

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 17/02/2027



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

ANA CLÁUDIA ERVOLINO DA SILVA

**MACROGEOMETRIA E DRUG DELIVERY COMO
ESTRATÉGIAS PARA A MELHORA DO REPARO PERI-
IMPLANTAR EM TECIDO ÓSSEO OSTEOPÊNICO:
CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA, HISTOMÉTRICA,
MOLECULAR, BIOMECÂNICA E ULTRAESTRUTURAL DA
INTERFACE OSSO/IMPLANTE**

Araçatuba - SP
2025

ANA CLÁUDIA ERVOLINO DA SILVA

**MACROGEOMETRIA E DRUG DELIVERY COMO
ESTRATÉGIAS PARA A MELHORA DO REPARO PERI-
IMPLANTAR EM TECIDO ÓSSEO OSTEOPÊNICO:
CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA, HISTOMÉTRICA,
MOLECULAR, BIOMECÂNICA E ULTRAESTRUTURAL DA
INTERFACE OSSO/IMPLANTE**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Doutora.

Área de Concentração: Implantodontia

Orientadora: Profa. Dra. Roberta Okamoto

Araçatuba - SP
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586m Silva, Ana Cláudia Ervolino da.
Macrogeometria e drug delivery como estratégias para a melhora do reparo peri-implantar em tecido ósseo osteopênico : caracterização histológica, histométrica, molecular, biomecânica e ultraestrutural da interface osso/implante / Ana Cláudia Ervolino da Silva. – Araçatuba, 2025
90 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Roberta Okamoto

1. Implantes dentários 2. Proteína Wnt3 3. Teriparatida
4. Sistemas de liberação de medicamentos I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

ERRATA

SILVA, A. C. E. **Macrogeometria e drug delivery como estratégias para a melhora do reparo peri-implantar em tecido ósseo osteopênico:** caracterização histológica, histométrica, molecular, biomecânica e ultraestrutural da interface osso/implante. 2025. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Folha	Linha	Onde se lê	Leia-se
6	19	À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2021/06849-4.	À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de doutorado (processo 2021/06849-4) e concessão de auxílio regular à pesquisa que subsidiou este trabalho (processo 2021/13026-4).

À minha mãe Edna

Pelo amor incondicional, pelo abraço carinhoso nos momentos de angústia, além de todos os conselhos nos momentos de incerteza que vivenciei.

Ao meu pai José

Por todo o esforço dedicado à minha formação, e por todos os valores éticos e morais transmitidos a mim.

Aos meus irmãos Paula e Rafael

Por todo o companheirismo durante a vida. Por apoiar e torcer pela realização dos meus sonhos.

Ao meu marido Cássio

Por viver os meus sonhos como se fossem os seus. Muito obrigada por compartilhar sua vida comigo.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, pela presença constante durante esta jornada e pelas pessoas que encontrei durante ela.

À querida professora, orientadora e amiga, **Professora Titular Roberta Okamoto**. Sou profundamente grata pela oportunidade de ter continuado o doutorado com a sua orientação. O seu apoio e paciência durante os momentos de dificuldade foram muito valiosos. Sua competência e integridade sempre serão fonte de inspiração para mim.

Aos professores, membros da banca examinadora desta defesa de Tese que prontamente aceitaram o convite: Professor José Mauro Granjeiro, Professor Paulo Rossetti, Professor Hugo Nary Filho e Professor Juliano Milanezi. Tenho uma enorme admiração por todos vocês e tenho certeza de que suas sugestões e considerações serão extremamente valiosas para este estudo.

À Sabrina Tfaile Frasnelli pela ajuda e pela execução cuidadosa da análise de biologia molecular deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. O auxílio durante as etapas experimentais foi fundamental para o desenvolvimento deste estudo. Agradeço também pelos momentos de aprendizado e pela amizade que construímos.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa do diretor pela oportunidade de realização dos cursos de graduação, mestrado e doutorado. Sou uma verdadeira admiradora desta universidade e agradeço por todas as oportunidades que esta casa me forneceu e continua fornecendo.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP na pessoa do **Professor Titular Wirley Gonçalves Assunção** pela excelente condução do programa de pós-graduação.

Aos funcionários da pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pela disponibilidade e paciência em ajudar todos os alunos em todas as etapas da pós-graduação.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela prontidão em nos atender sempre com muito carinho.

Ao Departamento de Ciências Básicas, pelo acolhimento e por viabilizar a execução de todas as etapas deste estudo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - código de financiamento 001, pela concessão da Bolsa de Doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de Bolsa de Doutorado (processo nº 2021/06849-4).

Ao Laboratório Multiusuário de Biotecnologia e Bioengenharia (MUBIO) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e à FINEP (FINEP/CT-INFRA – Convênio FINEP 01.12.0530,00 – PROINFRA 01/2011), por conceder o acesso ao equipamento de Microtomografia Computadorizada SkyScan 1272.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio universal (processo 404998/2023-2) em nome da minha orientadora, Professora Titular Dr^a Roberta Okamoto, que apoiou financeiramente este estudo.

Este estudo foi suportado pelo **CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – INCT Saúde Oral e Odontologia –**
CNPq processo: 406840/2022-9

“Acredite que você pode e você
já está no meio do caminho.”

Theodore Roosevelt

RESUMO

SILVA, A. C. E. **Macrogeometria e drug delivery como estratégias para a melhora do reparo peri-implantar em tecido ósseo osteopênico**: caracterização histológica, histométrica, molecular, biomecânica e ultraestrutural da interface osso/implante. 2025. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

O presente estudo tem como objetivo avaliar diferentes estratégias que possam contribuir com a melhora do processo de reparo periimplantar em ratas com deficiência de estrógeno. Para isso, um novo modelo de implante de titânio poroso fabricado por manufatura aditiva que mimetiza o tecido ósseo osteopênico foi utilizado como uma estrutura para levar medicamentos ou biomoléculas ao compartimento periimplantar com o objetivo de promover melhores respostas de formação óssea. Para avaliar o reparo periimplantar em ratas com deficiência de estrógeno foi utilizado o modelo de ovariectomia bilateral. Para isso, 90 ratas foram submetidas à ovariectomia bilateral e separadas em dois grupos de acordo com o implante a ser utilizado. Em um grupo foram utilizados implantes porosos e no segundo grupo implantes convencionais (sólidos). Os implantes foram funcionalizados com teriparatida, Wnt3a ou não foram funcionalizados. Após 30 dias da ovariectomia, todas as ratas foram submetidas à instalação dos implantes de acordo com a superfície correspondente ao seu grupo. Aos 14 dias após a instalação dos implantes, foram coletadas amostras para analisar a expressão gênica relativa de proteínas relacionadas ao processo de reparo ósseo usando PCR em tempo real e análise de torque reverso. A análise da microarquitetura do tecido ósseo peri-implantar foi avaliada aos 14, 28 e 42 dias pós-operatórios por meio de microtomografia computadorizada. Os dados paramétricos foram comparados por meio de testes ANOVA de 1 e 2 fatores. Como pós-teste, foram aplicados os testes de Sidak e Tukey em um nível de significância de 5%. Foram encontrados valores mais altos de torque de remoção no grupo OVX WNT com implantes sólidos em comparação com os outros grupos experimentais. Quanto à expressão gênica relativa das proteínas envolvidas no processo de reparo ósseo, os grupos OVX WNT e OVX PTH apresentaram valores maiores em comparação com o grupo OVX TI. Os grupos OVX WNT e OVX PTH apresentaram melhores características microestruturais do tecido ósseo peri-implantar, conforme avaliado por microtomografia computadorizada. Com base

nesses resultados, pode-se concluir que a manufatura aditiva é uma ferramenta aliada na busca de melhores respostas celulares durante o processo de reparo peri-implantar e, associada à administração local de biomoléculas, pode otimizar o reparo do tecido ósseo osteopênico.

Palavras-chave: implantes dentários; proteína wnt3; teriparatida; sistemas de liberação de medicamentos.

ABSTRACT

SILVA, A. C. E. **Macrogeometry and drug delivery as strategies to improve peri-implant repair in osteopenic bone tissue**: histological, histometric, molecular, biomechanical and ultrastructural characterization of the bone/implant interface. 2025. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

The aim of this study was to evaluate different strategies that could help improve the peri-implant repair process in estrogen-deficient rats. To this end, a new model of porous titanium implant made by additive manufacturing that mimics osteopenic bone tissue was used as a structure to deliver drugs or biomolecules to the peri-implant compartment with the aim of promoting better bone formation responses. The bilateral ovariectomy model was used to evaluate peri-implant repair in estrogen-deficient rats. For this purpose, 90 female rats underwent bilateral ovariectomy and were divided into two groups according to the implant to be used. Porous implants were used in one group and conventional (solid) implants in the second. The implants were functionalized with teriparatide, Wnt3a or were not functionalized. After 30 days of ovariectomy, all the rats underwent implant installation according to the surface corresponding to their group. At 14 days after implant installation, samples were taken to analyze the relative gene expression of proteins related to the bone repair process using real-time PCR and reverse torque analysis. The analysis of the microarchitecture of the peri-implant bone tissue was evaluated at 14, 28 and 42 days post-operatively using computerized microtomography. Parametric data were compared using 1-factor and 2-factor ANOVA tests. As a post-test, the Sidak and Tukey tests were applied at a 5% significance level. Higher removal torque values were found in the OVX WNT group with solid implants when compared to the other experimental groups. As for the relative gene expression of the proteins involved in the bone repair process, the OVX WNT and OVX PTH groups showed increased values compared to OVX TI. The OVX WNT and OVX PTH groups showed better microstructural characteristics of the peri-implant bone tissue as assessed using computerized microtomography. Based on these results, it can be concluded that additive manufacturing is an allied tool in the search for better cellular responses during the peri-implant repair process, and associated with the drug delivery of biomolecules, it can optimize bone repair in osteopenic bone tissue.

Keywords: dental implants; wnt3 protein; teriparatide; drug delivery systems.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo de fabricação dos implantes porosos	18
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura dos implantes sólidos e porosos após a impressão 3D	18
Figura 3 – Etapas de fabricação de filmes LbL para adsorção de PTH 1-34	20
Figura 4 – Método de incorporação Dip Coating para adsorção de Wnt3a	21
Figura 5 – Linha do tempo apresentando os tempos experimentais	23
Figura 6 – Gráfico representativo dos valores de torque de remoção	30
Figura 7 – Gráfico representativo dos valores de torque de remoção: superfícies x macrogeometria	31
Figura 8 – Gráfico representativo dos valores de torque de remoção quanto às superfícies testadas	32
Figura 9 – Expressão gênica relativa de ALP: superfícies x macrogeometria	33
Figura 10 – Expressão gênica relativa de ALP quanto às superfícies testadas	34
Figura 11 – Expressão gênica relativa de VEGF: superfícies x macrogeometria	35
Figura 12 – Expressão gênica relativa de RANKL: superfícies x macrogeometria	36
Figura 13 – Expressão gênica relativa de RANKL quanto às superfícies testadas	37
Figura 14 – Expressão gênica relativa de OPG: superfícies x macrogeometria	38
Figura 15 – Expressão gênica relativa de OPG quanto às superfícies testadas	39
Figura 16 – Taxa RANKL/OPG: macrogeometria x superfícies	40
Figura 17 – Taxa RANKL/OPG quanto às superfícies testadas	41
Figura 18 – Expressão gênica relativa de OCN: superfícies x macrogeometria	42
Figura 19 – Expressão gênica relativa de OCN quanto às superfícies testadas	43
Figura 20 – Reconstrução tridimensional do osso peri-implantar aos 14 dias pós-operatórios	44
Figura 21 - Reconstrução tridimensional do osso peri-implantar aos 28 dias pós-operatórios	44
Figura 22 - Reconstrução tridimensional do osso peri-implantar aos 42 dias pós-operatórios	45

Figura 23 – Porcentagem de volume ósseo aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	46
Figura 24 – Espessura de trabéculas aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	47
Figura 25 – Separação de trabéculas aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	48
Figura 26 – Número de trabéculas aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	49
Figura 27 - Número de trabéculas aos 14 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	50
Figura 28 – Superfície de intersecção aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	51
Figura 29 – Porosidade total aos 14 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	52
Figura 30 - Porcentagem de volume ósseo aos 28 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	53
Figura 31 - Espessura de trabéculas aos 28 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	54
Figura 32 - Separação de trabéculas aos 28 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	55
Figura 33 - Número de trabéculas aos 28 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	56
Figura 34 - Superfície de intersecção aos 28 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	57
Figura 35 - Superfície de intersecção aos 28 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	58
Figura 36 - Porosidade total aos 28 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	59
Figura 37 - Porcentagem de volume ósseo aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	60
Figura 38 - Porcentagem de volume ósseo aos 42 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	61

Figura 39 - Espessura de trabéculas aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	62
Figura 40 - Separação de trabéculas aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	63
Figura 41 - Número de trabéculas aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	64
Figura 42 - Número de trabéculas aos 42 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	65
Figura 43 - Superfície de intersecção aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	66
Figura 44 – Porosidade total aos 42 dias: comparação entre superfícies com a mesma macrogeometria	67
Figura 45 - Porosidade total aos 42 dias: comparação entre macrogeometrias com a mesma superfície	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição dos grupos experimentais	24
Tabela 2 – Sondas Taqman para a análise de RT-qPCR	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALP	Fosfatase alcalina
BIC	Contato osso/implante
BV/TV	Porcentagem de volume ósseo
cDNA	DNA complementar
DMO	Densidade mineral óssea
DMSO	Dimetilsulfóxido
FDA	Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos
I.S	Superfície de intersecção
LbL	Layer-by-layer
OCN	Osteocalcina
OPG	Osteoprotegerina
PBF	Fusão em leito de pó
Po.Tot	Porosidade total
PSS	Poliestireno sulfonado
PTH	Paratormônio
RANKL	Receptor-ativador do fator nuclear-ligante κ B
RT-qPCR	Reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa quantitativo
SERMS	Moduladores seletivos de receptor de estrógeno
SLS	Sinterização à laser seletivo
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação de trabéculas
Tb.Th	Espessura de trabéculas
TiO ₂	Óxido de titânio
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 Fabricação dos Implantes	17
2.2 Funcionalização da Superfície dos Implantes	18
2.3 Delineamento Experimental	22
2.4 Grupos Experimentais	23
2.5 Procedimentos cirúrgicos	24
2.5.1 Ovariectomia	24
2.5.2 Instalação dos Implantes	25
2.6 Análises	26
2.6.1 Análise Biomecânica - Torque de remoção	26
2.6.2 Análise Molecular - Reação em cadeia de polimerase de transcrição reversa	27
2.6.3 Microtomografia computadorizada	28
2.6.4 Análise estatística	29
3 RESULTADOS	30
3.1 Análise Biomecânica	30
3.1.1 Comparação entre os grupos experimentais	30
3.1.2 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	30
3.1.3 Comparação global entre as superfícies	31
3.2 Análise Molecular	32
3.2.1 Expressão gênica relativa de fosfatase alcalina	32
3.2.1.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	32
3.2.1.2 Comparação global entre as superfícies	33
3.2.2 Expressão gênica relativa do fator de crescimento do endotélio vascular	34
3.2.2.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	34
3.2.3 Expressão gênica relativa do receptor-ativador do fator nuclear-ligante κ B	35
3.2.3.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	36
3.2.3.2 Comparação global entre as superfícies	37
3.2.4 Expressão gênica relativa de osteoprotegerina	37
3.2.4.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	37
3.2.4.2 Comparação global entre as superfícies	38

3.2.5 Taxa de remodelação óssea (RANKL/OPG)	39
3.2.5.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	39
3.2.5.2 Comparação global entre as superfícies	40
3.2.6 Expressão gênica relativa de osteocalcina	41
3.2.6.1 Comparação entre as superfícies em uma mesma macrogeometria	41
3.2.6.2 Comparação global entre as superfícies	42
3.3 Análise da microarquitetura do tecido ósseo reparacional	43
3.3.1 Microarquitetura aos 14 dias pós-operatórios	45
3.3.2 Microarquitetura aos 28 dias pós-operatórios	52
3.3.3 Microarquitetura aos 42 dias pós-operatórios	59
4 DISCUSSÃO	69
5 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
ANEXOS	81

1 INTRODUÇÃO

O estudo de implantes osseointegráveis como substitutos para perdas dentárias tem despertado o interesse de grandes pesquisadores desde a descoberta da osseointegração, introduzida por Branemark em 1965,¹ transformando o exercício da odontologia e revolucionando os conceitos de reposição de dentes perdidos.¹ A osseointegração consiste na união direta, estrutural e funcional entre o tecido ósseo e o implante, sendo de fundamental importância para o alcance do sucesso nos tratamentos reabilitadores com próteses implantossuportadas.² Atualmente, os implantes osseointegráveis são considerados padrão ouro no tratamento reabilitador de pacientes parcial ou totalmente edêntulos, com prognóstico de sucesso próximo a 100%.³ Em vista do aumento da expectativa de vida das populações e sua relação direta com o edentulismo, há uma necessidade crescente do tratamento de pacientes idosos com implantes dentários, possibilitando melhora da função mastigatória e da qualidade de vida desses indivíduos. Concomitante ao envelhecimento, ocorre um aumento da incidência de alterações metabólicas, incluindo a osteoporose.^{4,5} Esta alteração sistêmica é classicamente reconhecida como um problema de saúde significativo em mulheres, pela depleção no fornecimento de estrógeno na fase pós-menopausa afetando mais de 200 milhões de mulheres no mundo todo.⁶ O estrógeno em baixas concentrações promove o aumento da reabsorção óssea através do aumento da osteoclastogênese, causando desequilíbrio do processo de remodelação, resultando em diminuição da massa óssea, deterioração da microarquitetura do tecido ósseo com consequente aumento da fragilidade óssea e da susceptibilidade a fraturas.⁷ Essa alteração no metabolismo ósseo pode comprometer o prognóstico do tratamento reabilitador, uma vez que a quantidade e a qualidade óssea do leito receptor do implante está diretamente relacionada a estabilidade primária do implante, aspecto que possibilita melhores respostas de reparo periimplantar e raramente é alcançado em indivíduos portadores da osteoporose.⁸ Além disso, a estabilidade biológica do implante, consecutiva à estabilidade primária, também pode ser comprometida, uma vez que esta necessita de um funcionamento adequado do processo de remodelação óssea para que um osso com propriedades biológicas adequadas seja formado no compartimento periimplantar.⁹ Dessa forma, o desequilíbrio do metabolismo ósseo leva a uma formação óssea defeituosa,

prejudicando a osseointegração, podendo levar à falha as reabilitações a longo prazo.^{10,11}

Nas últimas décadas, uma série de terapias farmacológicas foram introduzidas para o tratamento da osteoporose pós-menopáusia com o intuito de aumentar a densidade mineral óssea e reduzir a ocorrência de fraturas por fragilidade em mulheres após a menopausa. Em revisão, Tella e Gallagher,¹² realizaram um levantamento sobre os tipos de tratamentos referentes à osteoporose, podendo ser através do uso de agentes farmacológicos ou não. A terapia farmacológica pode ser classificada através de agentes anti-reabsortivos e anabólicos. Os bifosfonatos, moduladores seletivos de receptores de estrógeno (SERMS) e denosumab compreendem o grupo de anti reabsortivos. Já o paratormônio (PTH) é um agente anabólico, que favorece a neoformação óssea. Apesar da ampla gama de opções disponíveis comercialmente, os fármacos antireabsortivos, da classe dos bifosfonatos, ainda se mantém como a primeira escolha para a terapia anti-osteoporose. Dados clínicos mostram que sua resposta anti-reabsortiva é incontestável, no entanto, para a odontologia ainda há ressalvas quanto a sua utilização, especialmente pela ocorrência das osteonecrose dos maxilares causadas por medicações e dentre elas, o bifosfonato ocupa posição de destaque.¹³ Esse efeito adverso tem ainda maior incidência após a realização de procedimentos cirúrgicos na cavidade oral, incluindo a instalação de implantes osseointegráveis, tornando o prognóstico do tratamento reabilitador desfavorável em pacientes portadores da osteoporose que utilizam bifosfonato como tratamento. Considerando a relevância desse problema e a dificuldade dos implantodontistas de tratar pacientes com distúrbios osteometabólicos com segurança e previsibilidade, é evidente que a busca por desenvolver métodos de aperfeiçoamento da osseointegração deve ser incessante, especialmente na presença de uma condição óssea comprometida. Consequentemente, o aumento do contato osso/implante (BIC) e a redução do tempo de osseointegração ainda são temas de grande interesse na prática clínica. As modificações topográficas da superfície do implante e o desenvolvimento de sistemas de liberação de medicamentos mostraram melhorar a adesão celular, a proliferação e a diferenciação de células osteoprogenitoras responsáveis pela formação óssea no

reparo periimplantar, sendo uma alternativa promissora em casos em que a osseointegração pode ser prejudicada por desordens osteometabólicas.¹⁴⁻¹⁶

Dadas as propriedades mecânicas inferiores do osso osteoporótico, deve-se considerar a utilização de implantes com design que compensem a deficiência da microarquitetura desse tipo de osso. Os implantes porosos aumentam a área de contato entre osso e implante (BIC), facilitam a neoformação óssea periimplantar, e tem o potencial de carregar e liberar medicações de forma local, contribuindo com o metabolismo ósseo local e neoformação óssea periimplantar.^{17,18} Com o crescimento da manufatura aditiva e impressão 3D no campo da implantodontia,¹⁹ a fabricação de implantes porosos ou trabeculares como forma de promover e reduzir o tempo de osseointegração tem se mostrado promissora. Em um ensaio clínico em humanos, implantes fabricados por manufatura aditiva mostraram sucesso clínico após 3 anos de acompanhamento.²⁰ Em outro estudo, implantes porosos à base de tântalo demonstraram maior sucesso clínico quando comparados à implantes convencionais.¹⁷ No entanto, é necessária uma maior compreensão do seu potencial uso e impacto sobre o sucesso do implante em pacientes com osteoporose. Para criar implantes porosos, um modelo baseado no diagrama de Voronoi tem se mostrado eficaz criando scaffolds biomiméticos semelhantes ao tecido ósseo.^{21,22} Para a fabricação dos implantes, a partir de uma adaptação do diagrama de Voronoi é possível posicionar os poros de forma seletiva, criando uma arquitetura anisotrópica, com maior estrutura de suporte e que mimetize o tecido ósseo osteoporótico.²³ O desenvolvimento de novos desenhos e topografias de implante é fundamental para a melhoria da sobrevivência de implantes, e requerem uma melhor compreensão de como essas mudanças afetam os estágios da osseointegração. Implantes com estrutura porosa fornecem o arcabouço para a migração de células osteogênicas e assim, contribuem com a osteogênese de contato e consequentemente com a estabilidade biológica do implante.²⁴ Além disso, a estrutura que mimetiza o tecido ósseo pode auxiliar na melhor distribuição mecânica das forças oclusais. Outra estratégia considerada importante na redução do tempo de osseointegração é a utilização do sistema de liberação de fármacos por meio da superfície do implante. Essa modificação na superfície pode acelerar as interações com as células e fatores de crescimento para promover melhores respostas de formação óssea periimplantar.²⁵

A técnica layer-by-layer (LbL) proposta por Decher et al.²⁶, em 1998, consiste na construção de camadas utilizando polieletrólitos e atração eletrostática entre os componentes, tornando possível a modificação da superfície de implantes dentários de titânio com substâncias inorgânicas (hidroxiapatita) e orgânicas (componentes da matriz extracelular e proteínas). A teriparatida, um medicamento à base de PTH, 1-34, é um agente anabólico aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos para o tratamento de osteoporoses graves por ser um agente anabolizante do tecido ósseo que aumenta a densidade mineral óssea²⁷. A teriparatida estimula a formação e remodelação óssea, aumentando assim a DMO e melhorando a microarquitetura óssea.¹² O tratamento com teriparatida foi o primeiro método comprovado e aprovado para aumentar a massa óssea e melhorar a arquitetura óssea. Várias vias celulares no osteoblasto são ativadas pelo PTH, e a ativação dessas vias resulta no recrutamento osteoblástico para a unidade de remodelação.²⁷ Alguns casos clínicos bem sucedidos de uso off-label de teriparatida para o tratamento de osteonecrose causada por bifosfonatos foram relatados, os quais mostraram que o PTH, 1-34 foi efetivo no tratamento da osteoporose e pode ser uma valiosa terapêutica no tratamento da osteonecrose de mandíbula ou maxila associada aos bifosfonatos.²⁸⁻³² Além da utilização do PTH 1-34 sistêmico, sua ação tópica vem sendo estudada, a qual mostrou resultados promissores com injeções locais em alvéolos pós exodonticos de ratos, promovendo melhora nas características da cicatrização do osso alveolar.³³ A incrementação do PTH, 1-34 foi testada também diretamente no titânio, mostrando resultados em que foi liberado PTH, 1-34 local suficiente para influenciar com eficácia a expressão do gene osteoblástico/osteocítico, o que sugere a potencial eficácia da liberação localizada do PTH.³⁴ Em um estudo recente (processo FAPESP: 2019/09946 0) em que realizamos a instalação de implantes com superfície funcionalizada com teriparatida em maxila de ratas, obtivemos uma melhora significativa nos parâmetros biomecânicos de torque de remoção, expressão gênica aumentada de proteínas da matriz óssea, e melhores respostas de formação óssea evidenciadas pela histometria dinâmica em ratas com deficiência de estrógeno. As células mesenquimais e os osteoblastos são elementos fundamentais no processo da osseointegração, pois são responsáveis por depositar o osso recém formado que irá se integrar ao implante, portanto, seu recrutamento e adesão são determinantes críticos para os eventos de formação óssea

subsequentes.³⁵⁻³⁷ Todos esses eventos podem ser afetados pelas características do implante utilizado, tais como topografia, macrogeometria, composição química e molhabilidade, favorecendo ou inibindo a migração das células osteogênicas e proteínas derivadas. Em vários estudos foi demonstrado que as propriedades físicas, químicas e biológicas do implante podem alterar a proliferação e diferenciação de células osteogênicas, e consequentemente a formação de tecido ósseo e sua subsequente mineralização.³⁸⁻⁴² A utilização de biomoléculas na superfície do implante tem atraído mais atenção nos últimos anos devido a sua capacidade de acelerar a ocorrência da osseointegração através da estimulação do reparo ósseo.⁴³ A via de sinalização Wnt desempenha um papel essencial na modulação do metabolismo ósseo e sua homeostase.⁴⁴ No tecido ósseo, a Wnt regula a atividade das células tronco na produção de osteócitos, que mantêm a vitalidade e o bom funcionamento do tecido ósseo, e são essenciais no processo de reparo ósseo. Além disso, os sinais da Wnt promovem o aumento da massa e do volume ósseo através da estimulação da atividade osteoblástica, inibição da atividade osteoclástica e conduzindo as células tronco totipotentes à diferenciação em osteoblastos.⁴⁵ Estes achados sugerem que as proteínas Wnt poderiam ser utilizadas como agentes terapêuticos locais para estimular o reparo ósseo. Como uma alternativa adicional de melhorar o reparo ósseo periimplantar, este estudo propôs a funcionalização de implantes porosos com estrutura que mimetiza o tecido ósseo osteoporótico e ao mesmo tempo funciona como scaffold para o carregamento de biomoléculas que podem auxiliar no processo de reparo periimplantar de ratas com comprometimento ósseo, sendo o peptídeo Wnt3a, que parece promover melhores respostas de formação óssea e a teriparatida, medicamento antiosteoporose que atua como osteoformador, também atuando na diferenciação de osteoblastos e nas respostas de formação óssea. Sendo assim, o presente estudo tem o objetivo de avaliar o desempenho de um implante com macrogeometria biomimética associado à liberação local de biomoléculas durante o processo de reparo periimplantar em ratas com deficiência de estrógeno.

5 CONCLUSÃO

O uso de manufatura aditiva para fabricar implantes de titânio é uma ferramenta útil no campo da engenharia de biomateriais, e associada ao drug delivery de biomoléculas é uma estratégia eficaz para a otimização do processo de reparo peri-implantar em condições desfavoráveis, como a osteopenia. Mais estudos são necessários para melhor caracterizar as respostas biológicas desencadeadas por esta combinação de fatores, bem como a biomolécula a ser liberada, que consiste em um fator primordial para que se obtenha resultados favoráveis.

REFERÊNCIAS

1. Bränemark PI, Breine AR. Intraosseous anchorage of dental prostheses. Experimental studies. Scand J Plast Reconstr Surg. 1969;3(2):81-100. doi: 10.3109/02844316909036699.
2. Branemark PI, Zarb GA, Albrektson T. tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence; 1985.
3. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. Scand J Plast Reconstr Surg Suppl. 1977;16:1-132.
4. Drake MT, Khosla S. Male osteoporosis. Endocrinol Metab Clin North Am. 2012;41(3):629-41. doi: 10.1016/j.ecl.2012.05.001.
5. Khosla S, Amin S, Orwoll E. Osteoporosis in men. Endocr Rev. 2008;29(4):441-64. doi: 10.1210/er.2008-0002
6. World Health Organization. Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases. Assessment of osteoporosis at the primary health care level. Geneva: WHO; 2007.
7. Weitzmann MN, Ofotokun I. Physiological and pathophysiological bone turnover - role of the immune system. Nat Rev Endocrinol. 2016;12(9):518-32. doi: 10.1038/nrendo.2016.91.
8. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. Interv Med Appl Sci. 2013;5(4):162-7. doi: 10.1556/IMAS.5.2013.4.3.
9. Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J. De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants: a model study in the dog. Clin Oral Implants Res. 2003;14(3):251-62. doi: 10.1034/j.1600-0501.2003.00972.x.
10. Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. J Periodontol. 1991;62(1):2-4. doi: 10.1902/jop.1991.62.1.2.
11. Goiato MC, Santos D, Jr S, Moreno JF, Pellizzer A. Longevity of dental implants in type IV bone: a systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg. 2014;43:1108-16. doi: 10.1016/j.ijom.2014.02.016.
12. Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. J Steroid Biochem Mol Biol. 2014;142:155-70. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.
13. Pabst AM, Ziebart T, Ackermann M, Konerding MA, Walter C. Bisphosphonates' antiangiogenic potency in the development of bisphosphonate-associated

osteonecrosis of the jaws: influence on microvessel sprouting in an in vivo 3D Matrigel assay. *Clin Oral Investig*. 2014;18(3):1015-22. doi: 10.1007/s00784-013-1060-x.

14. Salou L, Hoornaert A, Louarn G, Layrolle P. Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces: an experimental study in rabbits. *Acta Biomater*. 2015;11:494-502. doi: 10.1016/j.actbio.2014.10.017.

15. Li LH, Kong YM, Kim HW, Kim YW, Kim HE, Heo SJ, et al. Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation. *Biomaterials*. 2004;25(14):2867-75. doi: 10.1016/j.biomaterials.2003.09.048.

16. Klokkevold PR, Nishimura RD, Adachi M, Caputo A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit. *Clin Oral Implants Res*. 1997;8(6):442-7. doi: 10.1034/j.1600-0501.1997.080601.x.

17. Edelmann AR, Patel D, Allen RK, Gibson CJ, Best AM, Bencharit S. Retrospective analysis of porous tantalum trabecular metal-enhanced titanium dental implants. *J Prosthet Dent*. 2019;121(3):404-10. doi: 10.1016/j.prosdent.2018.04.022.

18. Vasconcellos LMR, Leite DO, Oliveira FN, Carvalho YR, Cairo CAA. Evaluation of bone ingrowth into porous titanium implant: histomorphometric analysis in rabbits. *Braz Oral Res*. 2010;24(4):399-405. doi: 10.1590/s1806-83242010000400005.

19. Wang X, Xu S, Zhou S, Xu W, Leary M, Choong P, et al. Topological design and additive manufacturing of porous metals for bone scaffolds and orthopaedic implants: a review. *Biomaterials*. 2016;83:127-41. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.01.012.

20. Tunchel S, Blay A, Kolerman R, Mijiritsky E, Shibli JA. 3D printing/additive manufacturing single titanium dental implants: a prospective multicenter study with 3 years of follow-up. *Int J Dent*. 2016;2016:8590971. doi: 10.1155/2016/8590971.

21. Fantini M, Curto M. Interactive design and manufacturing of a Voronoi-based biomimetic bone scaffold for morphological characterization. *Int J Interact Des Manuf*. 2018;12(2):585-96. doi: 10.1007/s12008-017-0416-x.

22. Liang H, Yang Y, Xie D, Li L, Mao N, Wang C, et al. Trabecular-like Ti-6Al-4V scaffolds for orthopedic: fabrication by selective laser melting and in vitro biocompatibility. *J Mater Sci Technol*. 2019;35(7):1284-97. doi: 10.1016/j.jmst.2019.01.012.

23. Deering J, Dowling KI, DiCecco L-A, McLean GD, Yu B, Grandfield K. Selective Voronoi tessellation as a method to design anisotropic and biomimetic implants. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021;116(104361):104361. doi: 10.1016/j.jmbbm.2021.104361.

24. Davies JE. In vitro modeling of the bone/implant interface. *Anat Rec*. 1996;245(2):426-45. doi: 10.1002/(sici)1097-0185(199606)245:2<426::aid-ar21>3.0.co;2-q.
25. Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD. The role of implant surface characteristics in the healing of bone. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996;7(4):329-45. doi: 10.1177/10454411960070040301.
26. Decher G, Eckle M, Schmitt J, Struth B. Layer-by-layer assembled multicomposite films. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 1998;3(1):32-9. doi: 10.1016/s1359-0294(98)80039-3.
27. Niimi R, Kono T, Nishihara A, Hasegawa M, Matsumine A, Kono T, et al. Analysis of daily teriparatide treatment for osteoporosis in men. *Osteoporos Int*. 2015;26(4):1303-9. doi: 10.1007/s00198-014-3001-1.
28. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head Neck*. 2011;33(9):1366-71. doi: 10.1002/hed.21380.
29. Tsai KY, Huang CS, Huang GM, Yu CT. More on the resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol*. 2010;37(3):675-6. doi: 10.3899/jrheum.091022.
30. Cheung A, Seeman E. Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med*. 2010;363(25):2473-4. doi: 10.1056/NEJMc1002684.
31. Harper RP, Fung E. Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone [rhPTH(1-34)]. *J Oral Maxillofac Surg*. 2007;65(3):573-80. doi: 10.1016/j.joms.2006.10.076.
32. Kwon YD, Lee DW, Choi BJ, Lee JW, Kim DY. Short-term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Osteoporos Int*. 2012;23(11):2721-5. doi: 10.1007/s00198-011-1882-9.
33. Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, Mccauley LK, Yamashita J. Intraoral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res*. 2013;92(6):553-9. doi: 10.1177/0022034513487558.
34. Gulati K, Kogawa M, Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ, Losic D. Drugreleasing nano-engineered titanium implants: therapeutic efficacy in 3D cell culture model, controlled release and stability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016;69:831-40. doi: 10.1016/j.msec.2016.07.047.
35. Rodda SJ, McMahon AP. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. *Development*. 2006;133(16):3231-44. doi: 10.1242/dev.02480.

36. Anselme K, Ponche A, Bigerelle M. Relative influence of surface topography and surface chemistry on cell response to bone implant materials. Part 2: biological aspects. *Proc Inst Mech Eng H*. 2010;224(12):1487-507. doi: 10.1243/09544119JEIM901.
37. Anselme K. Biomaterials and interface with bone. *Osteoporos Int*. 2011;22(6):2037-42. doi: 10.1007/s00198-011-1618-x.
38. Buser D, Broggini N, Wieland M, Schenk RK, Denzer AJ, Cochran DL, et al. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res*. 2004;83(7):529-33. doi: 10.1177/154405910408300704.
39. Germanier Y, Tosatti S, Broggini N, Textor M, Buser D. Enhanced bone apposition around biofunctionalized sandblasted and acid-etched titanium implant surfaces. A histomorphometric study in miniature pigs: a histomorphometric study in miniature pigs. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):251-7. doi: 10.1111/j.1600-0501.2005.01222.x.
40. Gahlert M, Gudehus T, Eichhorn S, Steinhauser E, Kniha H, Erhardt W. Biomechanical and histomorphometric comparison between zirconia implants with varying surface textures and a titanium implant in the maxilla of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(5):662-8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01401.x.
41. Park JW. Increased bone apposition on a titanium oxide surface incorporating phosphate and strontium: Phosphate/strontium-incorporated Ti implant. *Clin Oral Implants Res*. 2011;22(2):230-4. doi: 10.1111/j.1600-0501.2010.01974.x.
42. Kämmerer PW, Gabriel M, Al-Nawas B, Scholz T, Kirchmaier CM, Klein MO. Early implant healing: promotion of platelet activation and cytokine release by topographical, chemical and biomimetic titanium surface modifications in vitro: platelet activation modified titanium surfaces. *Clin Oral Implants Res*. 2012;23(4):504-10. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02153.x.
43. de Jonge LT, Leeuwenburgh SCG, Wolke JGC, Jansen JA. Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces. *Pharm Res*. 2008;25(10):2357-69. doi: 10.1007/s11095-008-9617-0.
44. Kim JB, Leucht P, Lam K, Luppen C, Ten Berge D, Nüsse R, et al. Bone regeneration is regulated by wnt signaling. *J Bone Miner Res*. 2007;22(12):1913-23. doi: 10.1359/jbmr.070802.
45. Bennett CN, Longo KA, Wright WS, Suva LJ, Lane TF, Hankenson KD, et al. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(9):3324-9. doi: 10.1073/pnas.0408742102.
46. Shi Q, Qian Z, Liu D, Liu H. Surface modification of dental titanium implant by layer-by-layer electrostatic self-assembly. *Front Physiol*. 2017;8:574. doi: 10.3389/fphys.2017.00574.

47. Wagner JM, Reinkemeier F, Dadras M, Wallner C, Huber J, Sogorski A, et al. Local Wnt3a treatment restores bone regeneration in large osseous defects after surgical debridement of osteomyelitis. *J Mol Med [Internet]*. 2020;98(6):897–906.
48. Kalu DN. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner*. 1991;15(3):175-91. doi: 10.1016/0169-6009(91)90124-i.
49. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res*. 2010 Jul;25(7):1468-86. doi: 10.1002/jbmr.141. PMID: 20533309.
50. Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *J Nippon Med Sch*. 2010 Feb;77(1):4-12. doi: 10.1272/jnms.77.4. PMID: 20154452.
51. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem*. 1997 Dec;30(8):573-93. doi: 10.1016/s0009-9120(97)00113-6. PMID: 9455610.
52. Stegen S, Carmeliet G. The skeletal vascular system - Breathing life into bone tissue. *Bone*. 2018 Oct;115:50-58. doi: 10.1016/j.bone.2017.08.022. Epub 2017 Aug 26. PMID: 28844835.
53. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Dec;1092:385-96. doi: 10.1196/annals.1365.035. PMID: 17308163.
54. Manolagas SC. Osteocalcin promotes bone mineralization but is not a hormone. *PLoS Genet [Internet]*. 2020;16(6):e1008714. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1008714>
55. Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Prado FB, Garcia IR Jr, Okamoto R. Raloxifene enhances peri-implant bone healing in osteoporotic rats. *Int J Oral Maxillofac Surg [Internet]*. 2015;44(6):798–805.
56. Yogui FC, Ervolino-Silva AC, Pitol-Palin L, Coléte JZ, Hassumi JS, Monteiro NG, et al. Strontium ranelate promotes increased peri-implant bone formation in ovariectomized rats. *RSD*.
57. Pyka G, Burakowski A, Kerckhofs G, Moesen M, Van Bael S, Schrooten J, et al. Surface modification of Ti6Al4V open porous structures produced by additive manufacturing. *Adv Eng Mater [Internet]*. 2012;14(6):363–70.
58. Micheletti C, Lee BEJ, Deering J, Binkley DM, Coulson S, Hussanain A, Zurob H, Grandfield K. Ti5Al5Mo5V3Cr bone implants with dual-scale topography: a promising alternative to Ti6Al4V, *Nanotechnology*. 2020;31:235101.

59. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* [Internet]. 2003;67(8):932–49.
60. Palmquist A, Lindberg F, Emanuelsson L, Brånemark R, Engqvist H, Thomsen P. Biomechanical, histological, and ultrastructural analyses of laser micro- and nano-structured titanium alloy implants: a study in rabbit. *J Biomed Mater Res A* [Internet]. 2010;92(4):1476–86.
61. Brånemark R, Emanuelsson L, Palmquist A, Thomsen P. Bone response to laser-induced micro- and nano-size titanium surface features. *Nanomedicine* [Internet]. 2011;7(2):220–7.
62. Davies JE, Ajami E, Moineddin R, Mendes VC. The roles of different scale ranges of surface implant topography on the stability of the bone/implant interface. *Biomaterials*. 2013;34:3535–3546.
63. Davies JE, Mendes VC, Ko JCH, Ajami E. Topographic scale-range synergy at the functional bone/implant interface. *Biomaterials*. 2014;35:25–35.
64. Li X, Liu Z, Xu S, Ma X, Zhao Z, Hu H, et al. A drug delivery system constructed by a fusion peptide capturing exosomes targets to titanium implants accurately resulting the enhancement of osseointegration peri-implant. *Biomater Res* [Internet]. 2022;26(1).
65. Back DA, Pauly S, Rommel L, Haas NP, Schmidmaier G, Wildemann B, et al. Effect of local zoledronate on implant osseointegration in a rat model. *BMC Musculoskelet Disord* [Internet]. 2012;13(1).
66. Cuairán C, Campbell PM, Kontogiorgos E, Taylor RW, Melo AC, Buschang PH. Local application of zoledronate enhances miniscrew implant stability in dogs. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* [Internet]. 2014;145(6):737–49.
67. Özer T, Başlarlı Ö, Aktaş A, Barış E, Çelik HH, Ocak M. Locally administrated single-dose teriparatide affects critical-size rabbit calvarial defects: A histological, histomorphometric and micro-CT study. *Acta Orthop Traumatol Turc* [Internet]. 2019;53(6):478–84.
68. Kuroshima S, Kovacic BL, Kozloff KM, McCauley LK, Yamashita J. Intra-oral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. *J Dent Res* [Internet]. 2013;92(6):553–9.
69. del Mercato LL, Ferraro MM, Baldassarre F, Mancarella S, Greco V, Rinaldi R, et al. Biological applications of LbL multilayer capsules: From drug delivery to sensing. *Adv Colloid Interface Sci* [Internet]. 2014;207:139–54.

70. Wei X, Zhou W, Tang Z, Wu H, Liu Y, Dong H, et al. Magnesium surface-activated 3D printed porous PEEK scaffolds for in vivo osseointegration by promoting angiogenesis and osteogenesis. *Bioact Mater* [Internet]. 2023;20:16–28.
71. Wang X, Guo Q, He Y, Geng X, Wang C, Li Y, et al. A pH-neutral bioactive glass coated 3D-printed porous Ti6Al4V scaffold with enhanced osseointegration. *J Mater Chem B Mater Biol Med* [Internet]. 2023;11(6):1203–12.
72. He P, Zhang H, Li Y, Ren M, Xiang J, Zhang Z, et al. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D3-loaded hierarchical titanium scaffold enhanced early osseointegration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* [Internet]. 2020;109(110551):110551.
73. Trino LD, Bronze-Uhle ES, George A, Mathew MT, Lisboa-Filho PN. Surface physicochemical and structural analysis of functionalized titanium dioxide films. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2018;546:168–78.
74. Pujari SP, Scheres L, Marcelis ATM, Zuilhof H. Covalent surface modification of oxide surfaces. *Angew Chem Int Ed Engl* [Internet]. 2014;53(25):6322–56.
75. Minear S, Leucht P, Jiang J, Liu B, Zeng A, Fuerer C, et al. Wnt proteins promote bone regeneration. *Sci Transl Med* [Internet]. 2010;2(29).
76. Willert K, Brown JD, Danenberg E, Duncan AW, Weissman IL, Reya T, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* [Internet]. 2003;423(6938):448–52.
77. Takada R, Satomi Y, Kurata T, Ueno N, Norioka S, Kondoh H. Mono-unsaturated fatty acid modification of Wnt protein: Its role in Wnt secretion. *Dev Cell*. 2006;11:791–801.
78. Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyan H, Bhat RA, Bodine PVN, Komm BS, et al. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression. *J Biol Chem* [Internet]. 2005;280(39):33132–40.
79. Bodine PVN, Zhao W, Kharode YP, Bex FJ, Lambert A-J, Goad MB, et al. The wnt antagonist secreted frizzled-related protein-1 is a negative regulator of trabecular bone formation in adult mice. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2004;18(5):1222–37.
80. Holmen SL, Zylstra CR, Mukherjee A, Sigler RE, Faugere M-C, Bouxsein ML, et al. Essential role of β -catenin in postnatal bone acquisition. *J Biol Chem* [Internet]. 2005;280(22):21162–8.
81. Karim M, Boikess RS, Schwartz RA, Cohen PJ. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a solvent that may solve selected cutaneous clinical challenges. *Arch Derm Res* [Internet]. 2022;315(6):1465–72.