received implants in both tibias, and the peri-implant space was filled only with the animal's own clot. Group QT: The animals received implants in both tibias, and the peri-implant space was filled with the chitosan membrane. QTCV Group: The animals received implants in both tibias, and the peri-implant space was filled with a chitosan membrane associated with green tea (*Camellia Sinensis*). They were euthanized at different times, 7 and 30 days respectively. The collected specimens were processed without demineralization for analysis by micro-computed tomography (Micro-CT) and scanning electron microscopy (SEM). The data were subjected to a two-way ANOVA test and Tukey's post-hoc test with a significance level of 5% ($p \leq 0.05$). Micro-CT analysis demonstrated that the QT group showed the best osseointegration results at both time points, with a higher bone volume/total volume ratio compared to the other groups. The use of chitosan membrane alone is effective in promoting osseointegration of implants with primary instability; however, the addition of green tea did not prove to be superior to pure chitosan, indicating that the addition of the extract did not enhance the bone repair process.

Keywords: osseointegration. Dental Implants. Biomaterials

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Linha do tempo: períodos de eutanásia 19
- Figura 2** - Resultados da análise microtomográfica (micro-CT) dos parâmetros morfológicos ósseos nos diferentes grupos experimentais. Os valores estão expressos como média \pm desvio-padrão. As colunas representam as diferenças entre os grupos para o parâmetro avaliado, com indicação de significância estatística. 23
- Figura 3** - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a morfologia superficial do osso peri-implantar nos três grupos experimentais (CO, QT e QTCV) avaliados em dois períodos distintos (7 e 30 dias). 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporção de volume ósseo pelo volume total dos grupos aos 7 e 30 dias.

24

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OS - Osseointegração

ID – implante dentário

CT - Catequinas

QT – Quitosana

QTCV –Quitosana associada ao chá verde

CV – Chá verde

EP – Estabilidade primária

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

μ - Micrometros

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	17
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1. ANIMAIS.....	18
3.2. CÁLCULO AMOSTRAL.....	18
3.3. GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTO.....	18
3.4. PERÍODOS EXPERIMENTAIS.....	19
3.5. PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.....	19
3.6. PROCESSOS LABORATORIAIS.....	21
3.7. ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	21
4. RESULTADO.....	23
5. DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
ANEXO.....	36

1. INTRODUÇÃO

A osseointegração (OS), processo crucial para implantodontia, foi definida por P.-I. Branemark¹, como a existência da conexão funcional e estrutural entre o tecido ósseo e o implante dentário (ID) de titânio². Desde então, esta integração foi objeto de estudos de diversos trabalhos, pois é responsável por gerar um mecanismo de ancoragem entre tecido vivo e componentes não vitais que podem garantir longevidade aos ID, permitindo um suporte de carga e manutenção da saúde perimplantar³. Contudo, segundo Mavrogenis et al. (2009) a OS não é uma resposta biológica tecidual vantajosa, mas sim indica a ausência de uma resposta tecidual negativa⁴.

A cicatrização óssea ao redor dos implantes envolve uma cascata de eventos biológicos celulares e extracelulares, onde o objetivo final é a formação de uma superfície de osso recém-formado ao redor do ID⁵. Esta cascata inicia-se com a ativação de processos osteogênicos⁶ e é regulada por fatores de crescimento e pela diferenciação de células que estão em íntimo contato com o implante⁷. Em vista disso, a OS é o resultado de uma ação coordenada, na qual pode ser estudada para melhor didática em 4 fases: 1) hemostasia; 2) fase inflamatória; 3) fase proliferativa e 4) fase de remodelação⁸.

Imediatamente após a instalação do ID inicia a hemostasia. O rompimento de vasos sanguíneos lesionados estabelece as bases da polimerização do fibrinogênio para criar uma primeira matriz extracelular no defeito⁹. O que torna a carga padrão da superfície atraente para íons bivalentes, como o cálcio, que podem se ligar a moléculas com carga negativa¹⁰. O término da fase inflamatória é caracterizado pela redução de leucócitos polimorfonucleares e seus produtos e aumento na perfusão de fibronectina, que permitirá a adesão de fibroblastos⁸. A transição para a fase proliferativa é caracterizada pela formação de nova matriz extracelular e angiogênese¹¹. A fase de remodelação é mediada por osteoclastos. Sendo assim, a regulação entre reabsorção do tecido ósseo imaturo e deposição de tecido ósseo orientado pelas cargas oclusais desempenham papel importante para manutenção da densidade esquelética⁸.

A terapia moderna com ID, ao longo do tempo, tornou-se uma opção restauradora bem-sucedida para elementos dentários perdidos. Para garantir o êxito do ID é necessário garantir a estabilidade primária (EP), que é assegurada pela ancoragem estável do ID no tecido ósseo¹². Diante deste fenômeno complexo, qualquer condição ou substância que atue nessa cascata ordenada de eventos dependentes entre si, irá comprometer o desfecho do processo. Desse modo, o insucesso da técnica está diretamente relacionado a presença de *gap's* entre a superfície do ID e o tecido ósseo que influencia de maneira negativa no reparo tecidual¹³. Nesse sentido, técnicas estão sendo desenvolvidas e analisadas para reduzir os desafios no processo da EP dos ID, buscando melhor OS.

Tratamentos alternativos, como os fitoterápicos, estão cada vez mais se destacando na medicina. Os chás, têm mostrado eficiência no âmbito odontológico, principalmente, no tratamento de patologias bucais¹⁴. Entre os diversos tipos, o chá verde (*Camellia Sinensis*) (CV) foi o primeiro a ser descoberto e afirmado como o chá mais benéfico quimicamente para saúde humana¹⁵. Seus efeitos benéficos estão atribuídos aos seus compostos como polifenóis (composto bivalente)¹⁶ que englobam as catequinas (CT), ácido gálico, flavonóis, e os ácidos fenólicos. Diante disso, as CT, especialmente a epigalocatequina-3-galato (EGCG), são indicadas por contribuir com a saúde periodontal, devido ao seu potencial antibacteriano¹⁷ e anti-inflamatório¹⁸.

Essas propriedades estão diretamente associadas a capacidade natural do CV de tratar patologias periodontais, de modo a garantir a menor perda de suporte ósseo¹⁸. Em condições ideais, a atividade osteoclástica é regulada pelo equilíbrio do ativador de receptor do ligante do fator nuclear kappa-B (RANKL) e osteoprotegerina por osteoblastos¹⁹. As CT, provenientes do CV, estimulam a supressão da expressão de RANKL nos osteoblastos, levando à inibição de atividade osteoclástica e da reabsorção óssea²⁰.

Em pesquisas médicas recentes um biopolímero conhecido como quitosana (QT), extraído da quitina, vem ganhando destaque devido sua capacidade reparadora tecidual²¹. Os biopolímeros de quitina são abundantes no ambiente e podem ser encontrados facilmente em microrganismos marinhos (crustáceos,

molusco e algas)²² e em exoesqueletos de artrópodes, o que os torna de fácil acesso para sua utilização²³. Trata-se de um material biocompatível, atóxico e biodegradável, que possui a capacidade de estimular a neoformação óssea²⁴ e atuar como membrana antibacteriana²⁵.

Nesse sentido, a membrana de QT atrai atenção para sua utilização no meio odontológico, pois sua capacidade reparadora pode gerar importante estímulo nos tecidos periodontais. No estudo de GE et al. (2004), evidenciou que a QT acelera e maximiza o reparo ósseo, apresentando potencial osteogênico e atuando como biomaterial osteoindutor²⁶, de modo que atrai íons cálcio e favorece a cicatrização²⁷. A QT não é interessante apenas por ser uma fonte abundante e renovável da natureza, mas também por serem compatível e um efetivo biomaterial que pode ser usado como medicamento na mucosa oral²⁸.

Assim, visando superar as limitações encontradas no processo de OS peri-implantar da EP dos ID, o presente projeto de pesquisa tem como objetivo geral desenvolver um filme de QT enriquecida em CV (*Camellia Sinensis*), e analisar a otimização da OS em implantes.

2. OBJETIVOS

O presente estudo possui o objetivo de analisar a eficácia da membrana de quitosana, associada ou não ao chá verde (*Camellia Sinensis*), no reparo peri-implantar de implantes instalados sem estabilidade primária em tíbias de ratos modificados pela criação de defeitos ósseos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi enviado para avaliação e homologação pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA # 280-2024) da Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP – Campus de Araçatuba, dentro das normas vigentes adotadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Todos procedimentos foram realizados de acordo com os guias ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments)²⁹.

3.1. Animais

Foram utilizados 60 animais (*Rattus norvegicus albinos*, Wistar), machos, de aproximadamente 250 a 350g, provenientes do biotério central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, mantidos em ambiente com temperatura estável ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), com água e ração a libitum, alojados em gaiolas plásticas, em ciclos de 12 horas claro-escuro. Os animais foram divididos em três grandes grupos experimentais (n=20) submetidos à confecção dos defeitos ósseo, instalação dos implantes e inserção dos biomateriais propostos em cada grupo.

3.2. Cálculo Amostral

Para determinação do tamanho amostral foram considerados artigos publicados anteriormente^{30,31}. Para um poder de estudo de 0,8 e erro padrão $\alpha=0,05$ com base em um desvio padrão com o potencial de 12%, e na suposição de que uma diferença de 10% entre grupos/períodos seria relevante.

3.3. Grupos Experimentais e Tratamentos

O experimento utilizou 60 animais que foram separados em três grupos CO, QT e QTCV, cada um composto por 20 animais, que receberam os seguintes tratamentos:

Grupo CO (n=20): Chamado de grupo controle. Os animais pertencentes a este grupo receberam os implantes em ambas tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido somente com o próprio coágulo sanguíneo.

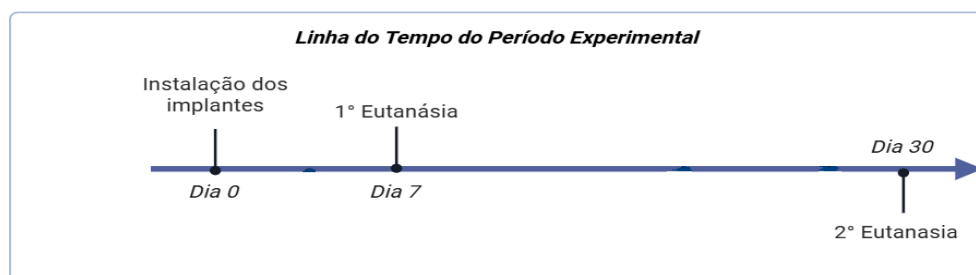
Grupo QT (n=20): Os animais pertencentes a este grupo receberam os implantes em ambas tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido com a membrana de QT.

Grupo QTCV (n=20): Os animais pertencentes a este grupo receberam os implantes em ambas tíbias e o espaço peri-implantar foi preenchido com a membrana de QT associados ao CV.

3.4. Períodos experimentais

Todos os 60 animais passaram pela cirurgia de instalação dos implantes no dia “0”. A eutanásia foi realizada por meio de superdosagem anestésica (150mg/kg de thiopental-Cristália, Itapira, São Paulo, Brasil) em 2 períodos ao 7º dia e ao 30º dia após a instalação dos implantes, sendo que foram eutanasiados 10 animais por grupo em cada período.

Figura 1. Linha do tempo: Períodos de eutanásia



Fonte: Elaborada pelo autor (2025)

3.5. Protocolos Experimentais

3.5.1 Sedação e Anestesia

Os animais receberam anestesia geral, obtida pela associação de 70mg/kg de Cloridrato de quetamina (Vetaset – ZoetisFlorham Park, NJ – USA) e 6mg/kg Cloridrato de xilazina (Coopazine– Coopers São Paulo– Brasil.), aplicados intramuscular no bíceps femoris no membro inferior caudal direito. Nos casos em que não se obteve o efeito adequado do anestésico, a anestesia foi suplementada com a metade da dose inicial aplicada.

3.5.2 Protocolo da Cirurgia da Instalação dos Implantes e Defeito Ósseo Peri-implantar

Após anestesia geral, a porção medial dos membros inferiores caudais direito e esquerdo de cada animal foi tricotomizadas e realizada a antisepsia com solução tópica de iodopovidona a 10%. Os animais foram posicionados em mesa operatória apropriada, a qual permitiu a manutenção do animal em posição adequada para acesso às tíbias. A seguir, uma incisão de aproximadamente 30 mm foi realizada com lâmina de bisturi 15C pelo lado medial nas tíbias. Após a dissecação, com auxílio de um descolador de periósteo, o tecido ósseo foi exposto. A fresagem foi realizada com broca helicoidal de 1,6 mm de diâmetro nas duas corticais, e uma fresa de 2 mm, piloto (2/3) e 3,0 mm nas corticais superior e medular das tíbias, acompanhado por irrigação constante com solução salina fisiológica e aspiração com sugador de alta potência. Nos leitões preparados foram instalados um implante com dimensões de 4,0 mm de comprimento e 2,0 mm de diâmetro, que foi montado com motor elétrico (BLM 600®)³². A instalação foi realizada com auxílio de uma chave digital (1,0 mm) acoplada ao hexágono do implante até que o mesmo atingisse o nível ósseo, totalizando 120 implantes. Em seguida, o tecido muscular foi suturado internamente com fio 4.0 de poliglactina 910 (Vicryl- Johnson & Johnson do Brasil Ind. Com. Prod. para Saúde Ltda, São Bernardo do Campo, Brasil), e externamente com fio de seda 4.0 (Ethicon - Johnson & Johnson do Brasil Ind. Com. Prod. para Saúde Ltda, São Bernardo do Campo, Brasil) e os biomateriais, de acordo com cada grupo experimental, preencheram os gaps's³⁴.

3.5.3 Protocolo do Preparo da Membrana de Quitosana

Para o preparo das membranas foi utilizada QT em pó de médio peso molecular (Sigma-Aldrich, EUA) com grau de desacetilação entre 75% e 85%. O método de evaporação do solvente (casting) descrito por CAMPOS (2007) foi empregado para a elaboração dos filmes. Foram preparadas membranas de quitosana (**MQT**) e com a combinação de QT e CV (**MQTCV**). As formulações estão descritas a seguir.

MQT: Foram utilizados 0,2 g de QS, 10 mL de solução de ácido acético 0,1% (v/v), adicionando-se sob agitação, 0,5 mL de álcool 70%, até completa solubilização da QS e gelatinização da solução.

MQTCV: para melhor solubilização, 0,05 g do extrato de CV foram adicionados 0,5 mL de álcool 70%. Essa mistura foi centrifugada, onde se retirou o líquido sobrenadante, e incorporada à mistura de 0,2 g de QT e 10 mL de solução de ácido acético 0,1% (v/v) já mantida sob agitação.

Todas as membranas foram preparadas pelo método casting, vertendo-se cerca de 10 mL da solução gelatinizada em placas de Petri de polipropileno de 14 cm de diâmetro para posterior. As formas permaneceram à temperatura ambiente para secagem até que se desprendessem dos moldes^{35, 36}.

3.5.4 Protocolo de preenchimento do Defeito ósseo peri-implantar

Após a instalação do implante no grupo CO, o coágulo simplesmente foi mantido por meio de acomodação e sutura dos tecidos moles. Nos grupos QT e QTCV a membrana foi inserida nos GAP's com auxílio de um instrumental de ponta romba e foi mantida por meio de acomodação dos tecidos moles e sutura³⁴.

3.5.5 Protocolo de Eutanásia

Os animais foram eutanasiados em 2 períodos, no dia 7 e no dia 30 após a cirurgia, por meio de superdosagem anestésica obtida pela associação de Cloridrato de quetamina (Vetaset – ZoetisFlorham Park, NJ – USA) e Cloridrato de xilazina (Coopazine– Coopers São Paulo– Brasil.), aplicados intramuscular no bíceps femoris das patas.

3.6 Processamentos Laboratoriais

Para a análise, após fixação por 48 horas em solução de paraformaldeído tamponado 4%, as tíbias selecionadas foram submetidas à lavagem em água corrente por 12 horas e à desidratação em soluções de concentração etanol 70%.

3.7 Análise dos resultados

3.7.6 Análise Micro-CT

Após fixação, as tíbias foram selecionadas de forma selecionado, onde foi padronizado a tíbia direita para análise, lavadas em água corrente e acondicionadas em álcool a 70%. As amostras destinadas ao Micro-CT foram escaneadas por

varredura de feixe de raio-x em um sistema de radiografia tridimensional utilizando a microtomografia digital computadorizada. As peças foram escaneadas pelo microtomógrafo SkyScan*** com cortes de 18 μ m (50Kv e 500 μ)^{40,41}.

3.7.2 Análise da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As tíbias esquerdas foram cortadas longitudinalmente no centro do implante, polidas com papel abrasivo fino e tratadas com ácido fosfórico a 37%, hipoclorito de sódio a 5%, e por último passará por secagem ao ar durante um dia. As amostras foram analisadas por MEV para análise morfológica da interface osso/implante;³¹.

3.7.3 Análise estatística dos dados obtidos

Os dados obtidos foram coletados com o auxílio do programa BioEstat 5.0.). Os dados paramétricos, foram submetidos ao teste Análise de Variância (ANOVA) a um critério ($p \leq 0,05$) seguido do pós teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Microtomografia computadorizada

A análise por microtomografia computadorizada (microCT) permitiu a caracterização quantitativa da deposição mineral no local do defeito ósseo confeccionado ao redor dos implantes com os diferentes biomateriais, nos períodos de 7 e 30 dias (Figura 2).

Em relação a proporção volume ósseo/volume total (BV/TV), foi possível observar que tanto aos 7 quanto aos 30 dias, o grupo QT diferiu significativamente dos grupos CO e QTCV ($p < 0,05$). Em ambos os períodos, CO e QTCV não apresentaram diferença entre si, demonstrando comportamento semelhante (tabela 1).

Na comparação entre tempos, o grupo CO e o grupo QTCV não apresentaram diferenças significativas entre 7 e 30 dias, indicando estabilidade ao longo do período analisado. Por outro lado, o grupo QT apresentou diferença significativa entre os tempos ($p < 0,05$), sugerindo uma mudança temporal importante.

Figura 2. Resultados da análise microtomográfica (micro-CT) dos parâmetros morfológicos ósseos nos diferentes grupos experimentais. Os valores estão expressos como média \pm desvio-padrão. As colunas representam as diferenças entre os grupos para o parâmetro avaliado, com indicação de significância estatística.

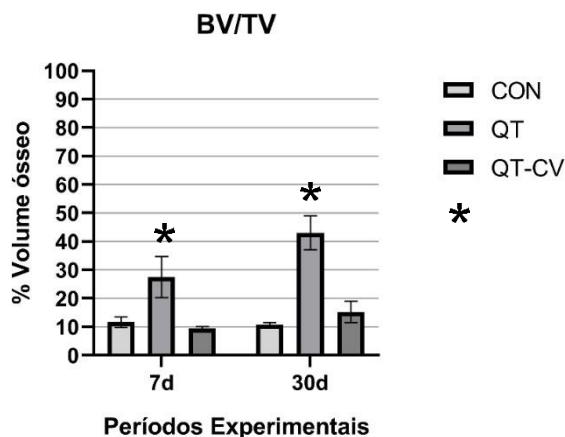


Gráfico de barras representativo do volume ósseo. “*”: indicam diferenças estatisticamente significante entre grupos no mesmo período (Anova 1 critério/ Teste de Tukey.; $p < 0,05$). Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

Tabela 1. Proporção de volume ósseo pelo volume total dos grupos aos 7 e 30 dias.

BV / TV			
%	CO	QT	QTCV
7 dias	11,62 ± 1,63	27,4 ± 6,46	9,3 ± 0,64
28 dias	0,63 ± 10,7	43,3 ± 5,33	15,23 ± 3,4
<i>p</i>	<0,05	<0,05	<0,05

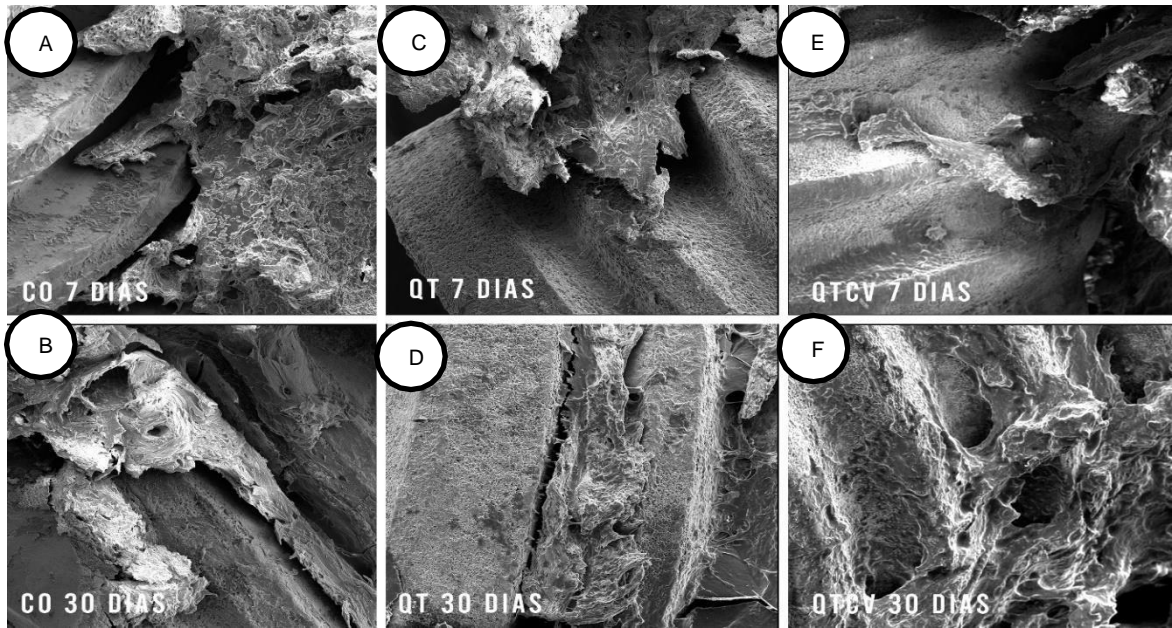
Tabela com as médias e desvio padrão (Anova 1 critério/ Teste de Tukey. N=6; p<0,05). Fonte: elaborado pelo autor, 2025.

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Aos 7 dias, a interface do Grupo Controle (CO) é caracterizada pela ausência notável de osso mineralizado. O Grupo QTCV apresenta achados morfológicos muito próximos ao Controle, não demonstrando um início de reparo significativamente superior, além de ainda estar presente a MQTCV. Em contraste, o Grupo QT não apresenta a membrana e exibe um reparo significativamente mais avançado, onde se visualiza a deposição de matriz osteóide e as primeiras estruturas lamelares organizadas.

Aos 30 dias, o contraste permanece evidente: o Grupo Controle apresenta aspecto poroso e trabecular, porém existe a formação de canais de Havers. O Grupo QTCV exibe estrutura porosa e trabecular e o contato direto osso-implante não se mostra bem definido. Em contraste, o Grupo QT revela uma quantidade e qualidade de tecido mineralizado muito superior, evidenciando a presença de canais de Havers mais estruturados, além de demonstrar contato íntimo e direto com a superfície do implante.

Figura 3. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrando a morfologia superficial do osso peri-implantar nos três grupos experimentais (**CO, QT e QTCV**) avaliados em dois períodos distintos (**7 e 30 dias**).



Fotomicrografias mostrando superfície do osso peri-implantar nos grupos CO7dias(A), CO30dias (B), QT7dias (C), QT30dias (D), QTCV7dias (E) e QTCV30dias (F). Ampliação original: 200x. Barras de escala: 500 μ m. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5. DISCUSSÃO

A pesquisa avaliou a MQT isolada e combinada com CV na OS de implantes sem EP em ratos. O grupo QT demonstrou um significativo efeito na regeneração óssea, resultando no maior volume ósseo (BV/TV) aos 30 dias, e até mesmo em 7 dias. Sugerindo seu potencial benéfico na instabilidade primária. No entanto, a combinação com o CV (QTCV) inibiu esse efeito, apresentando resultados próximos ao grupo controle. Em resumo, a QT é promissora para otimizar a osseointegração, mas a adição do chá verde anula seu benefício na formação óssea.

O modelo experimental de implantes instalados na metáfise proximal da tíbia de ratos, com a criação de um defeito para gerar instabilidade primária, é um protocolo amplamente validado na literatura científica para o estudo da osseointegração em condições desafiadoras^{43,44}. A tíbia de ratos é um sítio esquelético frequentemente escolhido devido à sua acessibilidade cirúrgica, à similaridade do seu processo de reparo ósseo com o de outras regiões esqueléticas e à possibilidade de avaliação por métodos como o Micro-CT⁴⁵. A indução de instabilidade primária, simulando uma condição clínica de risco, é crucial para avaliar a capacidade de um biomaterial em promover a formação óssea em um ambiente desfavorável, onde o coágulo sanguíneo é insuficiente para garantir uma osseointegração ideal⁴⁶.

A análise morfométrica por Micro-CT, que quantifica o BV/TV, revelou que o grupo QT obteve um BV/TV significativamente superior aos demais grupos, especialmente no período de 30 dias. Este resultado corrobora a vasta literatura que suporta o uso da QT como um biomaterial promissor para a regeneração óssea⁴⁷. A QT, um polissacarídeo natural derivado da quitina, é biocompatível, biodegradável e possui propriedades osteocondutoras, servindo como uma matriz para a migração, adesão e proliferação celular, além de ter potencial para modular a resposta inflamatória inicial⁴⁸. Em comparação com outros biomateriais em gel ou membranas utilizados para preenchimento de defeitos ósseos, como hidrogéis de quitosana/gelatina ou quitosana/hidroxiapatita, o desempenho da membrana de QT isolada no presente estudo é comparável em termos de estímulo à formação óssea⁴⁹. No entanto, o grupo QTCV apresentou um desempenho inferior, sugerindo que a

adição do CV neutralizou o efeito positivo da QT, indicando uma complexa interação entre os componentes.

A avaliação morfológica por MEV reforça os achados quantitativos do Micro-CT. Aos 30 dias, o grupo QT exibiu uma superfície peri-implantar com uma matriz óssea densa e bem estruturada, indicando um processo de osseointegração avançado e maturação óssea. Em contraste, o grupo QTCV demonstrou uma estrutura óssea mais porosa e menos organizada, com áreas que sugerem uma inibição da maturação óssea. Este padrão morfológico no grupo QTCV é particularmente relevante quando comparado a estudos que investigam o efeito do CV e suas CT, como a EGCG, na saúde óssea⁵⁰. Embora as CT sejam conhecidas por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, que teoricamente poderiam beneficiar a fase inicial da osseointegração, a análise morfológica sugere um efeito adverso ou uma concentração inadequada que comprometeu a formação de osso maduro.

As CT, especialmente a EGCG, podem, em doses específicas, promover a diferenciação de osteoblastos e inibir a atividade osteoclástica, favorecendo o balanço ósseo⁹. Contudo, estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que concentrações elevadas de EGCG podem exercer um efeito citotóxico ou inibitório sobre a proliferação e mineralização de osteoblastos⁵¹. É possível que a concentração de CT liberadas pela MQTCV no microambiente peri-implantar tenha ultrapassado o limiar terapêutico, atuando como um agente anti-proliferativo ou interferindo diretamente na sinalização celular necessária para a deposição de matriz óssea. Além disso, a interação química entre as CT e a matriz de QT pode ter alterado a taxa de degradação do polímero ou a cinética de liberação das CT, resultando em um efeito local não desejado.

As limitações deste trabalho incluem a ausência de uma análise histomorfométrica detalhada, que poderia quantificar o contato osso-implante (BIC) e a área de osso novo de forma mais precisa, e a falta de uma análise bioquímica para medir a concentração local de CT e marcadores de remodelação óssea. A MQT demonstrou ser um biomaterial promissor para a otimização da osseointegração em condições de instabilidade primária. No entanto, a associação com o CV, na

formulação e concentração utilizadas, revelou-se contraproducente, indicando a necessidade de estudos futuros para otimizar a dosagem e o sistema de liberação das CT, a fim de aproveitar seu potencial terapêutico sem comprometer a osteogênese.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que a membrana de Quitosana é eficaz na otimização da osseointegração em implantes sem estabilidade primária. No entanto, a associação com o Chá Verde (QTCV) não demonstrou benefício adicional, apresentando resultados similares ao grupo CO, o que sugere a necessidade de otimização da formulação para explorar o potencial do extrato natural.

REFERÊNCIAS

- 1 Branemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J, Ohlsson A. Ancoragem intraóssea de próteses dentárias. I. Estudos experimentais. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 1969; 3 :81–100. doi: 10.3109/02844316909036699.
- 2 Rigo ECS, Boschi AO, Yoshimoto M, Allegrini S Jr, Konig B Jr, Carbonari MJ. Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. *Mater Sci Eng C* 2004;24:647-51.
- 3 Mavrogenis AF, Dimitriou R, Parvizi J, Babis GC. Biology of implant osseointegration. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2009;9(2):61-71.
- 4 Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Borsari V, Giardino R, Nicolini A, Carpi A. Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomed Pharmacother* 2004;58:487-93.
- 5 Rigo ECS, Boschi AO, Yoshimoto M, Allegrini S Jr, Konig B Jr, Carbonari MJ. Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. *Mater Sci Eng C* 2004;24:647-51.
- 6 Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 1998;11:391-401.
- 7 Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Osseointegration--communication of cells. *Clin Oral Implants Res.* 2012;23(10):1127-1135.
- 8 Bosshardt, D.D., Salvi, G.E., Huynh-Ba, G., Ivanovski, S., Donos, N. & Lang, N.P. (2011) The role of bone debris in early healing adjacent to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in man. *Clinical Oral Implants Research* 22: 357–364.
- 9 Lansdown AB, Sampson B, Rowe A. Experimental observations in the rat on the influence of cadmium on skin wound repair. *Int J Exp Pathol.* 2001 Feb;82(1):35-41.
- 10 Corselli M, Chen CW, Crisan M, Lazzari L, Peault B. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(6):1104-1109.
- 11 Lioubavina-Hack N, Lang NP, Karring T. Significance of primary stability for osseointegration of dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(3):244-

250. doi:10.1111/j.1600-0501.2005.01201.
- 12 Botticelli D., Berglundh T., Buser D., & Lindhe J. (2003) "The jumping distance revisited: an experimental study in the dog, "Clinical Oral Implants Research, vol. 14, no. 1, pp. 35–42.
- 13 Bin H, Huangqin C, Longquan S. The ethanol extract of *Osmanthus fragrans* attenuates *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-stimulated inflammatory effect through the nuclear factor erythroid 2-related factor-mediated antioxidant signalling pathway. Arch Oral Biol. 2015 Jul;60(7):1030-8.
- 14 Zhao T, Li C, Wang S, Song X. Green Tea (*Camellia sinensis*): A Review of Its Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology. *Molecules*. 2022;27(12):3909. Published 2022 Jun 18. doi:10.3390/molecules27123909.
- 15 Nishiumi S, Bessyo H, Kubo M, Aoki Y, Tanaka A, Yoshida K, Ashida H. Green and black tea suppress hyperglycemia and insulin resistance by retaining the expression of glucose transporter 4 in muscle of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. J Agric Food Chem. 2010 Dec 22;58(24):12916-23.
- 16 Yun, J. H., Pang, E. K., Kim, C. S., Yoo, Y. J., Cho, K. S., Chai, J. K., et al. (2004). Inhibitory effects of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate on the ex-pression of matrix metalloproteinase-9 and on the formation of osteoclasts. Journal of Periodontal Research, 39(5), 300–307.
- 17 de Almeida JM, Marques BM, Novaes VCN, de Oliveira FLP, Matheus HR, Fiorin LG, Ervolino E. Influence of adjuvant therapy with green tea extract in the treatment of experimental periodontitis. Arch Oral Biol. 2019 Jun;102:65-73. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.03.028. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30974379.
- 18 Pereira, I. A., & Pereira, R. M. R. (2004). Osteoporosis and focal erosive bone lesions in rheumatoid arthritis: pathogeny and treatment. Revista Brasileira de Reumatologia, 44, 347-354.
- 19 Fournier-Larente J, Morin MP, Grenier D. Green tea catechins potentiate the effect of antibiotics and modulate adherence and gene expression in *Porphyromonas gingivalis*. Arch Oral Biol. 2016 May;65:35-43. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.01.014. Epub 2016 Jan 27. PMID: 26849416.

- 20 KHAN, T.A.; PEH, K.K. A preliminary investigation of chitosan film as dressing for punch biopsy wounds in rats. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, v.6, p.20-26, 2003.
- 21 Pellis A., Guebitz GM, Nyanhongo GS Quitosana: fontes, técnicas de processamento e modificação. *Géis*. 2022; 8 :393. doi: 10.3390/gels8070393.
- 22 Ueno H, Nakamura F, Murakami M, Okumura M, Kadosawa T, Fujinag T. Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblasts and the growth factors production by macrophages. *Biomaterials*. 2001;22(15):2125-2130. doi:10.1016/s0142-9612(00)00401-4.
- 23 Azevedo, A. S. D., Sá, M. J. C. D., Fook, M. V. L., Nóbrega Neto, P. I. D., Sousa, O. B. D., & Azevedo, S. S. D. (2013). Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e morfométrico. *Ciência Rural*, 43, 1265-1270.
- 24 Lamei E, Hasanzadeh M. Fabrication of chitosan nanofibrous scaffolds based on tannic acid and metal-organic frameworks for hemostatic wound dressing applications. *Int J Biol Macromol*. 2022 May 31;208:409-420. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.03.117. Epub 2022 Mar 24. PMID: 35339500.
- 25 GE, Z. et al. Hydroxyapatitechitin materials as potential tissue engineered bone substitutes. *Biomaterials*, v.25, p.1049-1058, 2004. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br.ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3>>. Acesso em: 12 jul. 2011. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00612-4.
- 26 KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v.24, p.2339-2349, 2003. Disponível em: <<http://link.periodicos.capes.gov.br.ez15.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl3?urlver=Z39.88-2004>>. Acesso em: 14 ago. 2011. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00026-7.
- 27 Shukla SK, Mishra AK, Arotiba OA, Mamba BB. Chitosan-based nanomaterials: a state-of-the-art review. *Int J Biol Macromol*. 2013 Aug;59:46-58. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.043. Epub 2013 Apr 19. PMID: 23608103.
- 28 Kilkeny C, Browne W, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG; NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. Animal research: reporting in vivo experiments: the

- ARRIVE guidelines. Br J Pharmacol. 2010 Aug;160(7):1577-9. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.00872.x. PMID: 20649561; PMCID: PMC2936830.
- 29 Gomes-Ferreira PHS.; Lisboa-Filho PN.; da Silva AC.; Bim-júnior O.; Batista FRS.; Ervolino-Silva AC.; Garcia-Junior IR.; Okamoto R. Sonochemical time standardization for bioactive materials used inperiimplantar defects filling. Ultrasonics Sonochemistry Volume 56, September 2019, Pages 437-446.
- 30 Fiorin LG; Matheus H R; Ervolino E; Canciani E; Pellegrini G; Dellavia C; Maiorana C; de Almeida JM. (2022) Tamoxifen improves homeostasis in the peri-implant bone remodeling of osseointegrated titanium implants. Journal of Periodontal Research Impact factor:4.419.
- 31 Matheus HR, Ervolino E, Gusman DJR, Forin LG, Piovezan BR, de Almeida JM. The influence of antineoplastic agents on the peri-implant bone around osseointegrated titanium implants: an in vivo histomorphometric and immunohistochemical study. Clin Oral Investig. 2022 Mar;26(3):2681-2692. doi: 10.1007/s00784-021-04239-2. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34686918.
- 32 PARK, J. B. The use of simvastatin in bone regeneration. Med Oral Patol Oral Cir Bucal, v.14, p.485-8, 2009.
- 33 Gomes-Ferreira PHS.; Lisboa-Filho PN.; da Silva AC.; Bim-júnior O.; Batista FRS.; Ervolino-Silva AC.; Garcia-Junior IR.; Okamoto R. Sonochemical time standardization for bioactive materials used inperiimplantar defects filling. Ultrasonics Sonochemistry Volume 56, September 2019, Pages 437-446.
- 34 CAMPOS, M. G. N. Desenvolvimento e caracterização de membranas de quitosana para recobrimento de feridas e liberação controlada de fármacos. 2007. 130f. Tese (Doutorado em Engenharia Química)- Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas, SP, 2007.
- 35 ALMEIDA, Leiliane Aparecida de. Membrana de quitosana incorporada com extrato de uva Jacquez para tratamento de feridas cutâneas. 2017. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2017.

- 36 Costa, G. M., Araujo, S. L., Xavier Júnior, F. A. F., Morais, G. B. de, Silveira, J. A. de M., Viana, D. de A., & Evangelista, J. S. A. M. (2019). Picrosirius red e tricrômico de masson como ferramentas para detecção de fibras colágenas em pele de cães com dermatopatologias endócrinas. *Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science*, 20(1), 1–10. Recuperado de <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/55398>.
- 37 Gomes-Ferreira PHS, Micheletti C, Frigério PB, de Souza Batista FR, Monteiro NG, Bim-Júnior O, Lisboa-Filho PN, Grandfield K, Okamoto R. PTH 1-34-functionalized bioactive glass improves peri-implant bone repair in orchietomized rats: Microscale and ultrastructural evaluation. *Biomater Adv*. 2022 Mar;134:112688. doi: 10.1016/j.msec.2022.112688.
- 38 Johansson C, Albrektsson T. Integration of screw implants in the rabbit: a 1-year follow-up of removal torque of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1987 Spring;2(2):69-75. PMID: 3481352.
- 39 Gurr, Angela, et al. "Grande Volume Micro-CT digitalização do complexo dentoalveolar como uma ferramenta para avaliar a saúde dental em uma amostra arqueológica em comparação com os métodos tradicionais." *medRxiv* (2022): 2022-06.
- 40 Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using microcomputed tomography. *J Bone Miner Res*. 2010 Jul;25(7):1468-86. doi: 10.1002/jbmr.141. PMID: 20533309.
- 41 DIAS, B. G. et al. Comparação de diferentes metodologias para análise histométrica de implantes: estudo em ratos. *Revista Odontológica da UNESP*, v. 52, n. 4, p. 241-247, 2023.
- 42 ALFAIATE, D. et al. Surgical Bone Implantation Technique for Rat Tibia Models: Diabetes. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, v. 209, e66591, 2024.

- 43 JAHN, R. S. et al. Formação óssea e contato osso-implante após irradiação: estudo em tibia de ratos. *Revista Odontológica da UNESP*, v. 43, n. 4, p. 235-240, 2014.
- 44 REIS, M. A. et al. Osseointegração de implantes de titânio instalados sem estabilidade primária em ratos diabéticos: influência da associação adesivo fibrínico/ácido tranexâmico. *Revista Odontológica da UNESP*, v. 52, n. 4, p. 248-254, 2023.
- 45 ROSENDO, R. A. et al. Estruturas de quitosana utilizadas para regeneração óssea in vivo: uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, e8549109012, 2020.
- 46 MOREIRA, C. D. F. Hidrogéis injetáveis a base de quitosana/gelatina/nanopartículas de vidro bioativo com potencial para regeneração óssea: estudo in vitro e in vivo. 2018. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018.
- 47 COSTA NETO, O. C. Efeito da quitosana de alto e baixo peso molecular no reparo de defeitos ósseos em calota craniana de ratos. 2023. Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.
- 48 SANCHEZ, P. K. V. Efeito do extrato de chá verde (GTE) rico em catequinas no metabolismo ósseo de ratas ovariectomizadas com indução experimental de doença periodontal. 2019. Tese (Doutorado em Odontologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.
- 49 LIMA, G. V. Obtenção de quitosana a partir de cascas de camarão e sua aplicação na clarificação de infusão de chá verde. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2011.
- 50 RABELO, R. L. Citotoxicidade e efeito indutor de mineralização de flavonoides sobre células osteoblásticas. 2021. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2021.

ANEXO - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Desenvolvimento, caracterização e avaliação in vivo de um filme de quitosana-tamoxifeno sobre a superfície do titânio: avaliação do potencial de osseointegração sob a influência da deficiência de estrogênio."**, Processo FOA nº 280-2024, sob responsabilidade de Juliano Milanezi de Almeida apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 22 de Maio de 2024.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 01 de Julho de 2026.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Agosto de 2026.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Development, characterization and in vivo evaluation of a chitosan-tamoxifen film on the titanium surface: evaluation of the osseointegration potential under the influence of estrogen depletion."**, Protocol FOA nº 280-2024, under the supervision of Juliano Milanezi de Almeida presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 22, 2024.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: July 01, 2026.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: August 01, 2026.



Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator