

Maria Eduarda Asman Gonçalves

**Capacidade osteocondutora de cerâmica bifásica em
defeitos críticos em calvária de ratos**

Araçatuba - SP

2025

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Maria Eduarda Asman Gonçalves

**Capacidade osteocondutora de cerâmica bifásica em
defeitos críticos em calvária de ratos**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho – UNESP”, como parte dos requisitos para a graduação no curso de Odontologia.

Orientadora: Prof^a. Assoc. Dr^a. Daniela Ponzoni

Araçatuba - SP

2025

“A pesquisa em saúde não é apenas descobrir respostas, mas formular melhores perguntas.”

– Adaptado de Sackett, D. L. et al. (1996). Evidence-Based Medicine: How to Practice and Teach EBM.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por me guiar em todos os momentos e me dar força quando eu mais precisei. Por me mostrar que até nas incertezas há propósito e por estar presente em cada passo dessa caminhada.

À **minha família**, meu alicerce e maior exemplo de amor. Agradeço pelo apoio incondicional, pela paciência nos dias difíceis e por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidava. Tudo o que conquistei até aqui é reflexo da fé, do apoio e da confiança de vocês em mim.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Daniela Ponzoni**, por toda a atenção, paciência e incentivo ao longo desta trajetória. Sou profundamente grata pela oportunidade, pela confiança depositada em mim e pela maneira sempre disponível com que me acolheu em cada dúvida, conversa e orientação. Agradeço por compartilhar seus conhecimentos com tanto cuidado, por acompanhar de perto meu desenvolvimento e por ter sido uma guia essencial para o crescimento deste trabalho e para minha formação acadêmica. Em muitos sentidos, a senhora se tornou uma referência para mim que levarei para a vida, e admiro profundamente a profissional que representa.

Ao Me. **Marcos Eduardo Gomes Alves**, por compartilhar seu conhecimento e pelo apoio consistente em todas as etapas deste trabalho. Sua orientação, das análises à escrita acadêmica, foi essencial para a minha formação. Levo para a vida tudo o que aprendi ao seu lado: a confiança no processo, a disciplina, a persistência e a busca por clareza científica. Admiro muito o profissional que você representa, com o coração de clínico e a mente de pesquisador, e sou sinceramente grata por ter tido a chance de aprender com alguém que fez tanta diferença no meu caminho.

Agradeço à Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP), na pessoa do Diretor, Prof. Dr. **Alberto Carlos Botazzo Delbem**, e do Vice-Diretor, Prof. Dr. **Luciano Tavares Ângelo Cintra**, pelo compromisso com a excelência no ensino, pela infraestrutura oferecida e pelo constante apoio à formação acadêmica.

À **Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação** da Universidade Estadual Paulista (UNESP), pela concessão da bolsa de Iniciação Científica (PIBIC). Processo: 2024/14571.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica. Processo nº 2025/05819-5.

Ao **Prof. Douglas Roberto Monteiro**, por ser um exemplo extraordinário de profissionalismo e humanidade em clínica. A forma como conduz cada atendimento, sempre com ética, sensibilidade e calma, além do cuidado genuíno com os pacientes e com os alunos, confirma o quanto o senhor é um professor especial e admirável. É um privilégio aprender com alguém tão exemplar.

Ao **Prof. Francisley Ávila Souza**, cuja competência e serenidade sempre admirei. Integrar a ala de cirurgia sob sua orientação no terceiro ano marcou a minha formação. Sua postura segura e sua didática clara fizeram da cirurgia um espaço de aprendizado sólido e de grande valor para mim. É uma referência que levo para a vida.

Às **minhas amigas**, que durante a faculdade tornaram o caminho mais leve e cheio de significado para mim. Em especial, à **Laura Giovana Martins Pereira**, você é uma das pessoas mais incríveis que conheci na faculdade, sua amizade é algo que sempre guardarei com muita consideração e respeito, obrigada por me ensinar a viver a vida sem tanta cobrança, por me levar junto para o Rio de Janeiro e pelo privilégio de dividir essa etapa com você. À **Gabrielli Lopes Batturi**, que em pouco tempo se tornou uma presença essencial na minha vida. Agradeço muito por toda parceria, carinho e por ser essa pessoa única e tão especial.

À **Thainá Delibi Alves**, minha dupla de clínica desde o início da faculdade, pela parceria constante, pela leveza nos dias difíceis e pelo abraço de irmã em cada etapa dessa jornada. Sou extremamente grata pela sintonia, carinho e amizade verdadeira que tornaram tudo muito mais especial.

À **Mariana Xavier de Souza**, minha amiga e colega de apartamento, pela parceria constante e por estar ao meu lado em todos os momentos. Obrigada por me escutar com paciência, pelos conselhos sinceros e por transformar a rotina em algo mais leve e humorado ao longo desses anos.

E a todos que, de alguma forma, fizeram parte dessa trajetória, meu sincero agradecimento. Cada gesto, palavra e incentivo deixaram marcas que levarei comigo muito além deste trabalho.

GONÇALVES, MEA. **Capacidade osteocondutora de cerâmica bifásica em defeitos críticos em calvária de ratos.** 2025.

Trabalho de conclusão de curso – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba.

RESUMO

Dentre os biomateriais utilizados na reabilitação óssea, as cerâmicas bifásicas apresentaram-se como opção promissora devido às suas propriedades físico-químicas, que influenciam o tempo e a qualidade da neoformação óssea por meio de variações na porosidade, no tamanho das partículas e nas diferentes concentrações entre hidroxiapatita (HA) e beta-tricálcio fosfato (β -TCP). Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade osteocondutora da cerâmica bifásica particulada Blue Bone® (80/20, nano-HA) em defeitos críticos na calvária de ratos. Foram utilizados 36 ratos Wistar, divididos aleatoriamente em três grupos: coágulo sanguíneo (CS), Blue Bone® (BB) e Bio-Oss® (BO), todos recobertos com membrana reabsorvível. Defeitos críticos de 5 mm foram confeccionados, e os animais foram eutanasiados aos 14 e 28 dias, sendo que cada grupo contou com seis animais por tempo de análise. As peças de cada grupo e período foram submetidas à microtomografia computadorizada para mensuração do volume ósseo (BV), porcentagem óssea (BV/TV), parâmetros trabeculares (Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp) e porosidade total (Po.tot). O uso dos biomateriais favoreceu a neoformação óssea ao longo de 28 dias, com melhora nos parâmetros trabeculares. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$), os dois materiais utilizados apresentaram capacidade osteocondutora e permitiram a deposição mineral nas cavidades no tempo experimental proposto.

Palavras-chave: biomateriais; regeneração óssea; fosfatos de cálcio.

GONÇALVES, MEA. **Osteoconductive Capacity of Biphasic Ceramics in Critical-Sized Calvarial Defects in Rats**. 2025. Thesis – School of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University, Araçatuba.

ABSTRACT

Among the biomaterials used in bone rehabilitation, biphasic ceramics have emerged as a promising option due to their physicochemical properties, which influence the timing and quality of new bone formation through variations in porosity, particle size, and the different concentrations of hydroxyapatite (HA) and beta-tricalcium phosphate (β -TCP). This study aimed to evaluate the osteoconductive capacity of the particulate biphasic ceramic Blue Bone® (80/20, nano-HA) in critical-sized defects in rat calvaria. Thirty-six Wistar rats were randomly divided into three groups: blood clot (BC), Blue Bone® (BB), and Bio-Oss® (BO), all covered with a resorbable membrane. Critical defects of 5 mm were created, and the animals were euthanized at 14 and 28 days, with six animals per group for each analysis period. Samples from each group and time point were subjected to micro-computed tomography to measure bone volume (BV), bone volume fraction (BV/TV), trabecular parameters (Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp), and total porosity (Po.tot). The use of biomaterials promoted bone neoformation over 28 days, with improvements in trabecular parameters. Although no statistically significant differences were observed ($p > 0.05$), both materials evaluated exhibited osteoconductive capacity and promoted mineral deposition within the defects during the proposed experimental period.

Keywords: biomaterials; bone regeneration; calcium phosphates.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Volume ósseo dos grupos aos 14 e 28 dias	11
Tabela 2 – Proporção de volume ósseo pelo volume total dos grupos aos 14 e 28 dias	11
Tabela 3 – Espessura trabecular dos grupos aos 14 e 28 dias	12
Tabela 4 – Número de Trabéculas dos grupos aos 14 e 28 dias	12
Tabela 5 – Espaçamento Trabecular dos grupos aos 14 e 28 dias	13
Tabela 6 – Porosidade total dos grupos aos 14 e 28 dias	13

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do local da realização do defeito crítico na calvária dos ratos	07
Figura 2 – Fluxograma dos tempos de análise dos biomateriais. 14 dias e 28 dias	08
Figura 3 – Análise dos parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada nos períodos de 14 e 28 dias nos grupos CS (Coágulo Sanguíneo), BO (Bio-Oss®) e BB (BlueBone®)	10
Figura 4 – Análise da cinética da proporção volume ósseo/volume total (BV/TV)	12

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	4
3.1 Biomateriais Utilizados	4
3.2 Desenho Experimental.....	5
3.3 Procedimento cirúrgico	6
3.4 Cuidados pós-operatórios	7
3.5 Eutanásia e Coleta do material	7
3.6 Análise microtomográfica (μ CT).....	8
3.7 Análise Estatística	8
4. RESULTADOS	10
4.1 Microtomografia computadorizada	10
5. DISCUSSÃO	14
6. CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS.....	19

1. INTRODUÇÃO

O uso de implantes osseointegráveis para reabilitação dos maxilares atróficos tem tornado a regeneração óssea guiada (ROG) associada com biomateriais uma prática comum nesta especialidade¹. Ademais, tem havido um foco constante objetivando-se encontrar biomateriais sintéticos ideais, apresentando propriedades químicas, físicas e biológicas tão satisfatórias quanto os materiais autógenos nas reabilitações ósseas².

No que diz respeito aos substitutos ósseos, estes se dividem em três grandes grupos: alógenos, xenógenos e aloplásticos. Já os enxertos correspondem apenas a sua classificação como autógenos que são considerados o padrão de excelência devido às suas propriedades osteogênicas, osteocondutoras e osteoindutoras^{2,3,4}. Todavia, é preciso uma área doadora, o que pode provocar morbidades ao paciente, além das limitações de áreas doadoras no corpo⁵.

Na sequência, os alógenos, que são provenientes de indivíduos distintos, podem acarretar diversos desafios, incluindo a possível rejeição do tecido do doador pelo sistema imunológico do receptor, bem como preocupações relacionadas a doenças como o HIV⁵. Além deste, os substitutos xenógenos, principalmente do osso bovino, concebem uma satisfatória capacidade de conduzir a formação óssea, sendo ótimos osteocondutores no processo⁶. Entretanto, ainda não se foi possível controlar a presença da proteína hospedeira em isoforma conformacional (príons) na sua composição, devido à alta resistência destas a esterilização⁷. Desse modo, apresenta-se o risco de transmissão aos pacientes, visto que doenças como as encefalopatias espongiformes transmissíveis causadas por eles podem afetar bovinos e humanos^{8,9}.

Nessa perspectiva, tem-se estudado e aprimorado a utilização de substitutos ósseos sintéticos, que são compostos por polímeros, cerâmicas e metais¹⁰, uma vez que não necessitam de uma área doadora, não apresentam riscos imunogênicos ligados a doenças autoimunes e não são capazes de portarem príons em sua composição. Outrossim, tendo em vista as cerâmicas, sua elegibilidade como substituto ósseo vem da sua atividade osteocondutora¹¹, além de que, a literatura também sugere que a cerâmicas bifásicas possam estimular atividades osteoindutoras mediante a sua conformação geométrica macroporosa, captando

BMP-2 endógena, uma glicoproteína morfogênica associada na resolução de traumas no tecido ósseo e da osteointegração de implantes ao osso^{12,13,14}, para a formação de tecido mineralizado¹⁵.

Ademais, a incorporação da nanotecnologia aos biomateriais cerâmicos tem se mostrado um recurso promissor para potencializar suas propriedades bioativas. Estruturas com micro- e nanotopografia, como as encontradas em cerâmicas bifásicas nanoestruturadas, têm demonstrado não apenas melhora da osteocondutividade, mas também uma resposta celular mais favorável, com modulação da atividade de células inflamatórias e estimulação da diferenciação osteoblástica. Em modelos experimentais, por exemplo, cerâmicas bifásicas com revestimento de nano-hidroxiapatita aumentaram o potencial osteoindutor e diferenciação celular¹⁶, BCP em escala nanométrica modulou a expressão de citocinas inflamatórias e favoreceu a osteogênese in vitro e in vivo¹⁷, e cerâmicas bifásicas nanoporosas apresentaram formação óssea significativamente superior, inclusive em ambientes osteoporóticos¹⁸.

No cenário nacional, a cerâmica bifásica Blue Bone® (Regener Biomateriais, Curitiba, Brasil), composta por partículas nanométricas homogêneas (aproximadamente 79 % HA e 21 % β -TCP), demonstrou excelente biocompatibilidade, ausência de citotoxicidade e desempenho osteocondutor comparável ao substituto xenógeno Bio-Oss® em modelo pré-clínico, com tendência a maior formação de tecido ósseo¹⁹. Esses achados reforçam a importância de se investigar, como propõe o presente estudo, essa formulação nanoestruturada e de geometria simétrica quanto à reabsorção, neoformação óssea e mineralização tecidual, com estudos que comprovam a sua atividade osteocondutora bem como a sua utilização clínica para a reabilitação óssea dos pacientes^{15,20}. A hipótese nula deste estudo é de que não haverá diferenças nos padrões de reabsorção, neoformação óssea e quantidade de tecido mineralizado neoformado em comparação com o grupo controle.

2. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade osteocondutora da cerâmica bifásica Blue Bone em calvária de ratos empregando a análise por microtomografia computadorizada (μ CT).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo experimental foi conduzido de acordo com os princípios éticos para experimentação animal, com aprovação pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA – UNESP), processo nº 251/2024, seguindo as diretrizes da ARRIVE Guidelines.

O cálculo amostral foi obtido por meio do site [http://estatistica.bauru.usp.br/calculoamostral/ta_comparacao_multipla_independent es.php](http://estatistica.bauru.usp.br/calculoamostral/ta_comparacao_multipla_independent_es.php), tomando como referência o estudo prévio de Puttini IO et al.¹¹, que considerou a comparação entre mais de duas médias com grupos independentes (ANOVA) e o desfecho primário: análise quantitativa da porcentagem de formação óssea nova em relação aos grupos e ao período experimental de 14 dias.

Com base no desfecho primário, a mínima diferença estimada entre o grupo controle (coágulo sanguíneo) e o grupo experimental (cerâmica bifásica) foi de 2,79. A estimativa do desvio-padrão no grupo experimental (cerâmica bifásica) resultou em 1,36. Considerando-se um erro alfa de 5%, erro beta de 20% e poder estatístico de 80%, determinou-se o número amostral de 6 animais por tempo de análise nos 3 grupos propostos, totalizando 36 animais para o projeto completo.

3.1 Biomateriais Utilizados

A cerâmica bifásica Blue Bone® (Regener Biomaterials, Curitiba, PR, Brasil) apresenta composição de nanohidroxiapatita e β -tricálcio fosfato (processados em fornos a 800 °C) na proporção 80:20%, com relação Ca/P de 1,7. O material não é citotóxico, possui tempo estimado de reabsorção de 9 meses, grânulos menores variando entre 0,25 e 1 mm, porosidade de 70–80%, característica hidrofílica (permitindo mistura com soro fisiológico ou sangue) e esterilização por radiação gama.

O biomaterial xenógeno Bio-Oss® (Geistlich Pharma, Wolhusen, Suíça) é constituído por osso bovino liofilizado, com tempo previsto de reabsorção e neoformação óssea entre 4 e 6 meses. Os grânulos menores, também de 0,25 a 1 mm, foram utilizados na pesquisa. O material possui ação osteocondutora e foi

adotado como controle positivo devido a evidências na literatura que apontam resultados semelhantes aos obtidos com enxerto autógeno⁷.

A instalação dos biomateriais exigiu a realização de osteopromoção mediante cobertura com membrana biológica reabsorvível acelular (Green Membrane®, Regener Biomaterials, Curitiba, Brasil), a fim de garantir a adequada barreira física durante a manutenção das partículas, estabilizar o coágulo e prevenir a invasão de células do tecido mole nos defeitos críticos. Esse procedimento foi padronizado para todos os grupos experimentais, incluindo o grupo controle (apenas coágulo), o grupo com cerâmica bifásica e o grupo com substituto xenógeno.

A escolha da membrana colágena (Green Membrane®) baseou-se em estudos previamente publicados, que descrevem sua caracterização e atividade biológica, conforme relatado por Brum I et al.²⁰. O material é constituído por colágeno tipo I, medindo 40 mm × 25 mm × 1 mm, estéril, hidrofílico e com reabsorção estimada a partir de 30 dias.

3.2 Desenho Experimental

Para a realização desse projeto, utilizaram-se 36 (trinta e seis) ratos Wistar (Rattus Norvegicus Albinus), macho, com 3 meses de idade e com peso variando entre 450-500 gramas. Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba — UNESP e acomodados no biotério do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba — UNESP, com controle da temperatura e luz do ambiente, alimentados com ração sólida e água *ad libitum*, durante todo o experimento. Todos os animais foram submetidos a um defeito crítico de 5mm na região da calvária por meio de uma osteotomia, e em seguida distribuídos em três grupos de acordo com o tratamento proposto:

- **Grupo Coágulo Sanguíneo (CS):** defeito crítico preenchido por coágulo sanguíneo para a representação do grupo controle negativo;
- **Grupo Osso Bovino particulado Bio-Oss® (BO):** defeito crítico preenchido por composto xenógeno bovino em grânulos Bio-Oss (Geistlich Pharma, Wolhusen, Suíça) para a representação do grupo controle positivo;

- **Grupo Hidroxiapatita e β -tricálcio fosfato particulado Blue Bone® (BB):** defeito crítico preenchido por composto sintético de β -tricálcio-fosfato em grânulos HA/ β -TCP (80/20) (Blue Bone, Regener, Curitiba, Paraná, Brasil);

As cavidades de todos os grupos foram recobertas por membrana acelular Green Membrane® (Regener biomaterials, Curitiba, Brazil).

3.3 Procedimento cirúrgico

Todos os animais permaneceram em jejum por 8 horas. A indução da anestesia geral foi realizada sob sedação, por meio de administração intramuscular de 80 mg/kg de Cloridrato de Cetamina 10% (Vetaset® – Fort Dodge, Saúde Animal LTDA, Campinas, São Paulo, Brasil) associada a 10 mg/kg de Cloridrato de Xilazina 2% (Dopaser® – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

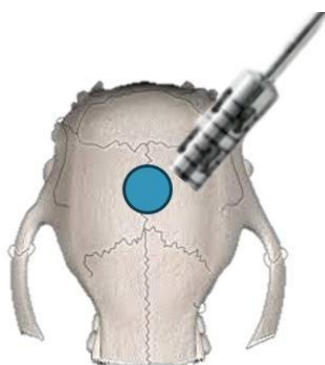
Realizou-se a tricotomia da região fronto-parietal, seguida de antissepsia com solução de Polivinil Pirrolidona Iodo Tópico (PVP-I 1%, Riodeine Tópico, Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil). Para complementação anestésica e hemostasia do campo operatório, empregou-se anestesia local com Cloridrato de Mepivacaína 2% e Epinefrina 1:100.000 (MEPIADRE® – DFL Indústria e Comércio S.A., Jacarepaguá, RJ, Brasil).

O acesso cirúrgico foi realizado por meio de incisão linear em “V” de 2 cm, utilizando-se lâmina de bisturi 15C (Feather Industries Ltda, Tokyo, Japan) montada em cabo nº 3 (Hu-Friedy®, Chicago, IL, USA), seguida de descolamento muco-periosteal do retalho e exposição do osso parietal.

Com uma broca trefina de 5 mm de diâmetro interno (Neodent®, Curitiba, PR, Brasil), acoplada a contra-ângulo de redução 20:1 (Kavo® do Brasil, Joinville, SC, Brasil) e conectada a peça de mão (BLM 600 plus, Driller®, Jaguaré, São Paulo, Brasil) com velocidade de 1200 rpm e torque de 35 N, realizou-se a osteotomia bicortical na região central do osso parietal (Figura 1). A calota craniana foi removida cuidadosamente com descolador de periósteo, preservando-se a integridade da dura-máter.

Em seguida, o defeito crítico foi preenchido de acordo com os três grupos de tratamento propostos (CS, BO, BB) e recoberto com membrana absorvível (Green Membrane®, Regener Biomaterials, Curitiba, PR, Brasil).

Figura 1. Representação do local da realização do defeito crítico na calvária dos ratos com utilização da broca trefina (5mm).



Fonte: elaborado pelo autor (2025).

3.4 Cuidados pós-operatórios

No pós-operatório imediato, todos os animais receberam, via intramuscular, 0,1mL/kg de Pentabiótico (Fort Dodge Saúde Animal Ltd., São Paulo, Brasil) e 1mg/kg de Dipirona Sódica (Ariston Indústrias Químicas e Farmacêuticas Ltd., São Paulo, Brasil).

3.5 Eutanásia e Coleta do material

Aos 14 e 28 dias pós-operatórios, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de administração intraperitoneal de dose excessiva de anestésico (três vezes a dose usual) de cetamina 10%, 270 mg/kg (Vetaset® – Fort Dodge, Saúde Animal LTDA, Campinas, SP, Brasil), associada a Xilazina 2%, 30 mg/kg (Dopaser® – Laboratório Calier do Brasil Ltda, São Paulo, SP, Brasil). (Figura 2).

Em seguida, as calvárias foram cuidadosamente coletadas, e os espécimes fixados em formol neutro tamponado a 10% (Reagentes Analíticos®, Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltd., Catanduva, SP, Brasil) por 48 horas.

Figura 2. Fluxograma dos tempos de análise dos biomateriais. 14 dias e 28 dias.



Fonte: elaborado pelo autor (2025).

Forma de análise dos resultados

3.6 Análise microtomográfica (μ CT)

Após a fixação em formaldeído a 10% por 48 horas e posterior lavagem em água corrente durante 24 horas, as peças permaneceram em álcool 70% e, em seguida, passaram por análise em microtomógrafo computadorizado Skyscan 1174 (Bruker, Kontich, Belgium). Os parâmetros utilizados incluíram: tamanho do pixel de 11,87 μ m, 50 kVp, filtro de alumínio de 0,5 mm, rotação de 0,6° e arco de rotação de 180°. Após a digitalização, as imagens obtidas foram importadas para o NRecon Reconstruction Software (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium) para a reconstrução tridimensional (3D) das calotas na escala de cinza, em que as linhas vermelhas delimitaram a área a ser reconstruída e a linha verde indicou o centro da região de interesse. Com as imagens em 3D obtidas, empregou-se o Software DataViewer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium) para determinar o volume de interesse (VOI) por meio do alinhamento da peça nos três planos (sagital, coronal e axial) e do cálculo das médias de volume para a delimitação do ROI (5×5 mm). Os cortes resultantes foram salvos para a análise óssea no Software CT-Analyzer (Skyscan, Bruker, Kontich, Belgium). O volume observado foi examinado por meio da binarização da amostra, obtendo-se o volume total, além dos volumes correspondentes à fase do biomaterial e à fase de osso neoformado. Os parâmetros morfométricos avaliados compreenderam o volume ósseo (BV), a porcentagem de volume ósseo (BV/TV), a espessura do trabeculado ósseo (Tb.Th), o número de trabéculas ósseas (Tb.N), a separação do trabeculado (Tb.Sp) e a porcentagem da porosidade óssea total (Po.tot). Todos os dados foram tabulados para posterior análise estatística.

3.7 Análise Estatística

A análise estatística foi conduzida no software Sigma Plot 12.0 (Exakt Graph andData Analysis). Inicialmente, aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para verificar a homogeneidade da distribuição ($P > 0,05$). Após a confirmação da distribuição

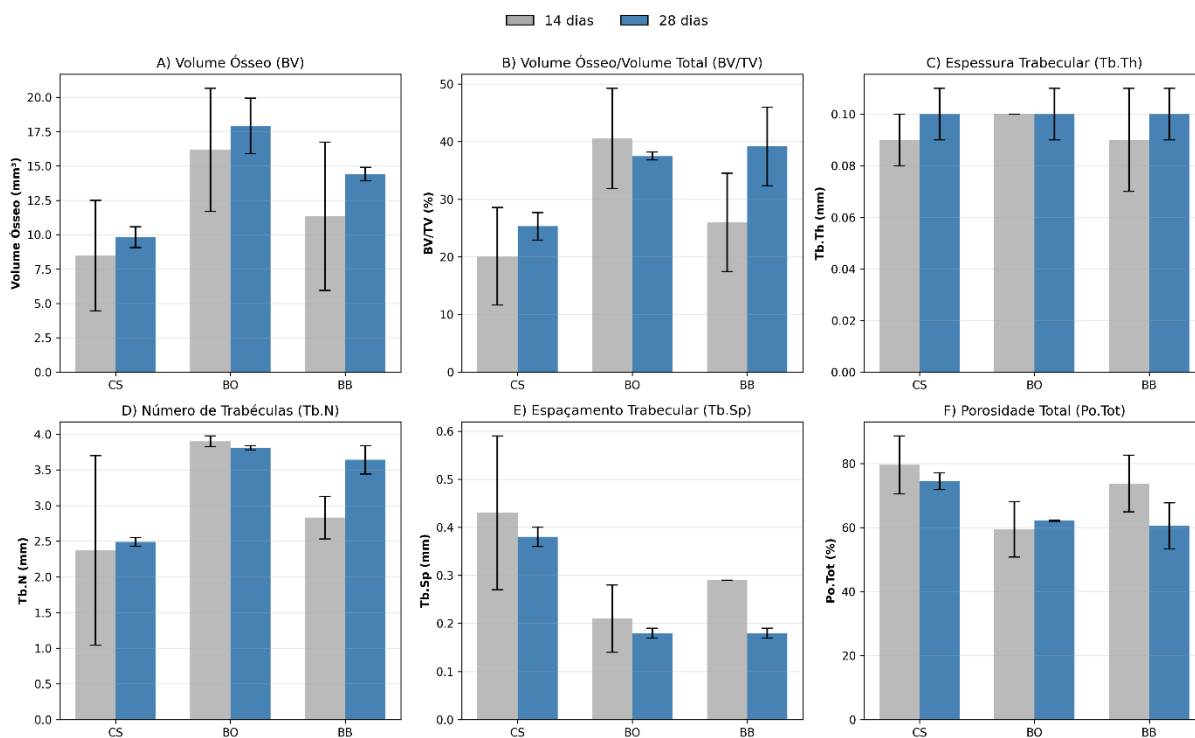
normal das amostras, empregou-se a ANOVA de dois fatores, seguida do pós-teste de Tukey, para avaliar a significância intra e intergrupos. Todos os testes estatísticos adotaram um nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

4.1 Microtomografia computadorizada

A análise por microtomografia computadorizada (μ CT) permitiu a caracterização quantitativa da neoformação óssea e da microarquitetura trabecular em defeitos preenchidos com os diferentes biomateriais, nos períodos de 14 e 28 dias (Figura 3).

Figura 3. Análise dos parâmetros morfométricos obtidos por microtomografia computadorizada nos períodos de 14 e 28 dias nos grupos CS (Coágulo Sanguíneo), BO (Bio-Oss®) e BB (BlueBone®).



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Legenda: A) Volume ósseo (BV); B) Volume ósseo/volume total (BV/TV); C) Espessura trabecular (Tb.Th); D) Número de trabéculas (Tb.N); E) Espaçamento trabecular (Tb.Sp); F) Porosidade total (Po.Tot). Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,99$)

Com relação ao volume ósseo, todos os grupos apresentaram aumento ao longo do tempo, sem diferenças estatísticas significativas ($p > 0,99$). O grupo BO apresentou os maiores valores médios em ambos os tempos ($16,16 \pm 4,48 \text{ mm}^3$ e $17,91 \pm 2,02 \text{ mm}^3$), seguido pelo grupo BB. O grupo CS apresentou os menores valores, embora também tenha evidenciado incremento aos 28 dias (Tabela 1).

Tabela 1. Volume ósseo dos grupos aos 14 e 28 dias

BV			
mm ³	CS	BO	BB
14 dias	8,48 ±4,02	16,16 ±4,48	11,33 ±5,40
28 dias	9,82 ±0,76	17,91 ±2,02	14,41 ±0,50
<i>p</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A Proporção Volume Ósseo/Volume Total (BV/TV), demonstrou que o grupo BO obteve o maior índice de BV/TV aos 14 dias, com valores de 40,55 ± 8,68%. Aos 28 dias, o grupo BB apresentou aumento expressivo (39,18 ± 6,82%), sugerindo continuidade na deposição óssea (Tabela 2).

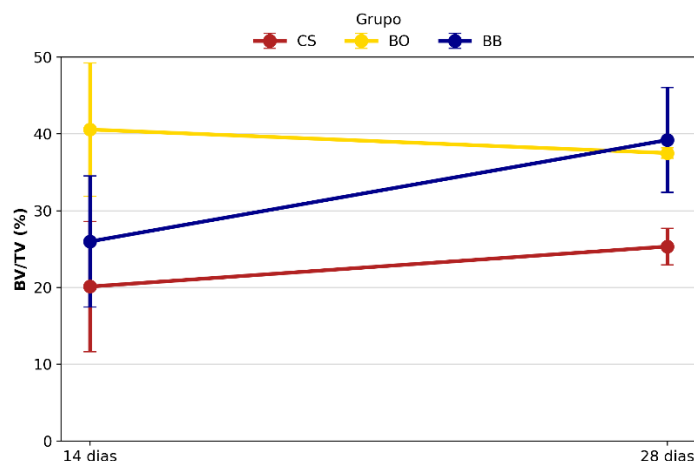
Tabela 2. Proporção de volume ósseo pelo volume total dos grupos aos 14 e 28 dias

BV. TV			
%	CS	BO	BB
14 dias	20,1 ±8,47	40,55 ±8,68	25,97 ±8,53
28 dias	25,31 ±2,39	37,49 ±0,69	39,18 ±6,82
<i>p</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A análise da evolução temporal do BV/TV, sugere a cinética de regeneração distinta entre os grupos. Observou-se que o grupo BO manteve uma performance elevada e estável, enquanto o grupo BB exibiu uma trajetória progressiva, com um aumento de 50,9% no BV/TV entre 14 e 28 dias, o maior incremento percentual entre todos os grupos (Figura 4).

Figura 4. Análise da cinética da proporção volume ósseo/volume total (BV/TV)



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Legenda: Evolução temporal da Proporção Volume Ósseo/Volume Total (BV/TV) nos grupos CS, BO e BB entre 14 e 28 dias. As barras de erro representam o desvio-padrão.

Para a Espessura Trabecular (Tb.Th) os resultados demonstraram que os grupos permaneceram estáveis entre os períodos, com médias próximas de 0,10 mm, não havendo variação estatisticamente relevante (Tabela 3).

Tabela 3. Espessura trabecular dos grupos aos 14 e 28 dias

TB, Th	Grupo		
Mm	CS	BO	BB
14 dias	0,09 ±0,01	0,10 ±0,00	0,09 ±0,02
28 dias	0,10 ±0,01	0,10 ±0,01	0,10 ±0,01
<i>P</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Para o número de Trabéculas (Tb.N), aos 14 dias, o grupo BO apresentou maior número de trabéculas em relação aos demais. Aos 28 dias, o grupo BB demonstrou incremento expressivo ($3,64 \pm 0,20$), aproximando-se do desempenho do BO ($3,81 \pm 0,030$) e superando o grupo coágulo sanguíneo ($2,49 \pm 0,06$). (Tabela 4).

Tabela 4. Número de Trabéculas dos grupos aos 14 e 28 dias

TB, N	Grupo		
Mm	CS	BO	BB
14 dias	2,37 ±1,33	3,90 ±0,075	2,83 ±0,30

28 dias	2,49 ±0,06	3,81 ±0,030	3,64 ±0,20
<i>P</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Com relação ao espaçamento Trabecular (Tb.Sp), verificou-se diminuição do espaçamento entre trabéculas em todos os grupos ao longo do tempo, especialmente no grupo CS, que reduziu de $0,43 \pm 0,16$ mm para $0,38 \pm 0,02$ mm (Tabela 5).

Tabela 5. Espaçamento Trabecular dos grupos aos 14 e 28 dias

TB, Sp			
Mm	CS	BO	BB
14 dias	0,43 ±0,16	0,21 ±0,07	0,29 ±0,00
28 dias	0,38 ±0,02	0,18 ±0,01	0,18 ±0,01
<i>P</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Para a última das análises da microCT, a Porosidade Total (Po.Tot) demonstrou que o grupo CS manteve a maior porosidade em ambos os períodos ($79,57 \pm 9,05\%$ e $74,51 \pm 2,64\%$), enquanto os demais grupos apresentaram valores reduzidos e relativamente estáveis (Tabela 6).

Tabela 6. Porosidade total dos grupos aos 14 e 28 dias

PO. TOT			
%	CS	BO	BB
14 dias	79,57 ±9,05	59,44 ±8,68	73,74 ±8,86
28 dias	74,51 ±2,64	62,18 ±0,23	60,54 ±7,20
<i>p</i>	>0.99	>0.99	>0.99

Fonte: Elaborada pelo autor (2025).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo buscou avaliar a capacidade osteocondutora da cerâmica bifásica nanoestruturada Blue Bone® (BB) em defeitos críticos na calvária de ratos, utilizando o Bio-Oss® (BO) como controle positivo e o coágulo sanguíneo (CS) como controle negativo. Embora a análise estatística não tenha revelado diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,99$), a análise descritiva dos parâmetros microtomográficos aponta para tendências biológicas distintas e relevantes, especialmente no que tange à comparação dos dados microtomográficos entre os tempos de análise sugerindo uma cinética de regeneração óssea ao longo dos 28 dias de avaliação.

Embora todos os grupos tenham apresentado comportamento estatisticamente semelhante, o grupo CS exibiu os menores valores de formação óssea ao longo do experimento, o que é compatível com o caráter crítico do defeito de 5 mm utilizado, sendo este um modelo amplamente validado na literatura para testar o potencial de biomateriais, e que reforça a necessidade de um arcabouço osteocondutor para guiar a neoformação tecidual em defeitos desse diâmetro ²².

Em contrapartida, o grupo BO demonstrou um desempenho consistente, apresentando os maiores valores de volume ósseo ($BV = 16,16 \text{ mm}^3$ aos 14 dias; $17,91 \text{ mm}^3$ aos 28 dias) e uma arquitetura trabecular bem estabelecida desde os 14 dias, considerando que registrou o maior número de trabéculas ($Tb.N = 3,90$) e o menor espaçamento trabecular ($Tb.Sp = 0,21 \text{ mm}$). Este comportamento é esperado, visto que o Bio-Oss® é considerado um padrão-ouro na regeneração óssea guiada por ser um xenógeno bovino com estrutura porosa e composição mineral que imita o osso humano, atuando como um excelente arcabouço osteocondutor de baixa reabsorção e com manutenção tridimensional volumétrica ²³.

Ademais, um dos achados deste estudo reside na cinética de regeneração do grupo Blue Bone®, especialmente quando comparada ao desempenho relativamente estável do grupo BO ao longo do período avaliado. Enquanto o BO manteve valores elevados e com pouca oscilação de proporção volume ósseo/volume total (BV/TV); $40,55 \pm 8,68\%$ aos 14 dias e $37,49 \pm 0,69\%$ aos 28 dias; o grupo BB apresentou uma trajetória ascendente, sugerindo maior dinâmica de remodelação entre os tempos analisados.

Aos 14 dias, o BB registrou BV/TV de $25,97 \pm 8,53\%$, evoluindo para $39,18 \pm 6,82\%$ aos 28 dias, o que representa um aumento de 50,9%, configurando o maior incremento percentual observado entre os grupos. Essa evolução volumétrica foi acompanhada por mudanças importantes na microarquitetura óssea. O número de trabéculas (Tb.N) passou de $2,83 \pm 0,30$ para $3,64 \pm 0,20$, correspondendo a um aumento de 28,6%, enquanto o espaçamento trabecular (Tb.Sp) reduziu-se de $0,29 \pm 0,00$ mm para $0,18 \pm 0,01$ mm, refletindo uma diminuição acentuada de 37,9% no intervalo entre 14 e 28 dias.

Essas modificações estruturais aproximaram o desempenho do grupo BB ao observado no BO aos 28 dias, que apresentou Tb.N de $3,81 \pm 0,030$ e Tb.Sp de $0,18 \pm 0,01$ mm, indicando que, embora o Bio-Oss® mantenha valores superiores e estáveis desde fases iniciais, o Blue Bone® exibiu uma curva de progressão pronunciada, sugerindo uma cinética regenerativa acelerada ao longo dos 28 dias de avaliação.

Essa "partida lenta e chegada rápida" pode ser atribuída às características nanoestruturais do Blue Bone®, visto que a literatura sugere que biomateriais com topografia submicrométrica, como as partículas de nano-hidroxiapatita presentes no BB, podem requerer um período inicial para a adsorção de proteínas e recrutamento celular, seguido por uma fase de formação óssea acelerada ²⁴.

Duan et al. ²⁴ demonstraram que cerâmicas de BCP com topografia de agulhas submicrométricas induziram osso mais precocemente (3-6 semanas) do que materiais com microtopografia. Os autores estabeleceram uma hierarquia de importância para a osteoindução. O tamanho das características da superfície do biomaterial exerce uma influência superior sobre a resposta celular do que a morfologia de superfície e a química do substrato ²⁴. Ou seja, a forma como o material é estruturado em escala nanométrica é o fator predominante que dita a resposta biológica. Isso corrobora nossos achados, onde a nanotopografia do BB parece ter modulado a resposta biológica para uma regeneração mais vigorosa no período final de análise.

A distinção entre os biomateriais também reside na sua taxa de reabsorção. O Bio-Oss®, sendo um xenógeno anorgânico, é conhecido por sua reabsorção extremamente lenta, o que é vantajoso para a manutenção do volume a longo prazo, mas pode, em contrapartida, retardar a substituição completa do enxerto por osso neoformado²³. Em contraste, o Blue Bone®, por ser uma cerâmica bifásica (HA/ β -

TCP), possui uma taxa de reabsorção controlada e previsível, mediada pela porção de β -TCP (21%) em sua composição. A literatura sugere que o β -TCP é reabsorvido mais rapidamente, sendo substituído por osso, enquanto a HA confere estabilidade estrutural²⁵. Essa reabsorção balanceada é um fator crucial para a regeneração óssea ideal, pois permite que o biomaterial seja gradualmente substituído por osso vital, o que pode ser considerado uma vantagem biológica do Blue Bone® em relação ao Bio-Oss®.

Dentre as limitações deste trabalho, o período experimental de 28 dias foi adotado para identificar o processo de remodelação tecidual óssea, entretanto, ao se considerar que o padrão de neoformação óssea pode divergir entre os biomateriais²⁶, um tempo de análise mais extenso se mostraria pertinente para uma avaliação mais completa da maturidade do tecido neoformado e para uma interpretação mais precisa das distinções entre os grupos por meio da análise microtomográfica computadorizada.

Em segundo lugar, a variabilidade biológica individual inerente ao modelo experimental *in vivo*, evidenciada pelos altos desvios-padrão observados, no período de 14 dias, diminui o poder estatístico do teste²⁷. Este fator intrínseco aos sistemas biológicos, ao promover uma maior heterogeneidade nas respostas individuais, impacta na capacidade do teste estatístico de detectar diferenças significativas entre os grupos.

Adicionalmente, o BV/TV de 25,31% observado no grupo controle (CS) aos 28 dias sugere que a membrana de colágeno reabsorvível utilizada pode ter contribuído para uma regeneração óssea basal. Este achado é compatível com a literatura de Regeneração Óssea Guiada (ROG), que postula que a membrana, ao estabilizar o coágulo e excluir o tecido mole, cria um ambiente propício para a osteogênese²⁸. Portanto, a regeneração observada no grupo CS pode ter reduzido a diferença biológica entre os grupos experimentais e o controle, contribuindo para a ausência de significância estatística. Sob essa ótica, a observação de tendências biológicas consistentes, mesmo sem significância estatística, é um achado pertinente e relatado em outros estudos da área.²⁹

Sob essa perspectiva, a ausência de diferença estatística entre o Bio-Oss® e o Blue Bone® pode ser interpretada como uma equivalência de desempenho no período de 28 dias. Este achado sugere uma grande relevância clínica, pois o Blue Bone®,

um material sintético, pode alcançar um resultado microestrutural comparável ao Bio-Oss®, o padrão-ouro xenógeno. No contexto da literatura, onde a busca por substitutos ósseos sintéticos seguros e eficazes é constante, a demonstração de equivalência com um material estabelecido pode posicionar o Blue Bone® como uma alternativa viável e promissora, eliminando os riscos associados à origem animal (como a transmissão de príons) ⁷ e oferecendo maior controle de qualidade e reprodutibilidade.

Outrossim, a composição do Blue Bone® (79% HA / 21% β -TCP) e sua razão Ca/P de 1,7 são fatores que influenciam sua bioatividade. A fase de β -TCP, mais solúvel, promove uma dissolução inicial de íons cálcio e fosfato, criando um microambiente favorável à deposição de matriz óssea, enquanto a fase de HA, mais estável e inerte, possibilita a manutenção do arcabouço a longo prazo ^{30, 31}. Estudos de Brum et al. ^{19, 21}, forneceram a base molecular para esses achados, demonstrando que o compósito nano-HA/ β -TCP induziu maior expressão de marcadores de remodelação (MMP-9) e sinalização inflamatória inicial (TNF- α) em comparação com xenoenxertos, o que se traduz em uma regeneração tecidual mais bioativa ^{19, 21}.

Finalmente, é imperativo destacar que a análise por microtomografia computadorizada (μ CT), embora excelente para quantificar a microarquitetura tridimensional, não diferencia o osso neoformado do biomaterial residual e não avalia a qualidade celular do tecido. Portanto, a tendência de superioridade do grupo BB em parâmetros como BV/TV e Tb.N aos 28 dias, aliada à sua menor porosidade, sugere um fechamento mais eficaz do defeito. Contudo, apenas a análise histológica e histomorfométrica poderá confirmar se esse preenchimento corresponde a osso vital e bem vascularizado ou a remanescentes do biomaterial. Essa análise complementar, como proposto, é fundamental para validar o potencial osteocondutor do Blue Bone® e elucidar os mecanismos celulares subjacentes à sua promissora cinética de regeneração.

6. CONCLUSÃO

Os dois materiais utilizados apresentaram capacidade osteocondutora e permitiram deposição mineral nas cavidades no tempo experimental proposto.

REFERÊNCIAS

1. Sinhoret, M.A., vittl, R.P., correr-sobrinho, L. Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* 2013;67(4):256-261
2. Guastaldi A.C., Aparecida A.H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Quím Nova.* 2010;33(6):1352–8. DOI.10.1590/S0100-40422010000600025
3. Zhang S., Li X., Qi Y., et al. Comparison of Autogenous Tooth Materials and Other Bone Grafts. *Tissue Eng Regen Med.* 2021;18(3):327-341. DOI:10.1007/s13770-021-00333-4
4. Miron R.J., Gruber R., Hedbom E., et al. Impact of bone harvesting techniques on cell viability and the release of growth factors of autografts. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;15:481–489. DOI: 10.1111/j.1708-8208.2012.00440.x
5. Ratnayake J.T.B, Mucalo M., Dias G.J. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2017;105(5):1285-1299. DOI:10.1002/jbm.b.33651
6. Nasser N., Sundar R., Mohammed Al- K. Real-Time Assessment of Guided Bone Regeneration in Standardized Calvarial Defects in Rats Using Bio-Oss With and Without Collagen Membrane: An In Vivo Microcomputed Tomographic and Histologic Experiment. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2016;36:139-149. DOI: 10.11607/prd.2354
7. Basler K., Oesch B., Scott M., et al. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. *Cell.* 1986;46(3):417-428. DOI:10.1016/0092-8674(86)90662-8
8. Weissmann C., Enari M., Klöhn P.C., Rossi D., Flechsig E. Transmission of prions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(4):16378-16383. DOI:10.1073/pnas.172403799
9. Battafarano G., Rossi M., De Martino V., et al. Strategies for Bone Regeneration: From Graft to Tissue Engineering. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):1128. DOI:10.3390/ijms22031128
10. Giordano Il R. Ceramics overview. *Br Dent J.* 2022;232(9):658-663. DOI:10.1038/s41415-022-4242-6
11. Puttini I.O., Poli P.P., Maiorana C., et al. Evaluation of Osteoconduction of Biphasic Calcium Phosphate Ceramic in the Calvaria of Rats: Microscopic and Histometric Analysis. *J Funct Biomater.* 2019;10(1):7. DOI: 10.3390/jfb10010007
12. Wang E.A., Israel D.I, Kelly S., Luxenberg D.P. Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3H10T1/2 and 3T3 cells. *Growth Factors.* 1993;9(1):57-71. DOI: 10.3109/08977199308991582

13. Urist M.R., Mikulski A., Lietze A. Solubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1979; 76: 1828–1832. DOI: 10.1073/pnas.76.4.1828
14. Solheim, E. Growth factors in bone. *Int Orthop*. 1998;22:410–416. DOI: 10.1007/s002640050290
15. Rao S.M., Ugale G.M., Warad S.B. Bone morphogenetic proteins: periodontal regeneration. *N Am J Med Sci*. 2013;5(3):161-168. DOI: 10.4103/1947-2714.109175
16. Hu J, Zhou Y, Huang L, Liu J, Lu H. Effect of nano-hydroxyapatite coating on the osteoinductivity of porous biphasic calcium phosphate ceramics. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014;15:114. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-15-114>
17. Su Y-C, Phan TTT, Wang T-W, Chang S-H, Lin F-H, Hsu T-S, et al. Nanoscaled biphasic calcium phosphate modulates osteogenesis and attenuates LPS-induced inflammation. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023;11:1236429. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1236429>
18. Zhang K, Zhang J, Chen K, Hu X, Wang Y, Yang X, et al. In vitro and in vivo assessment of nanostructured porous biphasic calcium phosphate ceramics for promoting osteogenesis in an osteoporotic environment. *RSC Adv*. 2018;8:14646-53. <https://doi.org/10.1039/C8RA00768C>
19. Brum IS, de Carvalho JJ, Pires JLS, et al. Nanosized hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate composite: physico-chemical, cytotoxicity, morphological properties and in vivo trial. *Sci Rep*. 2019;9:19602. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56124-4>
20. Brum I, Elias C, de Carvalho J, Pires J, Pereira M, de Biasi R. Properties of a bovine collagen type I membrane for guided bone regeneration applications. *e- Polymers*. 2021;21(1): 210-221. doi: 10.1515/epoly-2021-002
21. Brum IS, Frigo L, Devita R, Pires JLS, de Oliveira HV, Nascimento ALR, de Carvalho JJ. Caracterização histomorfométrica, imunohistoquímica e ultraestrutural de um compósito de nano-hidroxiapatita/beta-tricálcio fosfato e um xenoenxerto ósseo em defeito ósseo de tamanho subcrítico em calvária de rato. *Materiais*. 2020; 13(20):4598. doi: 10.3390/ma13204598
22. Spicer PP, Kretlow JD, Young S, Jansen JA, Kasper FK, Mikos AG. Evaluation of bone regeneration using the rat critical size calvarial defect. *Nat Protoc*. 2012;7(10):1918-29.
23. Traini T, Piatelli A, Caputi S, et al. The bone-forming ability of a bovine-derived xenograft in human maxillary sinus floor elevation: a histological and histomorphometric evaluation. *J Periodontol*. 2007;78(8):1555-61.
24. Duan R, van Dijk LA, Barbieri D, de Groot F, Yuan H, de Bruijn JD. Accelerated bone formation by biphasic calcium phosphate with a novel sub-micron surface topography. *Eur Cell Mater*. 2019;37:60-73.

25. Bohner M. Review article β -tricalcium phosphate for bone substitution. *Eur Cell Mater.* 2020;40:1-29.
26. Schröter L, Schliephake H, Kretzschmar S, Lauer G, Rössler S. Biological and mechanical performance and degradation characteristics of calcium phosphate cements. *Acta Biomater.* 2020;113:17-29.
27. Abdullah WA, Al-Haddad KA, Al-Salihi AR. Evaluation of bone regenerative capacity in rats claverial defects filled with biphasic calcium phosphate. *Tanta Dent J.* 2016;13(2):85-93.
28. Hämmerle CHF, Jung RE, Feloutzis A. Bone healing in critical-size defects treated with either bone graft, membrane, or a combination of both materials: a histological and histometric study in rat tibiae. *Clin Oral Implants Res.* 2011;22(12):1373-8.
29. Lee YK, Kim YJ, Kim YK, Kim SG. Micro-CT and Histomorphometric Study of Bone Regeneration in Rat Calvarial Defects Using a Novel Porous Titanium Scaffold. *Materials (Basel).* 2021;14(9):2345.
30. Lu J, Yu H, Chen C. Biological properties of calcium phosphate biomaterials for bone repair: a review. *RSC Adv.* 2018;8(4):2015-33.
31. Jin P, Wang Y, Chen Y, Wang X, Zhang Y, Wang J, et al. Calcium-to-phosphorus releasing ratio affects osteoinductivity of calcium phosphate-based bone substitutes. *Biomed Eng Online.* 2023;22(1):5.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Avaliação da capacidade osteocondutora de duas cerâmicas bifásicas em diferentes concentrações. Estudo experimental em defeitos críticos em calvária de ratos"**, Processo FOA nº 251-2024, sob responsabilidade de Daniela Ponzoni 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 DESTES CERTIFICADO: 04 de Maio de 2026.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 04 de Junho de 2026.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Assessment of Osteoconductive Properties in two biphasic ceramics at different concentrations: An experimental study on critical size defects in rat calvaria"**, Protocol FOA nº 251-2024, under the supervision of Daniela Ponzoni 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: May 04, 2026.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: June 04, 2026.



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