



**FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ**  
**UNIVERSIDADE DE FORTALEZA - UNIFOR**  
**VICE-REITORIA DE ENSINO DE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO – VRE**  
**MESTRADO PROFISSIONAL EM ODONTOLOGIA**

**CHRISTIANO SAMPAIO GOUVEA**

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE BIOMATERIAIS  
XENÓGENOS EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS: UMA ANÁLISE  
HISTOLÓGICA**

**FORTALEZA-CE**  
**DEZEMBRO, 2023**

CHRISTIANO SAMPAIO GOUVEA

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE BIOMATERIAIS XENÓGENOS  
EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS: UMA ANÁLISE HISTOLÓGICA

Dissertação apresentada ao Programa de  
Mestrado Profissional em Odontologia da  
Universidade de Fortaleza como requisito  
parcial para obtenção do Título de Mestre  
em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrés  
Landázuri del Barrio

FORTALEZA-CE  
DEZEMBRO, 2023

Ficha catalográfica da obra elaborada pelo autor através do programa de geração automática da Biblioteca Central da Universidade de Fortaleza

---

Gouvea, Christiano Sampaio.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE BIOMATERIAIS  
XENÓGENOS EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS: UMA ANÁLISE  
HISTOLÓGICA / Christiano Sampaio Gouvea. - 2023  
36 f.

Dissertação (Mestrado Profissional) - Universidade de  
Fortaleza. Programa de Mestrado Profissional Em Odontologia,  
Fortaleza, 2023.

Orientação: Ricardo Andrés Landázuri del Barrio.

1. Biomateriais. 2. Enxerto Ósseo. 3. Inflamação. I. del  
Barrio, Ricardo Andrés Landázuri. II. Título.

---

CHRISTIANO SAMPAIO GOUVEA

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA DE BIOMATERIAIS XENÓGENOS  
EM TECIDO SUBCUTÂNEO DE RATOS: UMA ANÁLISE HISTOLÓGICA

Dissertação apresentada ao Programa de  
Mestrado Profissional em Odontologia da  
Universidade de Fortaleza como requisito  
parcial para obtenção do Título de Mestre  
em Odontologia.

Data de aprovação: 11/12/2023.

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Ricardo Andrés Landázuri del Barrio  
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

---

Prof. Dra. Eduardo Diogo Gurgel Filho  
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

---

Prof. Dr. Guilherme José Lopes de Oliveira  
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

## **AGRADECIMENTOS**

Dedico esta dissertação de mestrado a Deus, fonte de sabedoria e guia constante em minha jornada acadêmica. Aos meus dois filhos, Maria e Henrique, cuja presença trouxe inspiração, motivação e alegria aos meus dias de estudo e pesquisa. À minha mãe e toda a minha família, pela paciência, apoio incondicional e amor que sempre me sustentaram.

Expresso minha profunda gratidão aos dedicados professores e colaboradores envolvidos nesta pesquisa, cuja orientação, sabedoria e estímulo foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Suas contribuições foram peças-chave para o crescimento do meu conhecimento e para a conclusão bem-sucedida deste caminho acadêmico.

Que esta dissertação seja não apenas um testemunho do meu esforço, mas também uma homenagem a todos que, de alguma forma, contribuíram para este marco em minha trajetória.

## EPÍGRAFE

*"O sucesso é a soma de pequenos esforços repetidos dia após dia"*

Robert Collier

## RESUMO

O osso xenógeno de origem bovina é um dos materiais utilizados com maior frequência em regenerações ósseas. O processo de sinterização realizado a temperaturas entre 400-1200 graus pode influenciar na resposta tecidual ao redor do biomaterial. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da temperatura de sinterização de osso bovino desmineralizado na resposta inflamatória em tecido subcutâneo de ratos por meio análise histológica. Catorze animais receberam na região dorsal a inserção dos biomateriais, individualmente divididos em 5 grupos (G1: Bio-Oss small; G2: Cerabone small; G3: Bonefill small, G4: Bio-Oss Collagen e G5: Controle), dentro de dispositivos de plásticos estéreis, para posteriormente serem localizados no tecido subcutâneo. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 2 períodos experimentais, 15 dias (n=7) e 45 dias (n=7), sendo o G1 e G4 de materiais de baixa temperatura de sinterização e G2 e G3 de materiais de alta temperatura de sinterização. Posteriormente, os animais foram eutanasiados e as amostras foram preparadas para inclusão em parafina, cortadas com espessura de 5µm e finalmente realizado o processo de coloração HE. As lâminas foram avaliadas com presença/ausência de tecido inflamatório e na severidade dessa inflamação quando presente. Na análise qualitativa ao redor dos biomaterias sinterizados à baixa temperatura (G1 e G4), menor quantidade de tecido inflamatório foi observada. Conclui-se que o processo de sinterização interfere na resposta inflamatória.

**Palavras chave:** Biomateriais. Enxerto Ósseo. Inflamação.

## ABSTRACT

Xenogenic bone of bovine origin is one of the materials most frequently used in bone regeneration. The sintering process carried out at temperatures between 400-1200 degrees can influence the tissue response around the biomaterial. The objective of the study was to evaluate the influence of the sintering temperature of demineralized bovine bone on the inflammatory response in subcutaneous tissue of rats through histological analysis. Fourteen animals received the insertion of biomaterials in the dorsal region, individually divided into 5 groups (G1: Bio-Oss small; G2: Cerabone small; G3: Bonefill small, G4: Bio-Oss Collagen and G5: Control), inside devices of sterile plastics, to later be located in the subcutaneous tissue. The animals were randomly distributed into 2 experimental periods, 15 days (n=7) and 45 days (n=7), with G1 and G4 being materials with low sintering temperatures and G2 and G3 being materials with high sintering temperatures. Subsequently, the animals were euthanized and the samples were prepared for inclusion in paraffin, cut at a thickness of 5µm and finally the HE staining process was carried out. The slides were evaluated for the presence/absence of inflammatory tissue and the severity of this inflammation when present. In the qualitative analysis around the biomaterials sintered at low temperature (G1 and G4), a smaller amount of inflammatory tissue was observed. It is conclude that the sintering process interferes with the inflammatory response.

**Keywords:** Biomaterials. Bone Graft. Inflammation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Desenho esquemático da distribuição dos grupos de biomateriais no dorso do animal;

Figura 2 - G1 no período de 15 dias;

Figura 3 - G1 no período de 45 dias;

Figura 4 - G2 no período de 15 dias;

Figura 5 - G2 no período de 45 dias;

Figura 6 - G3 no período de 15 dias;

Figura 7 - G3 no período de 45 dias;

Figura 8 - G4 no período de 15 dias;

Figura 9 - G4 no período de 45 dias;

Figura 10 - G5 (controle) período de 15 dias;

Figura 11 - G5 (controle) período de 45 dias.

## **LISTA DE QUADROS E TABELAS**

Quadro 1 - Comparação do peso inicial e pré-eutanásia dos animais;

Quadro 2 - G1: Geitslich Biooss®;

Quadro 3 - G2: Straumann Cerabone®;

Quadro 4 - G3: Bionnovation Biomedical Bonfill®;

Quadro 5 - G4: Geitslich Biooss Collagen®

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

B - Biomaterial

BMP - Proteína Morfogênica Ossea

CGCE - Células Gigantes de Corpo Estranho

CGM - Células Gigantes Multinucleadas

CGMN - Células Gigantes Multinucleadas

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

FC - Fosfato de Cálcio

G - Grupo

HA - Hidroxiapatita

HE - Hematoxilina-Eosina

II - Infiltrado Inflamatório

ROG - Regeneração Óssea Guiada

TC - Tecido Conjuntivo

VS - Vaso Sanguíneo

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>31</b>
<b>8 ANEXOS.....</b>	<b>36</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os implantes osseointegrados revolucionaram a odontologia moderna através da reabilitação de desdentados totais ou parciais, proporcionando uma melhor qualidade de vida aos pacientes. Um criterioso planejamento é fundamental para um excelente prognóstico, seguindo conceitos biológicos e funcionais, de modo que os implantes sejam instalados na posição ideal. Entretanto, a perda óssea decorrente da ausência dentária por alterações sistêmicas, doenças periodontais, traumas e tumores torna tal posicionamento um grande desafio. Através de técnicas reconstrutivas, pode-se contornar essas deficiências ósseas por meio de enxertos autógenos, distração osteogênica e regeneração óssea guiada (ELGALI *et al.*, 2017).

Um dos principais métodos de reconstrução e tratamento dos defeitos é a Regeneração Óssea Guiada (ROG) com o uso de biomateriais particulados e membranas e/ou barreiras. A membrana fornece estabilidade para o enxerto, realizando a seletividade e evitando que células não osteogênicas penetrem na região. Assim, é possível o acúmulo de fatores de crescimento e a formação óssea. É uma técnica sensível, porém altamente previsível (ELGALI *et al.* 2017; URBAN, MONJE, 2019).

Alguns biomateriais são usados para esses enxertos ósseos, sendo classificados, de acordo com a sua origem, em aloenxertos, aloplásticos, autógenos e xenógenos. Os aloenxertos são derivados de um doador da mesma espécie, atuando não apenas como arcabouços osteocondutores, mas promovendo a osteoindução por possuírem proteínas morfogenéticas (BMPs) (SHEIKH *et al.*, 2017). Os biomateriais aloplásticos são sintéticos, não tendo assim o risco de infecção cruzada. Os enxertos autógenos são considerados “padrão ouro” nos procedimentos reconstrutivos. Contudo, apresentam reabsorção não previsível e instabilidade de volumes ósseos a longo prazo, sendo atualmente usados, na maioria das técnicas reconstrutivas, particulados e associados com outros materiais xenógenos com a proporção 1:1, com o objetivo de manter estabilidade dimensional ao longo do tempo. Muito se discute sua utilização, devido a morbidade da área doadora e a limitação do volume adquirido (AMID *et al.*, 2020).

Os enxertos xenógenos são obtidos de outras espécies, principalmente de origem bovina, podendo ser preparados de várias formas, incluindo tratamento térmico, hidrazina, métodos químicos e hidro-térmicos. São amplamente utilizados na clínica regenerativa devido a sua estrutura ser semelhante ao osso humano, induzindo assim a formação óssea e a biocompatibilidade (SHEIKH *et al.*, 2017; AMID *et al.*, 2020).

Um dos processos mais utilizados de fabricação dos enxertos xenógenos naturais de origem bovina é a sinterização a diferentes temperaturas, fundamental para purificação do material, removendo os componentes orgânicos e desativando completamente os patógenos, evitando a infecção cruzada. Contudo, tal procedimento afeta as características biológicas e físico-químicas do material, como a estrutura do cristal, o tamanho da partícula, sua porosidade e topografia (CONZ *et al.*, 2010). Apesar disso, o tratamento térmico sob temperatura controlada é o método de preparo mais adequado. Pode alterar a estrutura e a composição do material, formando um sistema de poros bem interligados que permite que os fluídos e as células se difundam no interior das partículas, potencializando a formação óssea. Essa porosidade varia de 36% a 80%, sendo que quanto maior a porosidade mais rápida será a dissolução do enxerto. As partículas devem ter área suficiente para as atividades dos osteoblastos. Todas essas mudanças podem ter grandes efeitos na regeneração óssea e na qualidade do osso recém-formado (BARBECK *et al.*, 2014).

A temperatura de sinterização também varia de acordo com o fabricante, sendo dividida em temperaturas elevadas entre 1200°C e 1300°C, que melhoram as características físicas do material, atribuindo ao mesmo uma maior densidade e dureza, e baixas temperaturas, por volta de 300°C, unindo a esse processo uma sequência de etapas químicas que removem a parte orgânica do material (XU *et al.*, 2019; AMID *et al.*, 2020).

Em relação a biocompatibilidade, esses materiais permanecem presentes no organismo durante anos sem ser reabsorvidos, o que favorece ao desenvolvimento de processos inflamatórios. Tal fato é observado histologicamente pela presença de células gigantes multinucleadas (CGMNs), que surgem de macrófagos e monócitos via fusão celular, sendo conhecidas como o estágio final da diferenciação dos macrófagos (BARBECK *et al.*, 2014). Essas reações inflamatórias induzidas pelo material, demonstradas pela presença desses tipos celulares, tem sido um aspecto importante na seleção do biomaterial nos procedimentos reconstrutivos associados a enxertos xenógenos (KAČAREVIĆ *et al.*, 2018).

Dessa forma, deve-se observar o material de acordo com a temperatura de sinterização na sua fabricação e avaliar esse processo no hospedeiro. A literatura é vasta em relação a alterações físico-químicas desses materiais. Todavia, não foi observada ênfase nos trabalhos sobre o ponto de vista biológico e, especialmente, na avaliação histológica sobre reação de inflamação crônica em biomateriais amplamente utilizados no mercado, o que justifica a presente pesquisa.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar a influência da temperatura de sinterização de osso bovino desmineralizado na resposta inflamatória em tecido subcutâneo de ratos através de uma análise histológica.

### **2.2. Objetivos Específicos**

**2.2.1.** Avaliar a resposta inflamatória dos biomateriais particulados.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Tipo de estudo

Trata-se de estudo experimental pré-clínico, utilizando animais de espécie *Rattus norvegicus*, variação albinus, Holtzman, machos, com idade de 4 a 6 meses, com peso entre 300 a 400 gramas. Segundo informações do Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano, ratos são praticamente idênticos geneticamente, o que permite uma uniformização dos resultados. Além disso, possuem comportamentos similares, sendo possível reproduzir e aplicar neles muitos sintomas humanos. Dessa forma, como critério de inclusão, essa espécie foi selecionada por acreditar na obtenção de resultados mais uniformes e semelhantes à condição humana (LABORATÓRIO DE GENÉTICA DO COMPORTAMENTO, 2023).

#### 3.2. Amostra

Foram utilizados 14 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos jovens, dividido em 05 grupos de acordo com a apresentação comercial de osso particulado, com 14 ratos em cada grupo, com média de peso de 350g (Quadro 1), provenientes do Biotério da Faculdade de Fortaleza – UNIFOR, mantidos em gaiolas plásticas individuais, higienizadas, colocadas em ambiente arejado e iluminado naturalmente, recebendo água *ad libitum* e alimentação constituída de ração comercial balanceada. Previamente ao início do experimento, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (CEEPA – Protocolo nº 3918230921) e aprovado em 22/11/2021.

Quadro 1 - Comparação do peso inicial e pré-eutanásia dos animais

	Peso Inicial	Peso pré-eutanásia
G 1		
1	343g	355g
2	357g	368g
3	329g	343g
4	340g	373g

5	339g	357g
6	340g	357g
7	351g	362g
	Peso Inicial	Peso pré-eutanásia
G 2		
1	349g	430g

2	346g	400g
3	351g	405g
4	353g	418g

5	350g	388g
6	360g	428g
7	337g	397g

Fonte: Autor principal (2023).

### 3.3. Grupos experimentais

Foi realizada a tricotomia dos animais e os mesmos posicionados em decúbito ventral horizontal. Incisões foram feitas no dorso dos animais e os materiais inseridos em um tubo de polietileno estéril, com 5mm de comprimento por 3mm de diâmetro, individualmente em região subcutânea, como ilustrado em Figura 1.

Os animais foram divididos em 5 grupos, com 14 indivíduos cada: G1, com Bio-Oss small; G2, com Cerabone small; G3, com Bonefill small; G4, com Bio-Oss Collagen; e G5, como grupo Controle. Foram distribuídos aleatoriamente em 2 períodos experimentais, 15 dias (n=7) e 45 dias (n=7), sendo o G1 e G4 de materiais de baixa temperatura de sinterização e G2 e G3 de materiais de alta temperatura de sinterização.

### 3.4. Biomateriais

#### 3.4.1. G1: Geitslich Biooss®

Quadro 2 - G1: Geitslich Biooss®

Atributo	Descrição
Origem	Osso bovino.
Composição	Hidroxiapatita
Porosidade	Composição química semelhante ao osso mineral natural, possuindo propriedades osteocondutoras, além de permitir a formação de capilares e tecidos perivasculares e não induzir resposta imunológica local ou sistêmica.

Tamanho médio dos poros	250 µm a 1.000 µm
Temperatura de sinterização	Baixa temperatura (400°C)
Cinética de degradação	Incorporado no processo natural de modelagem e remodelagem. A estrutura altamente porosa oferece muito espaço para angiogênese e osteogênese. A microestrutura da superfície auxilia o excelente crescimento dos osteoblastos que são responsáveis pela formação óssea. Desta forma, as partículas se tornam parte integrante da estrutura do novo osso em formação. A baixa velocidade de conversão em osso próprio (remodelado), estabiliza a estrutura e permite que se mantenha o volume do enxerto a longo prazo.
Tempo de integração	6- 9 meses

Fonte: Catálogo Geitslich Biooss®

### 3.4.2. G2: Straumann Cerabone® (Botiss Biomaterials, Alemanha)

Quadro 3 - G2: Straumann Cerabone®

Atributo	Descrição
Origem	Ossos bovinos esponjosos de gado da Nova Zelândia.
Composição	Fosfato de cálcio (hidroxiapatita 100% pura, fase mineral)
Porosidade	65- 80%
Tamanho médio dos poros	600- 900 µm
Temperatura de sinterização	Alta temperatura (1200°C)

Cinética de degradação	Degradação superficial muito lenta das partículas, integração óssea das partículas na matriz óssea recém-formada.
Tempo de integração	6- 9 meses

Fonte: Catalogo Straumann Cerabone®

### 3.4.3. G3: Bionnovation Biomedical Bonefill®

Quadro 4 - G3: Bionnovation Biomedical Bonefill®

Atributo	Descrição
Origem	Mineral ósseo natural retirado do osso de fêmur bovino
Composição	Estrutura mineral do osso de fêmur bovino.
Porosidade	65-80%
Tamanho médio dos poros	100-600 µm
Temperatura de sinterização	Alta temperatura (1200°C)
Cinética de degradação	Incorpora-se ao leito receptor através de um mecanismo de consolidação óssea, comparável aos princípios biológicos das consolidações de fratura obtidos pela formação de osso novo interligado na interface osso receptor/implante.
Tempo de integração	6- 9 meses

Fonte: Bionnovation Biomedical Bonefill®

### 3.4.4. G4: Geitslich Biooss Collagen®

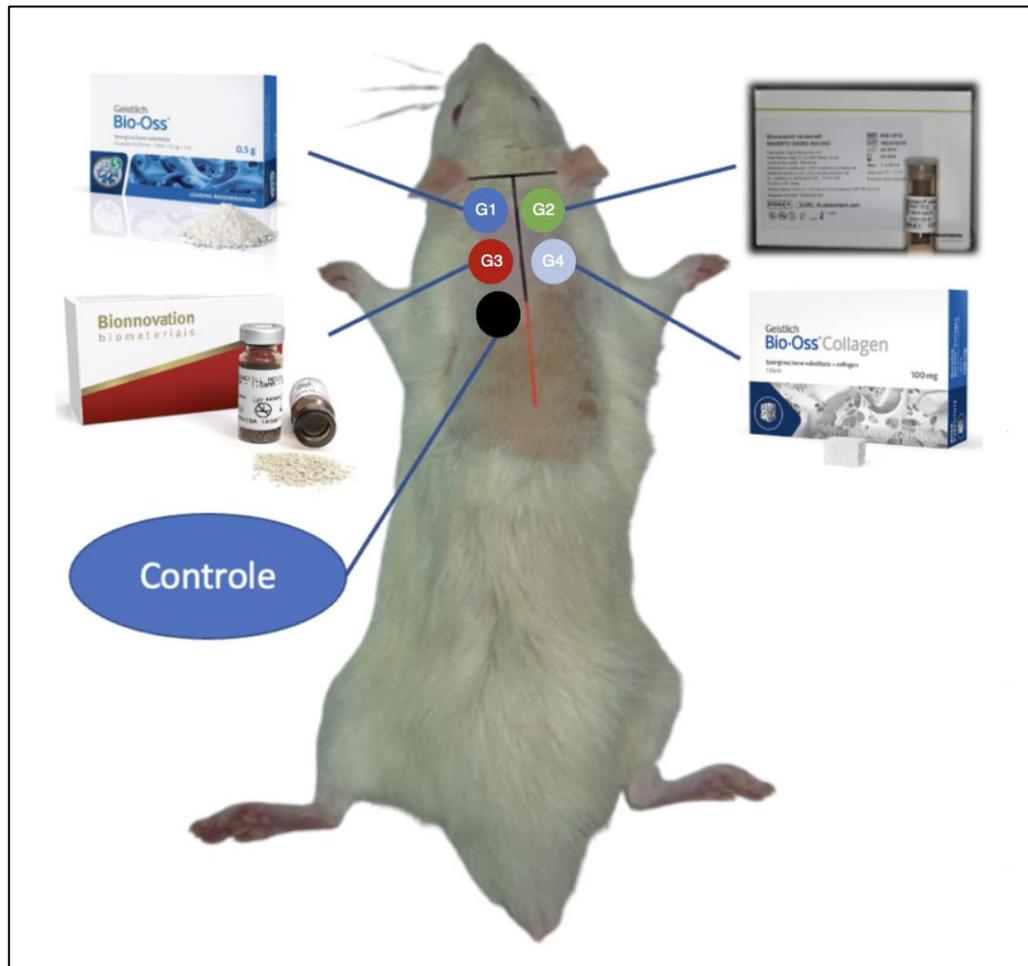
Quadro 5 - G4: Geitslich Biooss Collagen®

Atributo	Descrição
----------	-----------

Origem	Osso bovino e colágeno suíno
Composição	Hidroxiapatita (90% Bio-Oss grânulos pequenos e 10% de colágeno suíno).
Porosidade	Composição química semelhante ao osso mineral natural, possuindo propriedades osteocondutoras, além de permitir a formação de capilares e tecidos perivasculares e não induzir resposta imunológica local ou sistêmica.
Tamanho médio dos poros	250 µm a 1.000 µm
Temperatura de sinterização	Baixa temperatura (400°C)
Cinética de degradação	Incorporado no processo natural de modelagem e remodelagem. A estrutura altamente porosa oferece muito espaço para angiogênese e osteogênese. A microestrutura da superfície auxilia o excelente crescimento dos osteoblastos que são responsáveis pela formação óssea. Desta forma, as partículas se tornam parte integrante da estrutura do novo osso em formação. A baixa velocidade de conversão em osso próprio (remodelado), estabiliza a estrutura e permite que se mantenha o volume do enxerto a longo prazo. A quantidade reduzida de colágeno melhora as propriedades de manuseio e o substituto ósseo promove a formação óssea eficiente e confiável.
Tempo de integração	6- 9 meses

Fonte: Catálogo Geitslich Biooss Collagen®

Figura 1 - Desenho esquemático da distribuição dos grupos de biomateriais no dorso do animal.



Fonte: Autor principal (2023).

### 3.5. Períodos experimentais

Os animais foram divididos em dois períodos experimentais, sendo um de 15 dias (n=7) e o outro de 45 dias (n=7).

### 3.6. Anestesia dos Animais

Os animais foram pré-anestesiados com cloridrato de ketamina na dose de 25 mg/Kg IM na face posterior da coxa. Após um período de latência de 2 a 5 minutos, a anestesia foi complementada com a associação do cloridrato de ketamina com cloridrato de xilazina, relaxante muscular, analgésico e sedativo, na dose de 25 mg/Kg para 10 mg/Kg IM, respectivamente. O tempo de trabalho para cada animal foi de aproximadamente 40 minutos.

A conduta anestésica seguiu a tabela peso/dosagem estabelecida pelo Biotério da FOB-USP (ANEXO 1).

### **3.7. Cirurgia**

Após a pesagem e anestesia foi realizado a tricotomia da região dorsal dos animais e feita a antissepsia com álcool iodado a 1%. Os biomateriais foram inseridos em dispositivos de plástico para que não se perdesse ao longo do tecido subcutâneo. Foram realizadas cinco incisões longitudinais de 2cm, cada com bisturi n° 15. O tecido cutâneo foi pinçado e com o auxílio de uma pinça mosquito foi realizada uma pequena divulsão, facilitando a inserção de cada dispositivo contendo biomaterial. Depois foram realizadas as suturas com fio de nylon 5.0 (Techsuture, Baurú).

Com isso, obtiveram-se cinco lojas cirúrgicas. Sendo umas que em uma dessas lojas não foi inserido material afim de ter um grupo controle. Tomou-se cuidado para não deixar os biomateriais próximos da incisão, evitando assim a sua expulsão ou mobilidade. As suturas foram removidas após 10 dias sem anestesia afim de evitar qualquer viés nos resultados. Para distinguir os ratos foram feitas marcações nas caudas. Cada rato ficou com 5 corpos de prova. Os ratos foram colocados em gaiolas individuais após os procedimentos cirúrgicos. Não houve sinais de infecção pós-operatória ou morte dos animais.

### **3.8. Processamento Histológico**

Os animais foram eutanasiados por overdose anestésica no período de 15 e 45 dias após o procedimento cirúrgico. As amostras do tecido mole foram removidas em bloco e fixadas em 4% de Paraformoldeído durante 48 horas. Após esse período, as amostras foram lavadas e mantidas em EDTA 7% por 60 dias, com trocas de solução a cada 48 horas. As amostras então foram processadas para inclusão em parafina. Foram obtidos cortes histológicos com 5µm de espessura que foram corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina. Foram avaliados 2 cortes por amostra por um examinador cego no aumento de 100x e 200x e 400x de magnificação.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Grupo 1

As partículas de osso bovino desproteinizado se integraram aos tecidos de forma extremamente harmônica, sendo inclusive possível observar presença de células gigantes multinucleadas, sugerindo processo de remodelação das partículas desse biomaterial. Apesar disso não foi observado a presença de vasos sanguíneos em abundância nem de um processo inflamatório exuberante em nenhum dos períodos experimentais. O tecido conjuntivo ao redor das partículas do osso bovino desproteinizado se encontraram organizados, e com reduzidos focos de infiltrado inflamatórios. As partículas do material encontravam-se com algumas lacunas em suas margens, porém, sua estrutura interna estava íntegra. Esse aspecto tecidual demonstra uma boa biocompatibilidade desse material com os tecidos do hospedeiro. Reações de rejeição ou de corpo estranho não foram observadas nesse grupo (Figuras 2 e 3).

Figura 2 - G1 no período de 15 dias



Figura 3 - G1 no período de 45 dias



Fonte: Universidade Federal de Uberlândia (2023).

### 4.2. Grupo 2

Foi observado nesse grupo um infiltrado inflamatório moderado no período de 15 dias, associado a presença de vasos sanguíneos e tecido conjuntivo ao redor das partículas em fase de organização, sendo possível observar com clareza os feixes de fibras colágenas. No período de 45 dias foi observado uma redução do infiltrado inflamatório e de vasos sanguíneos, além de uma melhor organização do tecido conjuntivo ao redor das partículas

desse material. Esse aspecto tecidual demonstra uma boa biocompatibilidade desse material com os tecidos do hospedeiro. Reações de rejeição ou de corpo estranho não foram observados nesse grupo (Figuras 4 e 5).

Figura 4 - G2 no período de 15 dias

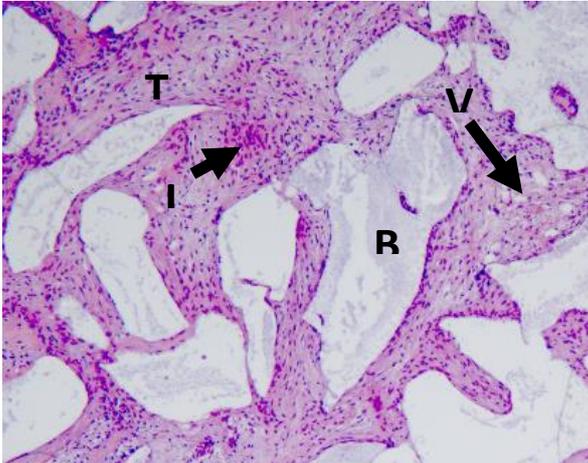
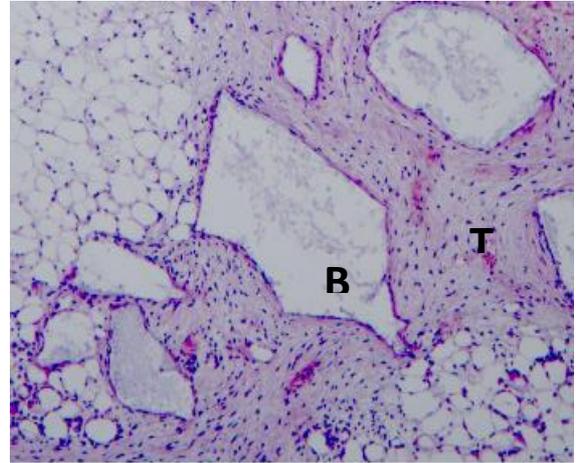


Figura 5 - G2 no período de 45 dias



Fonte: Universidade Federal de Uberlândia (2023).

### 4.3. Grupo 3

Nesse grupo foi observado, em ambos os períodos, exuberante infiltrado inflamatório associado as partículas do material. Esse infiltrado estava acompanhado da presença de vasos sanguíneos e de uma matriz de tecido conjuntivo desorganizado, sem observação de fibras colágenas associadas as partículas desse material. De todos os grupos esse foi o que apresentou o padrão tecidual menos interessante (Figuras 6 e 7).

Figura 6 - G3 no período de 15 dias

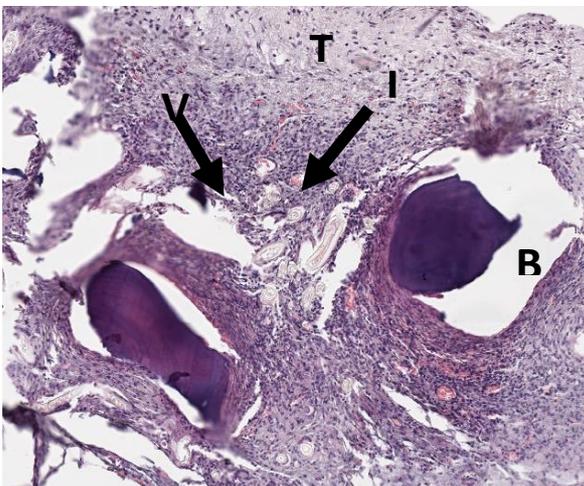
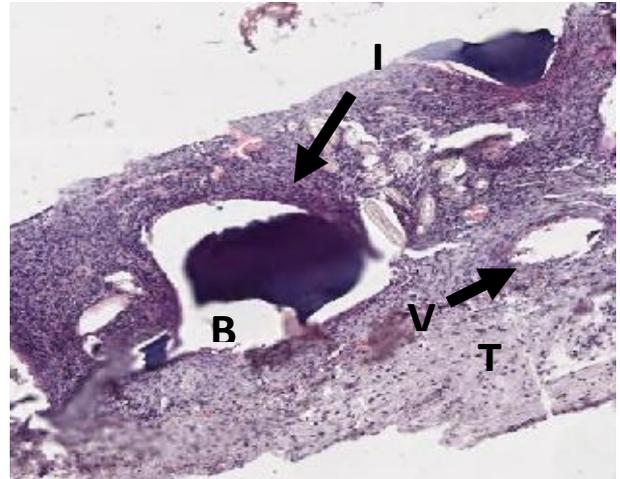


Figura 7 - G3 no período de 45 dias



Fonte: Universidade Federal de Uberlândia (2023).

#### 4.4. Grupo 4

Foi observado nesse grupo que as partículas de osso bovino desproteinizado se apresentaram com fraturas em ambos os períodos de avaliação. Entretanto, o tecido que circunscrevia essas partículas estava bem organizado e com ausência de infiltrado inflamatório exuberante. Esse aspecto tecidual demonstra uma boa biocompatibilidade desse material com os tecidos do hospedeiro. Também foi possível observar vasos sanguíneos nas proximidades das partículas, especialmente no período de 15 dias. Porém, de forma interessante, a angiogênese não esteve associada a eventos inflamatórios. Reações de rejeição ou de corpo estranho não foram observados nesse grupo (Figuras 8 e 9).

Figura 8 - G4 no período de 15 dias

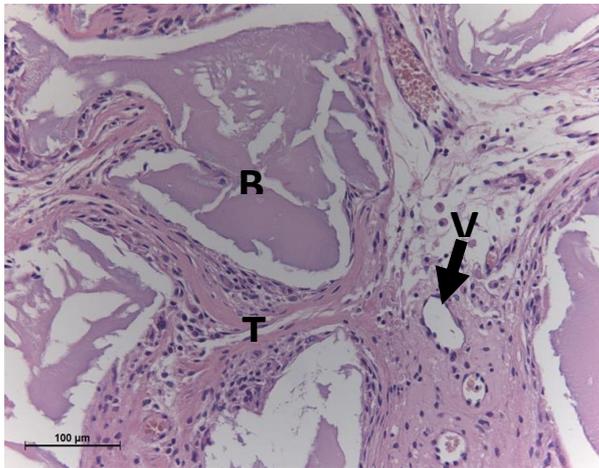
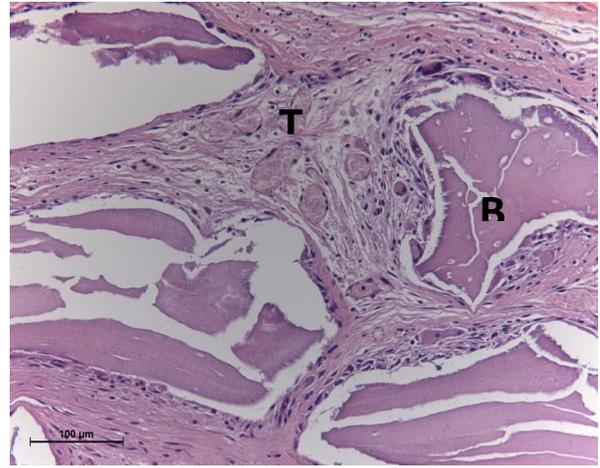


Figura 9 - G4 no período de 45 dias

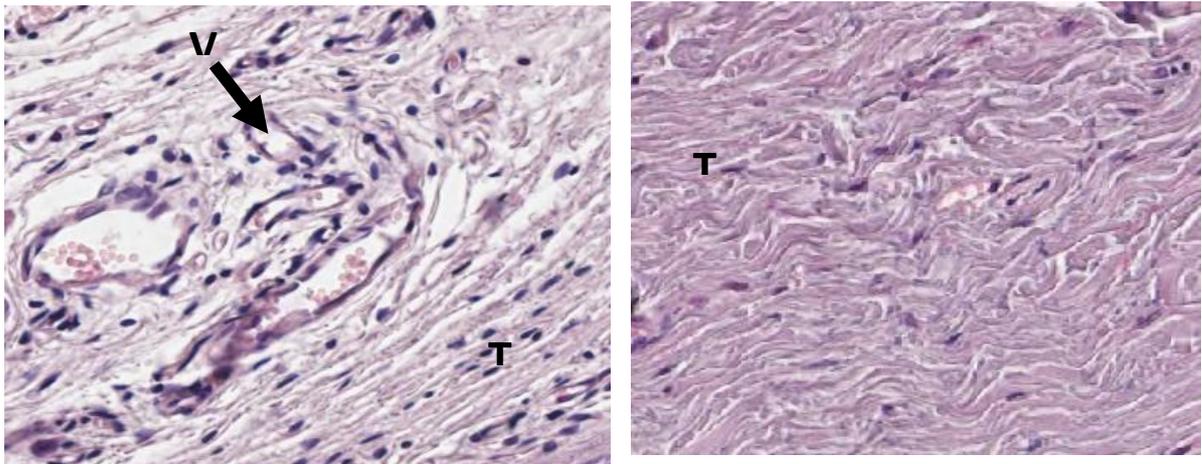


Fonte: Universidade Federal de Uberlândia (2023).

#### 4.5. Grupo 5

Foi observado nesse grupo uma boa organização da matriz de tecido conjuntivo associado a presença abundante de vasos sanguíneos no período de 15 dias. No período de 45 dias o tecido conjuntivo estava com matriz organizada, redução da celularidade e de vasos sanguíneos (Figuras 10 e 11).

Figura 10 - G5 (controle) período de 15 dias    Figura 11 - G5 (controle) período de 45 dias



Fonte: Universidade Federal de Uberlândia (2023).

É possível observar diferenças entre os materiais, sendo que o Bio Oss e o Bio Oss Collagen tiveram padrão de relação com tecido conjuntivo de forma harmônica, com reduzido infiltrado inflamatório e bom grau de maturação de tecido conjuntivo. O Cerabone também apresentou boa relação com a matriz de tecido conjuntivo, porém no período de 15 dias foi observado focos de infiltrado inflamatório associado com suas partículas. Por sua vez, no grupo Bonefill foi observado abundante infiltrado inflamatório que esteve associado a presença de vasos sanguíneos e de uma matriz de tecido conjuntivo desorganizado sem observação de fibras colágenas associadas as partículas desse material. De todos os grupos esse foi o que apresentou o padrão tecidual menos interessante.

Legenda: B – Biomaterial, II- Infiltrado inflamatório, TC – Tecido conjuntivo, VS – Vaso sanguíneo.

## 5. DISCUSSÃO

O desenvolvimento de novos biomateriais para reconstruções teciduais exige um profundo entendimento das respostas biológicas do hospedeiro aos materiais utilizados. Após a implantação desse biomaterial, uma série de eventos ocorre para a formação de Células Gigantes de Corpo Estranho (CGCE) na interface biomaterial-tecido. Contudo, a resposta celular e tecidual vai depender da natureza desses compostos inseridos. Essas CGCEs podem permanecer na superfície dos materiais durante todo o tempo de vida útil do implante (SHEIKH *et al.*, 2015).

Segundo Sheikh *et al.*, (2015), as respostas dos macrófagos aos biomateriais particulados estão diretamente relacionadas ao tamanho médio das partículas. Biomateriais com partículas menores que um macrófago mononuclear (10  $\mu\text{m}$  de diâmetro) são facilmente digeridos por meio de fagocitose. Partículas maiores (entre 10  $\mu\text{m}$  e várias centenas de micrômetros de diâmetro) não podem ser fagocitadas pelos macrófagos, sendo absorvidas pelas Células Gigantes Multinucleadas (CGM) ou CGCEs.

Percebe-se então que biomateriais reabsorvíveis são degradados por fagocitose ou erodidos via reabsorção extracelular, com ou sem o envolvimento de CGCEs. Dessa forma, qualquer processo inflamatório associado é solucionado após a reabsorção total desses biomateriais. No que tange aos biomateriais não reabsorvíveis, a degradação não acontece. Todavia, os macrófagos continuam se infiltrando, na tentativa de fagocitar as partículas ou para se fundirem em CGCEs e se fixar na superfície dos biomateriais inseridos. O biomaterial deve guiar a migração celular para a adesão ao implante e proporcionar um ambiente biomimético para garantir a sobrevivência celular (SHEIKH *et al.*, 2015).

Em todos os biomateriais da atual pesquisa foram encontradas, dentro do infiltrado inflamatório, células gigantes multinucleadas, o que já realmente era esperado, conforme já relatado na literatura, porém com variação na quantidade, estando em maior proporção no G3, seguido pelo G2, demonstrando assim que esses materiais podem causar uma maior reação inflamatória com conseqüente prejuízo para a formação óssea.

Outro fator muito importante para o processo de regeneração óssea guiada é o suprimento sanguíneo, por intermédio do qual é possível fornecer elementos nutricionais, oxigênio, células imunológicas, células-tronco mesenquimais e fatores de crescimento para a região do enxerto. Esse suprimento sanguíneo é realizado através da angiogênese que ocorre a partir da rede vascular pré-existente nos tecidos moles e supraperiosteais, ligando o biomaterial aos tecidos circundantes do hospedeiro. Quando se utiliza enxertos autógenos,

consegue-se uma maior indução a neoformação vascular, sendo que, entre enxertos ósseos xenógenos e aloplásticos, a Hidroxiapatita (HA) e o Fosfato de Cálcio têm melhores efeitos pró-angiogênicos (SAGHIRI *et al.*, 2016). No presente estudo, foi observada histologicamente a formação de vasos sanguíneos sem estar associadas a eventos inflamatórios nos biomateriais G1, G2 e G4, o que não ocorreu no biomaterial G3, onde a formação desses vasos estava associada a um denso infiltrado inflamatório.

Em relação aos materiais utilizados na ROG, o enxerto mineralizado desproteínizado derivado de bovinos é uma alternativa excelente aos autógenos, possuindo diferentes processos de fabricação, gerando propriedades físico-químicas variadas e influenciando os efeitos biológicos subsequentes. Dentre esses processos, a temperatura de sinterização se destaca, consistindo na remoção de toda a matéria orgânica através do tratamento térmico, mas modificando características cruciais do material que irão alterar sua osteocondução, tais com a cristalinidade, tamanho de partículas, porosidade e topografia.

Com objetivo de estudar esses fatores Xu *et al.*, (2019) realizaram uma pesquisa em defeitos críticos em calotas cranianas de coelhos, dividindo em 3 grupos os biomateriais com temperaturas diferentes sendo o grupo 1 com temperatura de 300°C (baixas temperaturas), o grupo 2 com 650°C (médias temperaturas) e grupo 3 com 1000°C (altas temperaturas), comparando-os com o Bio-Oss, que é tratado com uma forte solução alcalina e um processo de cozimento gradual até 300°C, concluindo que a sinterização a 300°C por 3 horas, com uma adição de 530° por 6 horas, potencializam a formação óssea na regeneração. Os materiais usados na presente pesquisa foram divididos pela classificação quanto a temperatura de sinterização em baixas temperaturas o G1 e G4 e em altas temperaturas de sinterização os G2 e G3, concordando com o estudo de Xu *et al.*, (2019), apresentando resultados mais interessantes em relação à formação óssea nos biomateriais de baixa temperatura de sinterização.

Conforme estudo experimental realizado por Zambuzzi *et al.*, (2005), a implantação de osso xenógeno com baixa temperatura de sinterização (100°C) em tecido subcutâneo de ratos, inserido em uma cápsula de colágeno, resultou em uma resposta histológica instigante. Após 10 dias da cirurgia, observou-se a presença de um infiltrado inflamatório do tipo granulomatoso, rico em células gigantes multinucleadas (CGMs), porém sem a presença de linfócitos ou plasmócitos. Esse padrão era semelhante ao observado em aloenxertos mineralizados implantados no tecido subcutâneo de ratos. À medida que o período experimental avançava, houve uma diminuição significativa do infiltrado inflamatório inicial, ao mesmo tempo em que ocorria um aumento notável na formação de tecido fibroso ao redor

das partículas implantadas. Essa resposta foi semelhante à observada quando aloenxertos mineralizados foram inseridos no mesmo tecido. Além disso, o estudo não identificou nenhuma resposta imune adversa, sugerindo que o material de enxerto foi biocompatível, corroborando com a presente pesquisa, onde os G1 e G4 apresentaram resultados histológicos compatíveis, devido à baixa temperatura de sinterização (400°C).

## **6. CONCLUSÃO**

O processo de sinterização dos biomateriais xenógenos em altas temperaturas interfere negativamente na modulação da resposta inflamatória.

## REFERÊNCIAS

- AL-QABBANI, A.; AL-KAWAS, S.; ENEZEI, H.; RAZAK, N. H. A.; AL-BAYATTI, S. W.; SAMSUDIN, A. R.; HAMID, S. A. B. Biomechanical and radiological assessment of immediate implants for alveolar ridge preservation. **Dent Res J (Isfahan)**, v. 15, n. 6, p. 420-429, 2018.
- ALUDDEN, H. C.; MORDENFELD, A.; HALLMAN, M.; DAHLIN, C.; JENSEN, T. Lateral ridge augmentation with Bio-Oss alone or Bio-Oss mixed with particulate autogenous bone graft: a systematic review. **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 46, n. 8, p. 1030-1038, 2017.
- AMID, R.; KHEIRI, A.; KHEIRI, L.; KADKHODAZADEH, M.; EKHLASMANDKERMANI, M. Structural and chemical features of xenograft bone substitutes: A systematic review of in vitro studies. **Biotechnol Appl Biochem**, v. 68, n. 6, p. 1432-1452, 2021.
- ANDREOLLO, N. A.; SANTOS, E. F.; ARAÚJO, M. R.; LOPES, L. R. Rat's age versus human's age: what is the relationship? **Arq Bras Cir Dig**, v. 25, n. 1, p. 49-51, 2012.
- ARAÚJO, M. G.; DA-SILVA, J. C. C.; DE-MENDONÇA, A. F.; LINDHE, J. Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. **Clin Oral Implants Res**, v. 26, n. 4, p. 407-412, 2015.
- ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. **J Clin Periodontol**, v. 32, n. 2, p. 212-8, 2005.
- ARAÚJO, M. G.; SUKEKAVA, F.; WENNSTRÖM, J. L.; LINDHE, J. Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. **Clin Oral Implants Res**, v. 17, n. 6, p. 615-24, 2006.
- ATIEH, M. A.; ALSABEEHA, N. H.; PAYNE, A. G.; DUNCAN, W.; FAGGION, C. M.; ESPOSITO, M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 28, n. 5, p. CD010176, 2015.
- BARBECK, M.; UDEABOR, S.; LORENZ, J.; SCHLEE, M.; HOLTHAUS, M. G.; RAETSCHO, N.; CHOUKROUN, J.; SADER, R.; KIRKPATRICK, C. J.; GHANAATI, S. High-Temperature Sintering of Xenogeneic Bone Substitutes Leads to Increased Multinucleated Giant Cell Formation: In Vivo and Preliminary Clinical Results. **J Oral Implantol**, v. 41, n. 5, p. e212-22, 2015.
- CALASANS-MAIA, M. D.; MELO, B. R.; ALVES, A. T.; RESENDE, R. F.; LOURO, R. S.; SARTORETTO, S. C.; GRANJEIRO, J. M.; ALVES, G. G. Cytocompatibility and biocompatibility of nanostructured carbonated hydroxyapatite spheres for bone repair. **J Appl Oral Sci**, v. 23, n. 6, p. 599-608, 2015.
- CHEN, S. T.; BUSER, D. Clinical and esthetic outcomes of implants placed in postextraction sites. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v. 24, n. (esp), p. 186-217, 2009.

CHEN, S. T.; BUSER, D. Esthetic outcomes following immediate and early implant placement in the anterior maxilla--a systematic review. **Int J Oral Maxillofac Implants.**, v. 29, n. (esp), p. 186-215, 2014.

COUSO-QUEIRUGA, E.; STUHR, S.; TATTAN, M.; CHAMBRONE, L.; AVILA-ORTIZ, G. Post-extraction dimensional changes: A systematic review and meta-analysis. **J Clin Periodontol.**, v. 48, n. 1, p. 126-144, 2021.

ELGALI, I.; OMAR, O.; DAHLIN, C.; THOMSEN, P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. **Eur J Oral Sci.**, v. 125, n. 5, p. 315-337, 2017.

FICKL, S.; ZUHR, O.; WACHTEL, H.; STAPPERT, C. F. J.; STEIN, J. M.; HURZELER, M. B. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. **J Clin Periodontol**, v. 35, n. (esp), p. 906–913, 2008.

GHANAATI, S.; ORTH, C.; BARBECK, M.; WILLERSHAUSEN, I.; THIMM, B. W.; BOOMS, P.; STÜBINGER, S.; LANDES, C.; SADER, R. A.; KIRKPATRICK, C. J. Histological and histomorphometrical analysis of a silica matrix embedded nanocrystalline hydroxyapatite bone substitute using the subcutaneous implantation model in Wistar rats. **Biomed Mater.**, v. 5, n. 3, p. 35005, 2010.

HÄMMERLE, C. H.; ARAÚJO, M. G.; SIMION, M. Evidence-based knowledge on the biology and treatment of extraction sockets. **Clin Oral Implants Res.**, v. 23, n. 5, p. 80-2, 2012.

KAČAREVIĆ, Z. P.; KAVEHEI, F.; HOUSHMAND, A.; FRANKE, J.; SMEETS, R.; RIMASHEVSKIY, D.; WENISCH, S.; SCHNETTLER, R.; JUNG, O.; BARBECK, M. Purification processes of xenogeneic bone substitutes and their impact on tissue reactions and regeneration. **Int J Artif Organs.**, v. 41, n. 11, p. 789-800, 2018.

LABORATÓRIO DE GENÉTICA DO COMPORTAMENTO. **Rato: Modelo de Estudo.** Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, 2023. Disponível em: <<https://geneticacomportamento.ufsc.br/o-laboratorio/rato-modelo-de-estudo/>>. Acesso em 4/12/2023.

LOMBARDI, T.; BERNARDELLO, F.; BERTON, F.; PORRELLI, D.; RAPANI, A.; CAMURRI-PILONI, A.; FIORILLO, L.; DI-LENARDA, R.; STACCHI, C. Efficacy of Alveolar Ridge Preservation after Maxillary Molar Extraction in Reducing Crestal Bone Resorption and Sinus Pneumatization: A Multicenter Prospective Case-Control Study. **Biomed Res Int.**, v. 4, n. (esp), p. 9352130, 2018.

MAJZOUB, J.; RAVIDA, A.; STARCH-JENSEN, T.; TATTAN, M.; SUÁREZ-LÓPEZ D. A. F. The Influence of Different Grafting Materials on Alveolar Ridge Preservation: a Systematic Review. **J Oral Maxillofac Res.**, v. 10, n. 3, p. e6, 2019.

MEIJNDERT, L.; RAGHOEBAR, G. M.; SCHÜPBACH, P.; MEIJER, H. J.; VISSINK, A. Bone quality at the implant site after reconstruction of a local defect of the maxillary anterior ridge with chin bone or deproteinised cancellous bovine bone. **Int J Oral Maxillofac Surg.**, v. 34, n. 8, p. 877-84, 2005.

MELONI, S. M.; JOVANOVIC, S. A.; URBAN, I.; BALDONI, E.; PISANO, M.; TALLARICO, M. Horizontal ridge augmentation using GBR with a native collagen membrane and 1:1 ratio of particulate xenograft and autologous bone: A 3-year after final loading prospective clinical study. **Clin Implant Dent Relat Res.**, v. 21, n. 4, p. 669-677, 2019.

MENDOZA-AZPUR, G.; FUENTE, A. D. L.; CHAVEZ, E.; VALDIVIA, E.; KHOULY, I. Horizontal ridge augmentation with guided bone regeneration using particulate xenogenic bone substitutes with or without autogenous block grafts: A randomized controlled trial. **Clin Implant Dent Relat Res.**, v. 21, n. 4, p. 521-530, 2019.

NAZEER, J.; SINGH, R.; SURI, P.; MOUNESHKUMAR, C. D.; BHARDWAJ, S.; IQUBAL, M. A.; DINESH, M. Evaluation of marginal bone loss around dental implants in cigarette smokers and nonsmokers. A comparative study. **J Family Med Prim Care.**, v. 9, n. 2, p. 729-734, 2020.

NISAR, N.; NILESH, K.; PARKAR, M. I.; PUNDE, P. Extraction socket preservation using a collagen plug combined with platelet-rich plasma (PRP): A comparative clinico-radiographic study. **J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.**, v. 14, n. 2, p. 139-145, 2020.

PERIĆ-KAČAREVIĆ, Z.; KAVEHEI, F.; HOUSHMAND, A.; FRANKE, J.; SMEETS, R.; RIMASHEVSKIY, D.; WENISCH, S.; SCHNETTLER, R.; JUNG, O.; BARBECK, M. Purification processes of xenogeneic bone substitutes and their impact on tissue reactions and regeneration. **Int J Artif Organs.**, v. 41, n. 11, p. 789-800, 2018.

PLONKA, A. B.; SHERIDAN, R. A.; WANG, H. L. Flap Designs for Flap Advancement During Implant Therapy: A Systematic Review. **Implant Dent.**, v. 26, n. 1, p. 145-152, 2017.

PLONKA, A. B.; URBAN, I. A.; WANG, H. L. Decision Tree for Vertical Ridge Augmentation. **Int J Periodontics Restorative Dent.**, v. 38, n. 2, p. 269-275, 2018.

RESENDE, R. F.; FERNANDES, G. V.; SANTOS, S. R.; ROSSI, A. M.; LIMA, I.; GRANJEIRO, J. M.; CALASANS-MAIA, M. D. Long-term biocompatibility evaluation of 0.5 % zinc containing hydroxyapatite in rabbits. **J Mater Sci Mater Med.**, v. 24, n. 6, p. 1455-63, 2013.

SAGHIRI, M. A.; ASATOURIAN, A.; GARCIA-GODOY, F.; SHEIBANI, N. The role of angiogenesis in implant dentistry part II: The effect of bone-grafting and barrier membrane materials on angiogenesis. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.**, v. 21, n. 4, p. e526-37, 2016.

SCHORN, L.; FIENITZ, T.; DE-DONNO, F.; STERNER-KOCK, A.; MAUL, A. C.; HOLTSMANN, H.; LOMMEN, J.; ROTHAMEL, D. Critical-size Defect Augmentation Using Sintered and Non-Sintered Bovine Bone Matrix - An Experimental Controlled Study in Minipigs. **J Oral Maxillofac Surg.**, v. 79, n. 9, p. 1866-1873, 2021.

SHEIKH, Z.; HAMDAN, N.; IKEDA, Y.; GRYNPAS, M.; GANSS, B.; GLOGAUER, M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications: a review. **Biomater Res.**, v. 5, n. 21, p. 9, 2017.

SIMION, M.; FONTANA, F.; RASPERINI, G.; MAIORANA, C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). **Clin Oral Implants Res.**, v. 18, n. 5, p. 620-9, 2007.

SPIN-NETO, R.; DEL-BARRIO, R. A. L.; PEREIRA, L. A.; MARCANTONIO, R. A.; MARCANTONIO, E.; MARCANTONIO, J. R. Clinical similarities and histological diversity comparing fresh frozen onlay bone blocks allografts and autografts in human maxillary reconstruction. **Clin Implant Dent Relat Res.**, v. 15, v. 4, p. 490-7, 2013.

STUMBRAS, A.; KULIESIUS, P.; JANUZIS, G.; JUODZBALYS, G. Alveolar Ridge Preservation after Tooth Extraction Using Different Bone Graft Materials and Autologous Platelet Concentrates: a Systematic Review. **J Oral Maxillofac Res.**, v. 10, n. 1, p. e2, 2019.

TAN, W. L.; WONG, T. L.; WONG, M. C.; LANG, N. P. A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. **Clin Oral Implants Res.**, v. 23, n. 5, p. 1-21, 2012.

TOLSTUNOV, L.; HAMRICK, J. F. E.; BROUMAND, V.; SHILO, D.; RACHMIEL, A. Bone Augmentation Techniques for Horizontal and Vertical Alveolar Ridge Deficiency in Oral Implantology. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am.**, v. 31, n. (esp), p. 2, p. 163-191, 2019.

TRAJKOVSKI, B.; JAUNICH, M.; MÜLLER, W. D.; BEUER F.; ZAFIROPOULOS, G. G.; HOUSHMAND, A. Hydrophilicity, Viscoelastic, and Physicochemical Properties Variations in Dental Bone Grafting Substitutes. **Materials (Basel)**, v. 11, n. 2, p. 215, 2018.

UPPALA, S. Bone loss of the ridge around dental implants after implantation of tricalcium phosphate and platelet-rich plasma: a comparative study. **J Family Med Prim Care**, v. 9, p. 229–234, 2020.

URBAN, I. A.; MONJE, A. Guided Bone Regeneration in Alveolar Bone Reconstruction. **Oral Maxillofac Surg Clin North Am.**, v. 31, n. 2, p. 331-338, 2019.

URBAN, I. A.; MONTERO, E.; MONJE, A.; SANZ-SÁNCHEZ, I. Effectiveness of vertical ridge augmentation interventions: A systematic review and meta-analysis. **J Clin Periodontol.**, v. 46, n. 21, p. 319-339, 2019.

URBAN, I. A.; NAGURSKY, H.; LOZADA, J. L.; NAGY, K. Horizontal ridge augmentation with a collagen membrane and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 25 patients. **Int J Periodontics Restorative Dent.**, v. 33, n. 3, p. 299-307, 2013.

VIGNOLETTI, F.; MATESANZ, P.; RODRIGO, D.; FIGUERO, E.; MARTIN, C.; SANZ, M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. **Clin Oral Implants Res.**, v. 23, n. 5, p. 22-38, 2012.

VON-ARX, T.; BUSER, D. Horizontal ridge augmentation using autogenous block grafts and the guided bone regeneration technique with collagen membranes: a clinical study with 42 patients. **Clin Oral Implants Res.**, v. 17, n. 4, p. 359-66, 2006.

WANG, X.; WANG, G.; ZHAO, X.; FENG, Y.; LIU, H.; LI, F. Short-Term Evaluation of Guided Bone Reconstruction with Titanium Mesh Membranes and CGF Membranes in Immediate Implantation of Anterior Maxillary Tooth. **Biomed Res Int.**, v. 24, n. (esp), p. 4754078, 2021.

XU, A. T.; QI, W. T.; LIN, M. N.; ZHU, Y. H.; HE, F. M. The optimization of sintering treatment on bovine-derived bone grafts for bone regeneration: in vitro and in vivo evaluation. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater.**, v. 108, n. 1, p. 272-281, 2020.

ZAMBUZZI WF, OLIVEIRA RC, ALANIS D, MENEZES R, LETRA A, CESTARI TM, TAGA R, GRANJEIRO JM. Microscopic analysis of porous microgranular bovine anorganic bone implanted in rat subcutaneous tissue. **J Appl Oral Sci.**, v. 13, n. 4, p. 382-6, dez. 2005.

## **ANEXOS**



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITO DE DIFERENTES TIPOS DE BIOMATERIAIS NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA NA REGIÃO SUBCUTÂNEA E NA REPARAÇÃO ÓSSEA EM CALVÁRIA DE RATOS: UM ESTUDO MICROTOMOGRAFICO, HISTOLÓGICO E IMMUNOISTOQUIMICO.", protocolada sob o CEUA nº 3918230921, sob a responsabilidade de **Christiano Sampaio Gouvea** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Fortaleza (CEUA/UNIFOR) na reunião de 22/11/2021.

We certify that the proposal "EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF BIOMATERIALS ON THE INFLAMMATORY RESPONSE IN SUBCUTANEOUS REGION AND BONE REPAIR IN RATS CALVARIA: A STUDY MICROTOMOGRAPHIC, HISTOLOGICAL AND IMMUNOISTOCHEMICAL.", utilizing 56 Heterogenics rats (56 males), protocol number CEUA 3918230921, under the responsibility of **Christiano Sampaio Gouvea** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Fortaleza's University (CEUA/UNIFOR) in the meeting of 11/22/2021.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [11/2021](#) a [10/2022](#) Área: [Medicina Veterinária](#)

Origem:	<a href="#">Não aplicável biotério</a>	sexo:	<a href="#">Machos</a>	idade:	<a href="#">4 a 6 meses</a>	N:	<a href="#">28</a>
Espécie:	<a href="#">Ratos heterogênicos</a>			Peso:	<a href="#">250 a 300 g</a>		
Linhagem:	<a href="#">Rattus norvegicus, albinus, Holtzma</a>						
Origem:	<a href="#">Não aplicável biotério</a>	sexo:	<a href="#">Machos</a>	idade:	<a href="#">4 a 6 meses</a>	N:	<a href="#">28</a>
Espécie:	<a href="#">Ratos heterogênicos</a>			Peso:	<a href="#">350 a 400 g</a>		
Linhagem:	<a href="#">Rattus norvegicus, albinus, Holtzma</a>						

Local do experimento: NUBEX LABORATÓRIO DE IMMUNOISTOQUIMICA

Fortaleza, 22 de novembro de 2021

Prof. Dr. Ramon da Silva Raposo  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade de Fortaleza

Prof. Dr. Saulo Ellery Santos  
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade de Fortaleza