



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

CAMILA CARRILLO FURLAN

**RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND THE
MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL
EXTRACTION IN RATS**

**RELAÇÃO ENTRE O MARCADOR ESCLEROSTINA E A RESPOSTA
MECÂNICA DO OSSO ALVEOLAR PÓS-EXTRAÇÃO DENTAL EM
RATOS**

Piracicaba
2025

CAMILA CARRILLO FURLAN

RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND
THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-
DENTAL EXTRACTION IN RATS

RELAÇÃO ENTRE O MARCADOR ESCLEROSTINA E A
RESPOSTA MECÂNICA DO OSSO ALVEOLAR PÓS-
EXTRAÇÃO DENTAL EM RATOS

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Buco Dental, na Área de Anatomia.

Dissertation presented to the Piracicaba Dental School of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Oral and Dental Biology, in the Area of Anatomy.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Rossi

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA CAMILA CARRILLO FURLAN E ORIENTADA PELA PROF^A. DR^A. ANA CLÁUDIA ROSSI.

Piracicaba
2025

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Marilene Girello - CRB 8-6159

F978r Furlan, Camila Carrillo, 2001-
Relação entre o marcador esclerostina e a resposta mecânica do osso alveolar pós-extração dental em ratos / Camila Carrillo Furlan. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2025.

Orientador: Ana Cláudia Rossi.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP).

1. Ratos. 2. Análise de elementos finitos. I. Rossi, Ana Cláudia, 1988-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP). III. Título.

Informações complementares

Título em outro idioma: Relationship between the sclerostin marker and the mechanical response of alveolar bone post-dental extraction in rats

Palavras-chave em inglês:

Rats

Finite element analysis

Área de concentração: Anatomia

Titulação: Mestra em Biologia Buco-Dental

Banca examinadora:

Ana Cláudia Rossi [Orientador]

Felippe Bevilacqua Prado

Juliana Haddad

Data de defesa: 07-07-2025

Programa de Pós-Graduação: Biologia Buco-Dental

Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

Não se aplica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-3517-277X>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0795266977704445>

PROFA. DRA. ANA CLÁUDIA ROSSI

PROFA. DRA. JULIANA HADDAD

PROF. DR. FELIPPE BEVILACQUA PRADO

A Ata da defesa, assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Emerson e Joselaine, por todo o amor, apoio e presença constante ao longo da minha vida. Obrigada por sempre acreditarem em mim, mesmo quando os caminhos escolhidos pareciam desafiadores. Por me ensinarem, com o exemplo, o valor do esforço, da honestidade e da persistência. Por estarem ao meu lado em cada decisão, respeitando minhas escolhas e celebrando cada pequena conquista.

Essa etapa é resultado de tudo o que aprendi com vocês e do apoio que sempre me deram, sem nunca hesitar.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por Seu amor imenso e incondicional por mim. Por realizar não só as vontades do meu coração, mas também as Dele, que, muitas vezes, se revelam ainda mais perfeitas do que as que eu poderia sonhar. Agradeço por colocar as pessoas certas no meu caminho, por me sustentar nos dias difíceis e me alegrar nas conquistas. Tudo isso é d'Ele, para Ele e por Ele.

Aos meus pais, Emerson e Joselaine, meu alicerce desde sempre, que nunca mediram esforços para me apoiar em cada escolha da minha vida. Em especial, agradeço por me incentivarem a seguir o caminho acadêmico. Obrigada por acreditarem em mim quando tudo ainda era só uma ideia.

Ao meu irmão Tiago, que sempre está ao meu lado, oferecendo apoio, companhia e amor constantemente. Sua presença me fortalece mais do que você imagina.

Ao meu namorado Thiago, que caminha comigo desde antes da graduação. Agradeço por estar ao meu lado em todos os momentos, por me apoiar em cada decisão e por me incentivar a ser melhor, sempre. Sua parceria é uma das maiores bênçãos dessa jornada.

À minha orientadora, Prof. Dra. Ana Cláudia Rossi, que é mais do que uma professora, é uma amiga, um exemplo e um verdadeiro apoio em todos os sentidos. Obrigada por ensinar com paciência, por acreditar no meu potencial e por abrir tantos caminhos ao longo dessa trajetória. Sua presença foi essencial.

Ao Professor Dr. Alexandre, que esteve presente desde o início, compartilhando conhecimento, tirando dúvidas e me ajudando em todas as etapas. Meu sincero agradecimento pela dedicação, pela escuta e por todo o apoio oferecido.

À minha família, que sempre me apoia, torce por mim, reza por minhas escolhas e celebra cada conquista ao meu lado. Vocês são parte fundamental de tudo isso.

Aos meus amigos, que mesmo à distância ou em rotinas diferentes, nunca deixaram de estar presentes com palavras de incentivo, companhia nos momentos certos e apoio incondicional. Ter vocês ao meu redor fazem com que tudo seja mais leve e especial.

Aos amigos da pós-graduação, que viveram comigo cada desafio, cada café no laboratório, cada entrega. Obrigada pela parceria, pelo acolhimento e pelas risadas que tornaram tudo mais leve.

Aos membros da banca avaliadora, meu agradecimento por gentilmente aceitarem o convite, por estarem presentes neste momento tão importante e por contribuírem com sugestões tão valiosas para o aprimoramento deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu Reitor Prof. Paulo Cesar Montagner.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa da sua Diretora Karina Gonzales Silverio.

A todos vocês, meu muito obrigada.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O tecido ósseo passa continuamente por um processo de remodelação para manutenção da homeostase. Na remodelação atuam-se mediadores como a Esclerostina, porém ainda não se sabe completamente como os mecanismos biológicos ósseos atuam frente a variações de cargas mecânicas. **OBJETIVO:** Associar a expressão da esclerostina com as deformações mecânicas no osso alveolar de ratos submetidos à extração dental. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Foram utilizados 24 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), linhagem Wistar, com 2 meses de idade. Ao completarem 2 meses de idade, foi realizada a extração do dente incisivo central superior (lado direito), e a eutanásia ocorreu nos períodos 5 (n=6), 7 (n=6) e 14 (n=6) dias após o dia 0 da exodontia. No grupo controle (n=6), foi mantida a dentição sem extração dental. A eutanásia do grupo controle ocorreu no período de 14 dias após o dia 0 da exodontia. A cabeça de 01 rato por grupo foi submetida à microtomografia computadorizada. Após a reconstrução tridimensional do crânio e da mandíbula do rato em cada grupo, a simulação computacional para análise de elementos finitos foi realizada para simular uma mordida nos incisivos. Na análise de elementos finitos, foram avaliados os padrões de deformação óssea ocorridos após aplicação da força de mordida. Logo após a eutanásia, os ratos de todos os grupos, tiveram sua maxila esquerda removida e separadas ao meio. As peças passaram por processamento histológico de rotina e em seguida, a marcação imunohistoquímica foi realizada para marcação da expressão do anticorpo primário Esclerostina. Os resultados obtidos nas análises das deformações (Strain) foram relacionados com a análise da expressão da esclerostina, proposta neste estudo. O terço médio da lâmina óssea lingual foi analisado tanto na FEA quanto na análise imuno-histoquímica. **RESULTADOS:** A análise realizada pela Análise de Elementos Finitos foi capaz de detectar alterações nos padrões de deformações do osso alveolar frente a uma força mecânica mastigatória entre os grupos controle e experimental. As análises qualitativas por imunohistoquímica da expressão da esclerostina mostrou marcações para esclerostina nas lacunas dos osteócitos e também na região pericelular dos grupos controle e 5 dias. **CONCLUSÃO:** Os achados da presente pesquisa reforçam a hipótese de que a expressão da esclerostina é altamente dependente do contexto biomecânico demonstrado pela FEA.

Palavras-chave: Ratos, Análise de elementos finitos

ABSTRACT

INTRODUCTION: Bone tissue continually undergoes a remodeling process to maintain homeostasis. Mediators such as sclerostin act in remodeling, but it is not yet fully understood how bone biological mechanisms act in response to variations in mechanical loads. **OBJECTIVE:** To associate sclerostin expression with mechanical deformations in the alveolar bone of rats subjected to tooth extraction. **MATERIALS AND METHODS:** Twenty-four male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*), 2 months of age, were used. When they were 2 months old, the upper central incisor tooth (right side) was extracted, and euthanasia occurred at 5 (n=6), 7 (n=6) and 14 (n=6) days after day 0 of tooth extraction. In the control group (n=6), the dentition was maintained without tooth extraction. The euthanasia of the control group occurred 14 days after day 0 of the extraction. The head of 01 rat per group was subjected to microcomputed tomography. After three-dimensional reconstruction of the skull and mandible of the rat in each group, the computational simulation for finite element analysis was performed to simulate a bite on the incisors. In finite element analysis, the patterns of bone deformation that occurred after the application of the bite force were evaluated. Immediately after euthanasia, the rats of all groups had their left maxilla removed and separated in half. The pieces underwent routine histological processing and then immunohistochemical staining was performed to mark the expression of the primary antibody Sclerostin. The results obtained in the deformation analysis (Strain) were related to the analysis of sclerostin expression proposed in this study. The middle third of the lingual bone plate was analyzed both in FEA and immunohistochemical analysis. **RESULTS:** The analysis performed by Finite Element Analysis was able to detect changes in the patterns of deformation of the alveolar bone in the face of a mechanical masticatory force between the control and experimental groups. Qualitative analyses by immunohistochemistry of sclerostin expression showed sclerostin markings in the osteocyte lacunae and also in the pericellular region of the control and 5-day groups. **CONCLUSION:** The findings of the present study reinforce the hypothesis that sclerostin expression is highly dependent on the biomechanical context demonstrated by the FEA.

Key words: Rats, Finite element analysis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 ARTIGO: Relationship between the sclerostin marker and the mechanical response of alveolar bone post-dental extraction in rats	13
3 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26
ANEXOS	28
ANEXO 1: Comprovante de submissão no periódico	28
ANEXO 2: Certificação do Comitê de Ética em Pesquisa	29
ANEXO 3: Comprovante software anti-plágio	31

1. INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é dinâmico e passa continuamente por um processo de remodelação, no qual, células atuam na manutenção da homeostase. Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção e os osteoblastos pela formação do tecido, sendo essa comunicação entre as células regulada por meio de expressão de proteínas (Kim et al., 2020).

O osteócito é uma célula do tecido ósseo conhecida por regular a remodelação óssea, atuando na produção de RANKL e da glicoproteína esclerostina, codificada pelo gene *Sost*, que atua como uma reguladora da formação óssea por meio de seu efeito inibitório na sinalização Wnt, provocando diminuição da atividade osteoblástica e, consequentemente, da formação de osso (Omran et al., 2022; Marahleh et al., 2023). A esclerostina atua, portanto, na homeostase óssea e sua ação na remodelação óssea está diretamente associada à redução da formação óssea. Assim, a deficiência desse marcador ou sua neutralização por meios farmacológicos causam o aumento da formação de osso (Delgado-Calle, 2017).

A formação óssea é regulada pela via Wnt/ β -catenina, na qual proteínas Wnt se ligam a um complexo chamado LRP5/6–Frizzled (Fz), ativando sinais intracelulares que estabilizam a proteína β -catenina. Quando isso ocorre, a β -catenina entra no núcleo dos osteoblastos, estimulando genes que promovem o crescimento e a sobrevivência dessas células, favorecendo a formação óssea. No entanto, quando essa via está inativa, a β -catenina é degradada, impedindo esse processo. A esclerostina, sendo uma proteína inibitória, impede a ativação dessa via ao bloquear a interação entre Wnt e o complexo LRP5/6–Fz, reduzindo a estabilização da β -catenina e, consequentemente, a atividade dos osteoblastos. Dessa forma, a esclerostina desempenha um papel fundamental no equilíbrio do tecido ósseo, controlando a formação óssea e evitando o crescimento excessivo do osso (Clevers, 2006, Shakeri et al., 2020).

Entendendo que a esclerostina é uma proteína que quando expressada, atua inibindo a via formadora de tecido ósseo, um estudo utilizou um anticorpo anti-esclerostina (Scl-Ab) a fim de provocar aumento de volume ósseo, densidade mineral óssea e a altura do osso alveolar após periodontite experimental em ratos (Taut et al., 2013).

Um fator que pode influenciar na homeostase óssea, a fim de impactar maiores atividades celulares de reabsorção ou na formação de tecido ósseo são as diferentes cargas mecânicas aplicadas sobre o osso (Yokota et al., 2011).

Os osteócitos desempenham um papel fundamental na remodelação óssea em resposta às variações das cargas mecânicas. Embora os mecanismos moleculares que regulam a expressão da esclerostina diante de diferentes estímulos mecânicos ainda não estejam

totalmente compreendidos (Galea et al., 2016), já se sabe que essa modulação pode ocorrer a partir de interferências biomecânicas. Robling et al. (2008) demonstraram que a carga mecânica leva à redução da expressão do gene *Sost*/esclerostina nos osteócitos, enquanto a ausência de estímulo mecânico resulta em sua elevação, sugerindo que a esclerostina é um mediador sensível à mecanotransdução óssea (Delgado-Calle, 2017). Assim, regiões ósseas que recebem estímulos mecânicos mais intensos e apresentam maior formação óssea demonstram uma diminuição mais acentuada no número de osteócitos positivos para esclerostina, bem como na intensidade da marcação dessa proteína por célula (Robling et al., 2008).

A imunohistoquímica é uma técnica essencial para detectar a expressão de proteínas específicas, como a esclerostina, permitindo compreender os mecanismos de remodelação óssea mediados pela via Wnt/ β -catenina (Wu et al., 2016).

Sabe-se que a alteração da carga mecânica mastigatória está diretamente relacionada com a estrutura óssea alveolar (Mavropoulos et al., 2010), sendo que a hipofunção mastigatória pode induzir à uma alteração da força de mordida, esta que é responsável por uma manutenção da homeostase óssea (Shimomoto et al., 2007)

O Método dos Elementos Finitos (MEF) é uma abordagem computacional utilizada para analisar o comportamento mecânico de estruturas por meio de simulações. Esse método permite estimar deslocamentos, tensões e deformações em diferentes materiais, sendo satisfatório para a investigação biomecânica do tecido ósseo. Na área da biomecânica craniofacial, o MEF pode atuar como uma ferramenta eficaz para compreender a distribuição de forças e a resposta mecânica do esqueleto, auxiliando em estudos sobre a funcionalidade e adaptação óssea (Richmond et al., 2005, Furlan et al., 2024).

A alteração da carga mecânica mastigatória, por exemplo, como ocorre após a extração de um dente, acarreta em um padrão modificado na mastigação, podendo gerar padrões distintos de deformações mecânicas no osso alveolar, que podem ser identificadas pelo MEF (Ferreira et al., 2020).

A partir do conhecimento da função da proteína esclerostina e da remodelação óssea por alteração de carga mecânica mastigatória, o objetivo deste estudo foi associar a expressão da esclerostina com as deformações mecânicas no osso alveolar de ratos submetidos à extração dental.

2. ARTIGO:

Título: RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION IN RATS

Autores: Camila Carrillo Furlan, Alexandre Rodrigues Freire, Beatriz Carmona Ferreira-Pileggi, Roberta Okamoto, Ana Cláudia Rossi

Artigo submetido ao periódico: *European Journal of Anatomy* (ANEXO 1).

INTRODUCTION

Bone tissue is dynamic and continually participates in a remodeling process, in which cells act to maintain homeostasis. Osteoclasts are responsible for reabsorption and osteoblasts for tissue formation, and this communication between cells is regulated through protein expression (Kim et al., 2020).

The osteocyte is a bone tissue cell known to regulate bone remodeling, acting in the production of RANKL and the glycoprotein sclerostin, encoded by the *Sost* gene, which acts as a regulator of bone formation through its inhibitory effect on Wnt signaling, causing a decrease in osteoblastic activity and, consequently, bone formation (Omran et al., 2022; Marahleh et al., 2023). Sclerostin therefore acts on bone homeostasis and its action on bone remodeling is directly associated with the reduction of bone formation. Thus, the deficiency of this marker or its neutralization by pharmacological means causes increased bone formation (Delgado-Calle, 2017).

Bone formation is regulated by the Wnt/ β -catenin pathway, in which Wnt proteins bind to a complex called LRP5/6–Frizzled (Fz), activating intracellular signals that stabilize the β -catenin protein. When this occurs, β -catenin enters the nucleus of osteoblasts, stimulating genes that promote the growth and survival of these cells, favoring bone formation. However, when this pathway is inactive, β -catenin is degraded, preventing this process. Sclerostin, as an inhibitory protein, prevents the activation of this pathway by blocking the interaction between Wnt and the LRP5/6–Fz complex, reducing the stabilization of β -catenin and, consequently, the activity of osteoblasts. Thus, sclerostin plays a fundamental role in the balance of bone tissue, controlling bone formation and preventing excessive bone growth (Clevers, 2006; Shakeri et al., 2020).

Understanding that sclerostin is a protein that, when expressed, acts by inhibiting the bone tissue-forming pathway, a study used an anti-sclerostin antibody (Scl-Ab) to cause an increase in bone volume, bone mineral density and alveolar bone height after experimental periodontitis in rats (Taut et al., 2013).

One factor that can influence bone homeostasis, to impact greater cellular resorption activities or bone tissue formation, is the different mechanical loads applied to the bone (Yokota et al., 2011).

Osteocytes play a fundamental role in bone remodeling in response to variations in mechanical loads. Although the molecular mechanisms that regulate sclerostin expression in response to different mechanical stimuli are not yet fully understood (Galea et al., 2016), it is already known that this modulation can occur through biomechanical interference. Robling et al. (2008) demonstrated that mechanical load leads to a reduction in Sost/sclerostin gene expression in osteocytes, while the absence of mechanical stimulus results in its elevation, suggesting that sclerostin is a sensitive mediator of bone mechanotransduction (Delgado-Calle, 2017). Thus, bone regions that receive more intense mechanical stimuli and present greater bone formation demonstrate a more pronounced decrease in the number of sclerostin-positive osteocytes, as well as in the intensity of sclerostin labeling per cell (Robling et al., 2008).

Immunohistochemistry is an essential technique for detecting the expression of specific proteins, such as sclerostin, allowing us to understand the mechanisms of bone remodeling mediated by the Wnt/ β -catenin pathway (Wu et al., 2016).

It is known that changes in the mechanical load during mastication are directly related to the alveolar bone structure (Mavropoulos et al., 2010), and that masticatory hypofunction can induce changes in the bite force, which is responsible for maintaining bone homeostasis (Shimomoto et al., 2007).

The Finite Element Method (FEM) is a computational approach used to analyze the mechanical behavior of structures through simulations. This method allows us to estimate displacements, stresses, and deformations in different materials, and is satisfactory for the biomechanical investigation of bone tissue. In the area of craniofacial biomechanics, FEM can act as an effective tool to understand the distribution of forces and the mechanical response of the skeleton, aiding in studies on bone functionality and adaptation (Richmond et al., 2005; Ferreira et al., 2020; Rossi et al., 2021; Furlan et al., 2024).

Changes in the mechanical masticatory load, for example, as occurs after tooth extraction, result in a modified pattern in mastication, which can generate distinct patterns of

mechanical deformations in the alveolar bone, which can be identified by FEM (Ferreira et al., 2020; Rossi et al., 2021).

Based on knowledge of the function of the protein sclerostin and bone remodeling due to changes in the mechanical masticatory load, the aim of this study was associate the expression of sclerostin with mechanical responses in the alveolar bone of rats subjected to dental extraction.

MATERIAL AND METHODS

This study was approved by the Ethics Committee on Animal Experimentation (CEUA) from the Biology Institute (IB) of the University of Campinas (UNICAMP) (protocol number: 4674-1/2017) (ANEXO 2).

Experimental Design

Twenty-four male rats (*Rattus norvegicus albinus*), Wistar lineage, 2 months old (average body weight of 200-250 g) were used, from the Multidisciplinary Center for Biological Research in Science in Laboratory Animals-CEMIB-UNICAMP. They were kept in the animal research house (four animals/box) of the Piracicaba Dental School (FOP-UNICAMP), with a temperature of 22 ± 2 °C, a controlled light cycle (12 h/12 h) and free access to water and food. The rats were divided into four groups, according to the explanation bellow:

Group	Rats per group	Description	Euthanasia
Control	6	Normal dentition	14 days after exodontia of the other groups
Period 1	6	Right upper incisor extracted	5 days after exodontia
Period 2	6	Right upper incisor extracted	7 days after exodontia
Period 3	6	Right upper incisor extracted	14 days after exodontia

Tooth Extraction

The right upper incisor was extracted under sedation via an intraperitoneal injection of 40-87 mg/kg of ketamine hydrochloride (Syntec do Brasil Ltd., Santana do Parnaíba, SP, Brazil) and 5-13 mg/kg of xylazine (Xilazine-Coopers, Brazil, Ltd., Osasco, SP, Brazil) to promote anesthesia and muscle relaxation, respectively. The extraction was performed with the adapted instruments (Okamoto and de Russo, 1973). The gingival fibromucous was then sutured with 4/0 polyglactin 910 (Vicryl), and an injection of ketoprofen (NSAID—5 mg/kg) via subcutaneous, one time, per 1 day was administered.

Euthanasia

Euthanasias were realized with predetermined time points for control and experimental groups (5, 7 and 14 days after exodontia) using an excessive anesthetic dose. The head was separated from the body and dissected to obtain the skull, which was then fixed in a 10% formalin solution with 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) for 24 hours at 4°C.

Microcomputed Tomography Scanning

One sample from the control group and one from the experimental group (14 days post-extraction) were scanned using the Skyscan 1174 microtomograph (Bruker, Belgium). The scanning parameters included a peak voltage of 50 kV and a tube current of 800 μ A, with an image pixel size of 30 μ m. Following the scanning process, the images were imported into the NRecon Reconstruction software (SkyScan, Leuven, Belgium) for grayscale reconstruction in the axial plane, displaying X-ray attenuation coefficients corresponding to mineralized structures.

Laboratory processing for decalcified tissues

After euthanasia, the left maxilla of rats in all experimental groups was removed and sectioned in half. The samples were placed in a 10% formaldehyde solution and subsequently decalcified using 3.14% EDTA (Merck®, EMD Millipore Corporation, Germany). When decalcification was confirmed, the fragments were subjected to histotechnical processing, undergoing the steps of dehydration with selected solutions at different concentrations, diaphanization with xylene, infiltration and embedding in Paraplast® paraffin (Embedding Media, McCormick Scientific, USA). The paraffin blocks formed were then sectioned in a

Lupetec MRP03 microtome (Indústria Tecnológica de Equipamentos para Laboratório LTDA – ME, São Carlos-SP) into 5 μm thick sections and fixed on silanized slides.

Three-Dimensional Model Construction

The images acquired through microtomography were imported into Materialise Mimics Research v. 18 (Materialise, Belgium) for the segmentation of bone structures, periodontal ligament, enamel, dentin, and pulp. The pulp and periodontal ligament were reconstructed based on their respective spaces, allowing the creation of a three-dimensional model. This model was then converted into a finite element mesh through the transformation of 3D surfaces.

Computer Simulation Using Finite Element Analysis (FEA)

The finite element model was imported to Ansys v. 17.2 (Ansys Inc., USA), where the mechanical properties of the anatomical structures were defined, considered linearly elastic and isotropic, with their values experimentally determined in rats based on the studies by Cox and Jeffery and Cox et al. (2012).

To simulate the bite force on the central incisors, both in the control group models (without alterations) and in the experimental group (with the absence of the upper right central incisor), the analysis was configured to represent the phase of maximum masticatory force, corresponding to the breaking of the food, using a value of 24.31 N (Robins, 1977).

To ensure the stability of the skull during the bite simulation, preventing any unwanted movement, displacement restrictions were applied to the nodes of the elements located on the posterior edge of the model.

In finite element analyses, the bone deformation (strain) in the alveolar bone adjacent to the extracted upper incisor in the lingual region of the middle third of the alveolus, occurring after the application of the bite force. The results were obtained by calculating the amount of deformation (equivalent strain).

Immunohistochemistry Analysis

For immunohistochemistry reactions, endogenous peroxidase activity was inhibited with 100v hydrogen peroxide. The slides went through the antigen retrieval step with phosphate citrate buffer (pH 6.0).

The primary antibody used was Anti-Sclerostin antibody - C-terminal - 100ug - Goat - Standard - Applications = IHC-P - Shipped temperature = 4°C; Manufacturer: ABCAM - Ref.: ab194940ug100. The secondary antibody Universal Polymer, biotin-free, anti-Mouse and

Rabbit for use in Immunohistochemistry Peroxidase, with rat tissues N-HISTOFINE® SIMPLE STAIN RAT MAX PO (MULTI) (NICHIREI BIOSCIENCES), and diaminobenzidine (Dako) as chromogen was used.

Images of the slides were captured using a light optical microscope (LeicaR DMLB, Heerbrugg, Switzerland) coupled to the camera.

In the immunohistochemistry analyses, it was analyzed the expression of sclerostin was evaluated qualitatively. The positive markings were evaluated in the lingual alveolar bone in the middle third of the upper left incisor alveolus (Figure 1).

The osteocyte lacunae and pericellular region of the osteocytes that stained with the diaminobenzidine chromogen (brown areas) were considered positive. For that, a 40x objective was used.

Both analyses (finite elements and immunohistochemistry) were directed to the same region to enable comparisons between the results.

RESULTS

Immunohistochemistry Analysis

Qualitatively, the levels of Sclerostin signaled by the areas marked by diaminobenzidine (brown areas) in the lingual bone of the middle third of the alveolus were found increased in the Control and 5-day periods, with the 5-day group being less marked than the control. It was found that this increased intensity of positive Sclerostin staining was concentrated in the osteocyte lacunae and in the pericellular region. Representative sections of each group in the 40x objective (Figure 1).

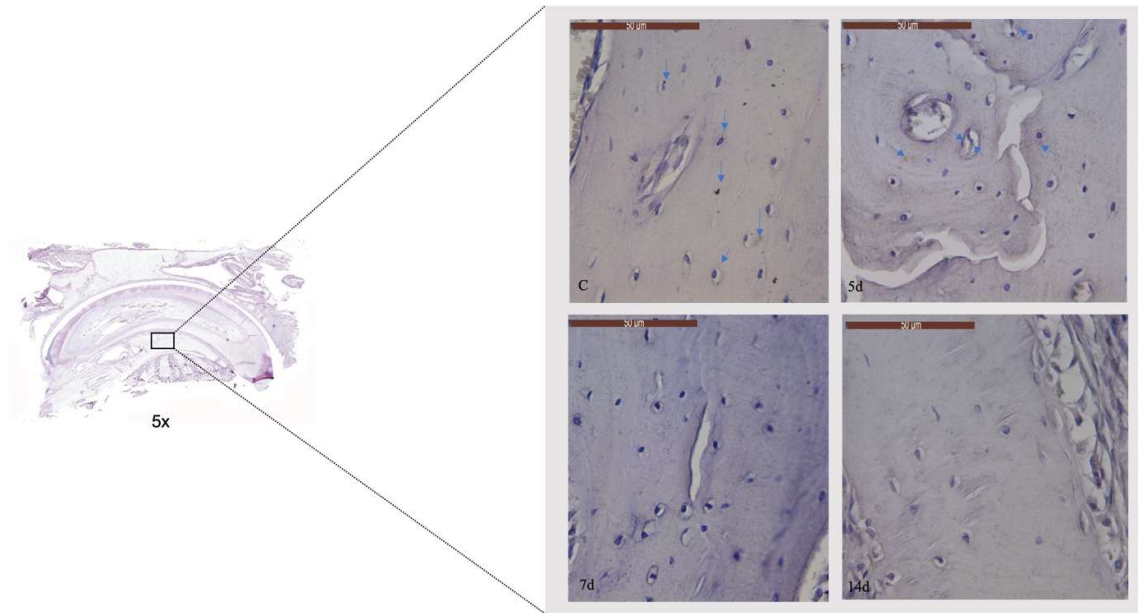


Figure 1. On the left, a representation of the slide with the alveolus and the tooth under the 5x objective highlighting the region of interest evaluated. Representative sections of each group under the 40x objective. The brown areas represent the staining of sclerostin by the chromogen. Counterstain: Hematoxylin. C: Control; 5d: 5 days; 7d: 7 days; 14d: 14 days.

FEA

The results were analyzed considering the location of the areas in which changes in the amount of strain (ϵ) were detected. The analysis of the control group served as a parameter to characterize the normal distribution of the amount of strain during the phase of maximum bite force required for feeding. Therefore, the color scale with the ranges of strain values was standardized based on the values of the control group. A non-uniform distribution of areas with a greater amount of strain can be observed in the control group, with these areas located in all bone laminae in the cervical third of the alveolus (Figure 2).

However, as a region of interest for the study, the middle third of the alveolus has areas with a greater amount of strain in the lingual bone lamina

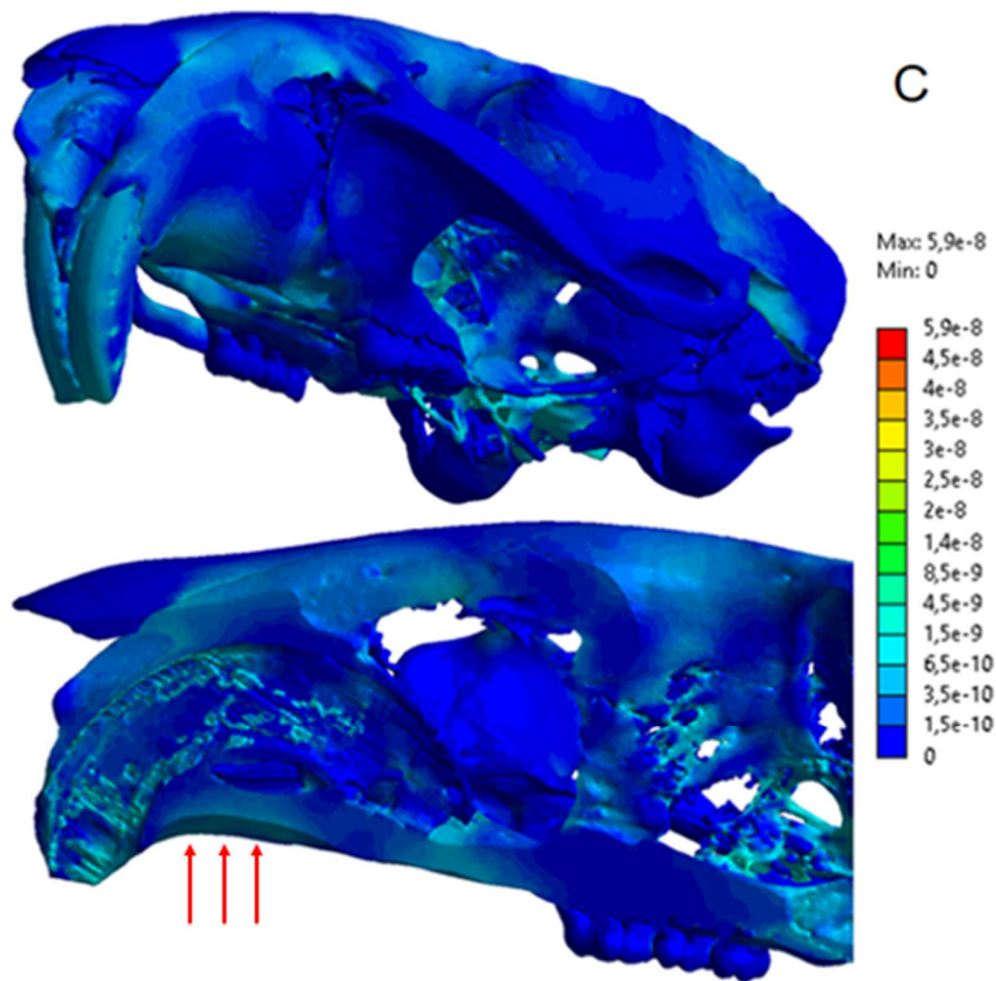


Figure 2. The amount of strain in the alveolar bone of the control group (C), showing the areas of greatest amount of strain inside the alveolus (light blue) in sagittal section. The color scale shows ranges of strain values. In the inferior part, the middle third of the left alveolus can be seen (the tooth was removed for better visualization) with emphasis on the strain in the lingual bone lamina (red arrow). C: Control.

In the experimental group, the action of the bite force resulted in a uniform distribution of the amount of strain, in addition to regions with a low amount of strain differentiating it from the control group (figure 3). The amount of strain in this group was lower in the lingual lamina in the alveolus compared to the control.

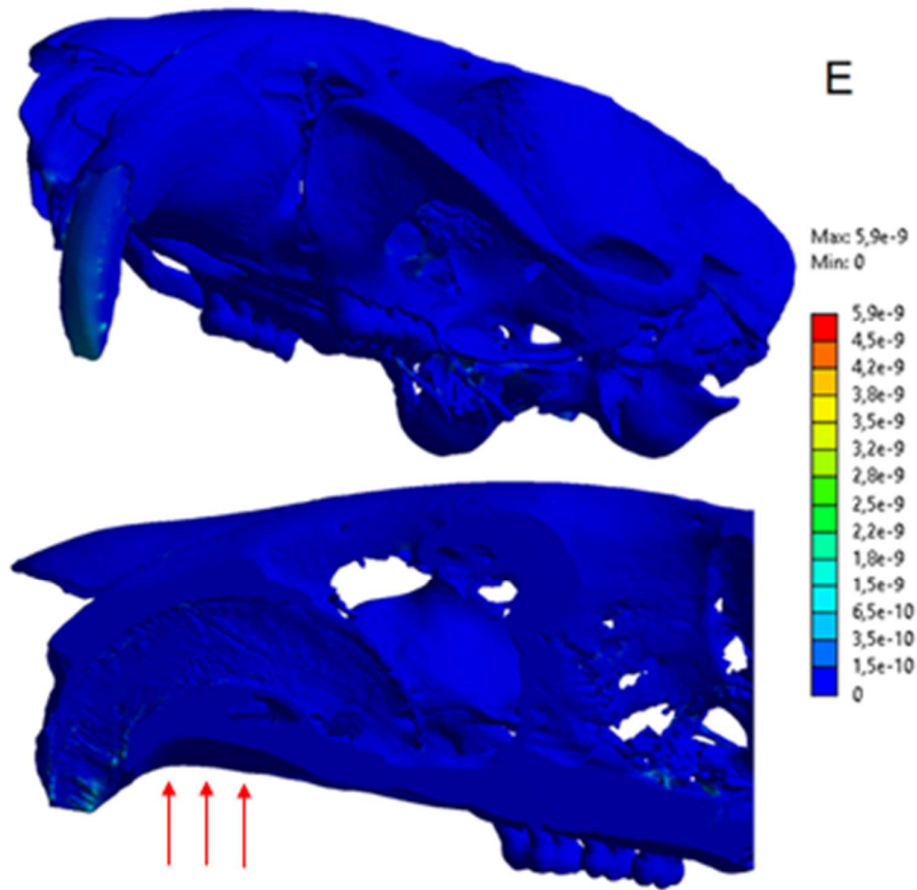


Figure 3. The amount of strain in the alveolar bone of the control group (C), showing the areas of greatest amount of strain inside the alveolus (light blue) in sagittal section. The color scale shows ranges of strain values. In the inferior part, the middle third of the left alveolus can be seen (the tooth was removed for better visualization) with emphasis on the strain in the lingual bone lamina (red arrow). E: Experimental.

DISCUSSION

Sclerostin, a protein secreted mainly by osteocytes, acts as an important negative regulator of the Wnt/ β -catenin pathway, suppressing bone formation by inhibiting β -catenin activation through blocking LRP5/6 co-receptors. Its expression is strongest modulated by mechanical stimulation. It is understood that sclerostin is repressed in regions subjected to mechanical deformation and expressed in greater quantities in areas of reduced stimulation. This function makes sclerostin a key sensor of bone mechanotransduction, linking physical stimulation to the molecular responses that control bone remodeling (Robling et al., 2008).

In the present study, in the control group (animals without dental extraction) was

identified the presence of sclerostin in the pericellular region and osteocyte lacunae of the lingual alveolar bone. This reflects a physiological state of bone homeostasis under stable mechanical deformation, in which there is sufficient basal expression of sclerostin to balance the processes of bone formation and resorption. This data confirms the homeostatic role of the protein under conditions of normal functional loading. In the experimental groups, the redistribution of masticatory forces caused by tooth loss modified the local mechanics of the alveolar bone. Also in the present study, in the 5-day group, several positive sclerostin markings were observed. Since this is a recent period after tooth extraction, it is still understood that the homeostatic role of the protein was maintained. In the study by Ferreira et al., (2020), in which the same experimental condition was simulated in rats (extraction of the upper right incisor and analyses of the lingual alveolar bone on the left side), in the 5-day group, an increase in the expression of β -catenin was observed in specific regions of the lingual bone, which suggests that sclerostin in this initial post-extraction period is already decreasing, induced by new mechanical deformation. This early increase in Wnt signaling is compatible with the osteogenic activation necessary to initiate bone adaptation to the new biomechanical environment, which could be observed in the computational simulation by finite element analysis.

In the present study, sclerostin did not appear in the 7- and 14-day groups. While in the study by Ferreira et al. (2020), β -catenin expression increased again, suggesting a second phase of osteogenic response. This resumption may reflect the progressive restructuring of the masticatory loading pattern, again inducing the suppression of sclerostin and, thus, the activation of the Wnt pathway. This oscillation in β -catenin activity, with peaks on days 5 and 14, indicates that the process of bone adaptation to the new mechanical stimulus is dynamic, with direct involvement of sclerostin regulation over time.

Even without direct measurement, the β -catenin patterns (Ferreira et al., 2020) observed at different periods suggest that sclerostin is actively involved in modulating the adaptive response of alveolar bone after tooth loss. These data are in line with other studies demonstrating that mechanical stimulation suppresses sclerostin and promotes bone formation (Robling et al., 2008; Lin et al., 2009).

CONCLUSION

The findings of the present study reinforce the hypothesis that sclerostin expression is highly dependent on the biomechanical context demonstrated by FEA and that its temporal regulation directly influences sclerostin activation in osteocytes during the bone remodeling process. In addition, they highlight the temporal and spatial complexity of mechanically

induced bone remodeling.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

REFERENCES

1. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*. 2006 Nov 3;127(3):469–80. doi:10.1016/j.cell.2006.10.018.
2. Cox PG, Jeffery N. Reviewing the jaw-closing musculature in squirrels, rats and guinea pigs with contrast-enhanced microCT. *Anat Rec*. 2011;294(6):915–28. doi:10.1002/ar.21381.
3. Cox PG, Rayfield EM, Fagan MJ, Herrel A, Pataky TC, Jeffery N. Functional evolution of the feeding system in rodents. *PLoS One*. 2012;7(4):e36299. doi:10.1371/journal.pone.0036299.
4. Delgado-Calle J, Sato AY, Bellido T. Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone*. 2017 Mar;96:29–37. doi:10.1016/j.bone.2016.10.007.
5. Ferreira BC, Freire AR, Araujo R, do Amaral-Silva GK, Okamoto R, Prado FB, Rossi AC. β -catenin and its relation to alveolar bone mechanical deformation: a study conducted in rats with tooth extraction. *Front Physiol*. 2020 Jun 5;11:549.
6. Furlan CC, Freire AR, Ferreira-Pileggi BC, Watanabe LNO, Botacin PR, Prado FB, Rossi AC. Does ovariectomy affect the mechanics of the mandibular alveolar bone structure of Wistar rats subjected to tooth loss and modified diet? A FEA study. *Biology (Basel)*. 2024 Nov 6;13(11):906. doi:10.3390/biology13110906.
7. Galea GL, Lanyon LE, Price JS. Sclerostin's role in bone's adaptive response to mechanical loading. *Bone*. 2017 Mar;96:38–44. doi:10.1016/j.bone.2016.10.008.
8. Giorgi M, Verbruggen SW, Lacroix D. In silico bone mechanobiology: modeling a multifaceted biological system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2016;8(6):485–505. doi:10.1002/wsbm.1356.
9. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis. *Cells*. 2020 Sep 10;9(9):2073. doi:10.3390/cells9092073.
10. Lara-Castillo N, Kim-Werooha NA, Kamel MA, Javaheri B, Ellies DL, Krumlauf RE, et al. In vivo mechanical loading rapidly activates β -catenin signaling in osteocytes through a prostaglandin mediated mechanism. *Bone*. 2015 Jul;76:58–66.
11. Lin C, Jiang X, Dai Z, Guo X, Weng T, Wang J, Li Y, Feng G, Gao X, He L. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res*. 2009 Oct;24(10):1651–61.

12. Marahleh A, Kitaura H, Ohori F, Noguchi T, Mizoguchi I. The osteocyte and its osteoclastogenic potential. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 May 24;14:1121727. doi:10.3389/fendo.2023.1121727. PMID: 37293482; PMCID: PMC10244721.
13. Mavropoulos A, Odman A, Ammann P, Kiliaridis S. Rehabilitation of masticatory function improves the alveolar bone architecture of the mandible in adult rats. *Bone*. 2010 Sep;47(3):687–92. doi:10.1016/j.bone.2010.06.025.
14. Okamoto T, de Russo MC. Wound healing following tooth extraction: histochemical study in rats. *Rev Fac Odontol Aracatuba*. 1973;2:153–69.
15. Omran A, Atanasova D, Landgren F, Magnusson P. Sclerostin: from molecule to clinical biomarker. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 26;23(9):4751. doi:10.3390/ijms23094751.
16. Richmond BG, Wright BW, Grosse I, Dechow PC, Ross CF, Spencer MA, et al. Finite element analysis in functional morphology. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2005 Apr;283(2):259–74. doi:10.1002/ar.a.20169. .
17. Robins MW. Biting loads generated by the laboratory rat. *Arch Oral Biol*. 1977;22(1):43–47.
18. Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008 Feb 29;283(9):5866–75. doi:10.1074/jbc.M705092200.
19. Rossi AC, Freire AR, Ferreira BC, Faverani LP, Okamoto R, Prado FB. Effects of premature contact in maxillary alveolar bone in rats: relationship between experimental analyses and a micro scale FEA computational simulation study. *Clin Oral Investig*. 2021 Sep;25(9):5479–92.
20. Shakeri A, Adanty C. Romosozumab (sclerostin monoclonal antibody) for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women: a review. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. 2020 Jan 6;27(1):e25–31. doi:10.15586/jptcp.v27i1.655.
21. Shimomoto Y, Chung CJ, Iwasaki-Hayashi Y, Muramoto T, Soma K. Effects of occlusal stimuli on alveolar/jaw bone formation. *J Dent Res*. 2007 Jan;86(1):47–51. doi:10.1177/154405910708600107.
22. Taut AD, Jin Q, Chung JH, Galindo-Moreno P, Yi ES, Sugai JV, et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis. *J Bone Miner Res*. 2013 Nov;28(11):2347–56. doi:10.1002/jbmr.1984.
23. van der Meulen MC, Huiskes R. Why mechanobiology? A survey article. *J Biomech*. 2002 Apr;35(4):401–14. doi:10.1016/S0021-9290(01)00184-1.
24. Wu L, Guo H, Sun K, Zhao X, Ma T, Jin Q. Sclerostin expression in the subchondral bone of patients with knee osteoarthritis. *Int J Mol Med*. 2016 Nov;38(5):1395–1402. doi:10.3892/ijmm.2016.2741.
25. Yokota H, Leong DJ, Sun HB. Mechanical loading: bone remodeling and cartilage maintenance. *Curr Osteoporos Rep*. 2011 Dec;9(4):237–42. doi:10.1007/s11914-011-0067-y.

3 CONCLUSÃO

Os achados da presente pesquisa reforçam a hipótese de que a expressão da esclerostina é altamente dependente do contexto biomecânico demonstrado pela FEA e que sua regulação temporal influencia diretamente a ativação da esclerostina nos osteócitos durante o processo de remodelação óssea. Além de destacar a complexidade temporal e espacial da remodelação óssea induzida mecanicamente.

REFERÊNCIAS^{1*}

1. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*. 2006 Nov 3;127(3):469–80.
2. Delgado-Calle J, Sato AY, Bellido T. Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone*. 2017 Mar;96:29–37.
3. Ferreira BC, Freire AR, Araujo R, do Amaral-Silva GK, Okamoto R, Prado FB, Rossi AC. β -catenin and its relation to alveolar bone mechanical deformation: a study conducted in rats with tooth extraction. *Front Physiol*. 2020 Jun 5;11:549.
4. Furlan CC, Freire AR, Ferreira-Pileggi BC, Watanabe LNO, Botacin PR, Prado FB, Rossi AC. Does ovariectomy affect the mechanics of the mandibular alveolar bone structure of Wistar rats subjected to tooth loss and modified diet? A FEA study. *Biology (Basel)*. 2024 Nov 6;13(11):906.
5. Galea GL, Lanyon LE, Price JS. Sclerostin's role in bone's adaptive response to mechanical loading. *Bone*. 2017 Mar;96:38–44.
6. Kim JM, Lin C, Stavre Z, Greenblatt MB, Shim JH. Osteoblast-osteoclast communication and bone homeostasis. *Cells*. 2020 Sep 10;9(9):2073.
7. Marahleh A, Kitaura H, Ohori F, Noguchi T, Mizoguchi I. The osteocyte and its osteoclastogenic potential. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 May 24;14:1121727.
8. Mavropoulos A, Odman A, Ammann P, Kiliaridis S. Rehabilitation of masticatory function improves the alveolar bone architecture of the mandible in adult rats. *Bone*. 2010 Sep;47(3):687–92.
9. Omran A, Atanasova D, Landgren F, Magnusson P. Sclerostin: from molecule to clinical biomarker. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 26;23(9):4751.
10. Richmond BG, Wright BW, Grosse I, Dechow PC, Ross CF, Spencer MA, et al. Finite element analysis in functional morphology. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2005 Apr;283(2):259–74.
11. Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008 Feb 29;283(9):5866–75.
12. Shakeri A, Adanty C. Romosozumab (sclerostin monoclonal antibody) for the treatment of osteoporosis in postmenopausal women: a review. *J Popul Ther Clin Pharmacol*. 2020 Jan 6;27(1):e25–31.

* De acordo com as normas da UNICAMP/FOP, baseadas na padronização do International Committee of Medical Journal Editors - Vancouver Group. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o PubMed.

13. Shimomoto Y, Chung CJ, Iwasaki-Hayashi Y, Muramoto T, Soma K. Effects of occlusal stimuli on alveolar/jaw bone formation. *J Dent Res*. 2007 Jan;86(1):47–51.
14. Taut AD, Jin Q, Chung JH, Galindo-Moreno P, Yi ES, Sugai JV, et al. Sclerostin antibody stimulates bone regeneration after experimental periodontitis. *J Bone Miner Res*. 2013 Nov;28(11):2347–56.
15. Wu L, Guo H, Sun K, Zhao X, Ma T, Jin Q. Sclerostin expression in the subchondral bone of patients with knee osteoarthritis. *Int J Mol Med*. 2016 Nov;38(5):1395–1402.
16. Yokota H, Leong DJ, Sun HB. Mechanical loading: bone remodeling and cartilage maintenance. *Curr Osteoporos Rep*. 2011 Dec;9(4):237–42.

ANEXO 1: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO NA REVISTA

The screenshot shows a web interface for 'vit journals'. The top navigation bar is dark grey with the 'vit journals' logo on the left, a hamburger menu icon in the center, and the 'EJA' logo (European Journal of Anatomy) on the right. A user profile dropdown for 'Ana Cláudia Rossi' is visible on the far right. The left sidebar is dark grey and contains the user's name, a home icon, and an 'Instructions' link. The main content area has a light blue header with the word 'Manuscript'. Below this, the title of the manuscript is displayed in all caps: 'RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION IN RATS'. A subtitle in parentheses follows: '(SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION)'. The authors' names are listed below the subtitle: 'Camila Carrillo Furlan, Alexandre Rodrigues Freire, Beatriz Carmona Ferreira-Pileggi, Roberta Okamoto, Ana Cláudia Rossi'. The manuscript ID '250544ar' and the submission date 'Submitted: 2025/07/03' are shown at the bottom of the main content area. A breadcrumb trail at the top right of the main content area shows 'Home > Manuscript'.

vit journals

EJA
European Journal of Anatomy

Ana Cláudia Rossi

Ana Cláudia Rossi

Home

Instructions

Manuscript

Home > Manuscript

RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION IN RATS

(SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION)

Camila Carrillo Furlan, Alexandre Rodrigues Freire, Beatriz Carmona Ferreira-Pileggi, Roberta Okamoto, Ana Cláudia Rossi

250544ar

Submitted: 2025/07/03

ANEXO 2: COMPROVANTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



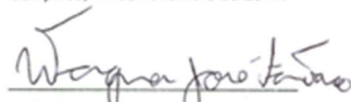
CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE A DEFORMAÇÃO ÓSSEA ALVEOLAR E A EXPRESSÃO DA β -catenina EM RATOS SUBMETIDOS À PERDA DENTAL, registrada com o nº 4674-1/2017, sob a responsabilidade de Profa. Dra. Ana Cláudia Rossi e Beatriz Carmona Ferreira, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP, em 1º de novembro de 2017.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	15/11/2017-15/11/2018
Vigência da autorização para manipulação animal:	15/11/2017-15/11/2018
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogênico / HanUnib: WH (Wistar)
No. de animais:	24
Idade/Peso:	03 meses / 350g
Sexo:	machos
Origem:	CEMIB/UNICAMP
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, FOP/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização prévia junto ao IBAMA, SISBIO ou CIBio e é restrita a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, 1º de novembro de 2017.


 Prof. Dr. Wagner José Favaro
 Presidente


 Fátima Alonso
 Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

CERTIFICADO CEUA nº 121/2025



CEUA/Unicamp

INFORMAÇÃO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da UNICAMP – CEUA/UNICAMP – esclarece que não há necessidade de submeter o projeto de pesquisa **“Relação entre o marcador esclerostina e a resposta mecânica do osso alveolar pós-extração dental em ratos”**, de responsabilidade da Profa. Dra. Ana Cláudia Rossi e executora Camila Carrillo Furlan, para análise desta comissão.

Justificativa: A pesquisa envolve utilizar microtomografias computadorizadas das maxilas de ratos para realizar simulação computacional dos ratos dos grupos controle e experimentais já realizadas no protocolo original e utilizar lâminas histológicas provenientes do protocolo original para realizar análises imunohistoquímicas (protocolo CEUA/UNICAMP no 4674-1/2017).

O pesquisador declara que não houve/haverá manipulação in vivo dentro dos laboratórios credenciados pela CEUA/UNICAMP.

Campinas, 07 de maio de 2025.

Profa. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud

Presidente da CEUA/UNICAMP

Eduardo Duarte Villaverde Haszler

Secretário Executivo da CEUA/Unicamp

CEUA/UNICAMP
Rua Monteiro Lobato, 80
13083-970 Campinas, SP – Brasil

Documento assinado. Verificar autenticidade em sigad.unicamp.br/verifica
Informar código BD10610F 24734945 AAA418E4 ADD29CFB

Telefone: (19) 3521 – 6359

E-mail: comisib@unicamp.br

https://www.tb.unicamp.br/comissoes/ceua_principal

CERTIFICADO CEUA nº 121/2025

Documento assinado eletronicamente por LIANA MARIA CARDOSO VERINAUD, Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais, em 07/05/2025, às 09:19 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.

Documento assinado eletronicamente por EDUARDO VILLAVARDE HASZLER, SECRETÁRIO EXECUTIVO DA CEUA/UNICAMP, em 07/05/2025, às 09:06 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site:
sigad.unicamp.br/verifica, informando o código verificador:
BD10610F 24734945 AAA418E4 ADD29CFB



ANEXO 3: COMPROVANTE SOFTWARE ANTI-PLÁGIO

RELATIONSHIP BETWEEN THE SCLEROSTIN MARKER AND THE MECHANICAL RESPONSE OF ALVEOLAR BONE POST-DENTAL EXTRACTION IN RATS			
RELATÓRIO DE ORIGINALIDADE			
6%	6%	5%	2%
ÍNDICE DE SEMELHANÇA	FONTES DA INTERNET	PUBLICAÇÕES	DOCUMENTOS DOS ALUNOS
FONTES PRIMÁRIAS			
1	bvs.fapesp.br Fonte da Internet		1%
2	eprints.mums.ac.ir Fonte da Internet		1%
3	hdl.handle.net Fonte da Internet		<1%
4	repositorio.ufla.br Fonte da Internet		<1%
5	doczz.net Fonte da Internet		<1%
6	Eloá Rodrigues LUVIZUTO, Thallita Pereira QUEIROZ, Sheila Mônica Damásio DIAS, Tetuo OKAMOTO et al. "Histomorphometric analysis and immunolocalization of RANKL and OPG during the alveolar healing process in female ovariectomized rats treated with oestrogen or raloxifene", Archives of Oral Biology, 2010 Publicação		<1%