

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/02/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

STÉFANY BARBOSA

**Avaliação do potencial osteoindutor de implantes e
miniplacas com revestimento à base de vidro bioativo via
oxidação por plasma eletrolítico na otimização do reparo
ósseo em ratos diabéticos**

**Araçatuba
2023**

STÉFANY BARBOSA

**Avaliação do potencial osteoindutor de implantes e
miniplacas com revestimento à base de vidro bioativo via
oxidação por plasma eletrolítico na otimização do reparo
ósseo em ratos diabéticos**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Associado Leonardo Perez Faverani

**Araçatuba
2023**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B238a Barbosa, Stéfany.
Avaliação do potencial osteoindutor de implantes e
miniplacas com revestimento à base de vidro bioativo
via oxidação por plasma eletrolítico na otimização do
reparo ósseo em ratos diabéticos / Stéfany Barbosa. –
Araçatuba, 2023
59 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Leonardo Perez Faverani

1. Regeneração óssea 2. Implantes dentários 3. Ma-
teriais biocompatíveis I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

*Aos meus pais, Maria Estela Bertechini Barbosa e
Fidelcino Barbosa que sempre me apoiaram em
todas as minhas escolhas.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** por me permitir concluir mais essa fase da minha vida acadêmica.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara e do Vice-Diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

Às agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (**CAPES**) – Código de Financiamento 001 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**) (Processo nº 2021/04001-8) pelo auxílio no formato de bolsa de pós-graduação.

Aos **meus pais** que sempre me apoiam em todas as minhas escolhas, que sempre entendem os momentos de ausência e que fazem o possível e impossível para me ver realizar os meus sonhos.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani**, por confiar no meu trabalho e estar sempre disponível para me ajudar. Sou muito grata de aprender todos os dias com você e pela amizade que estamos cultivando.

Aos professores da pós-graduação, que sempre estão ao nosso lado nos enchendo de conhecimento. Em especial, a **Prof. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi**, que tenho como exemplo de sabedoria, de cuidado com os pacientes e de profissional e ao **Prof. Dr. Edilson Ervolino**, que participou ativamente do desenvolvimento desse trabalho e pelo qual tenho um grande carinho.

Aos colegas da pós-graduação, em especial as minhas amigas **Mirela Caroline Silva, Ana Maira Pereira Baggio e Stefani Ferrioli**, que foram minhas parceiras desses dois anos e me garantiram vários momentos felizes.

Ao meu companheiro **Vitor Henrique Alves da Cruz**, que foi minha força em muitos momentos difíceis e que sempre está torcendo pela minha felicidade e sucesso. Amo você.

Ao colega **Raphael Cavalcante Costa** e ao **Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão**, por todo o auxílio neste trabalho, da idealização até o seu desenvolvimento. Sou muito grata a vocês.

A **todos os funcionários da FOA-UNESP** que trabalham com muito carinho para que a faculdade funcione perfeitamente.

Aos **animais**, por doarem sua vida em prol a ciência e permitirem assim, melhorar condições de saúde a várias pessoas.

BARBOSA, S. **Avaliação do potencial osteoindutor de implantes e miniplacas com revestimento à base de vidro bioativo via oxidação por plasma eletrolítico na otimização do reparo ósseo em ratos diabéticos**. 2023. 59 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

Diante dos efeitos promissores do biovidro no reparo ósseo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade osteoindutora do revestimento vidro bioativo sintetizado via oxidação por plasma eletrolítico na neoformação óssea de ratos diabéticos. Para isso, implantes de titânio comercialmente puro (Ticp) foram revestidos por PEO-BG (~ 45.0 Si, 24.5 Ca, 24.5 Na, 6.0 P; m/v %) via PEO (500 V, 1000 Hz, ciclo de trabalho de 10%, 420 s). Inicialmente, caracterizações de superfície foram conduzidas para confirmar a topografia (Microscopia Confocal de Varredura à Laser – CLSM), composição química (Espectroscopia de Energia Dispersiva – EDS) e propriedades físico-químicas (Perfilometria e Molhabilidade) das amostras. Em seguida, o estudo *in vivo* foi conduzido utilizando ratos Wistar (n = 27) e um protocolo de indução da diabetes mellitus pela administração de estreptozotocina (35mg/kg) foi empregado. Após 30 dias, os animais foram aleatoriamente distribuídos para passar por cirurgia de instalação de implantes osseointegráveis ou para confecção de fraturas femorais seguida da fixação com miniplacas do sistema 1.5mm. Os grupos experimentais consistiram em: Implante com superfície comercialmente disponível de jateamento de zircônia seguida de duplo ataque ácido (grupo **ZrAC**) e implante tratado por PEO-BG (grupo **PEO-BG/Implante**) e para as placas, foram utilizadas placas convencionalmente comercializadas, com superfície apenas usinada (grupo **CONV**) e placas tratadas por PEO-BG (Grupo **PEO-BG/Placa**). Nos períodos de 14 e 28 dias pós-operatórios, os animais foram submetidos a eutanásia e processamento laboratorial para análise histométrica e imunoistoquímica (BMP-2, OPG, RANKL e OCN), considerando o nível de significância de $p < 0,05$ para a análise estatística. As caracterizações topográficas demonstraram que o revestimento PEO-BG foi reproduzido com sucesso, ocorrendo a efetiva incorporação dos elementos do biovidro, além de formação de uma superfície com inúmeras rugosidades, alta molhabilidade e maior área de superfície disponível. Com relação aos resultados, faz-se necessário esclarecer que em decorrência da condição de diabetes mellitus ao qual

todos os animais foram submetidos, houve uma alta incidência de infecção nos locais cirúrgicos nos períodos pós-operatórios, mesmo sem ocorrer deiscência de sutura e presença de contaminantes externos, com isso, as amostras de placas foram fortemente afetadas pela infecção e não apresentaram reparo tecidual. Dessa forma, não foi possível considerar tais amostras na análise e, portanto, os pontos positivos aqui elencados fazem referência apenas as amostras do estudo desenvolvido com implantes. A redução da densidade óssea mineral em decorrência da Diabetes experimentalmente induzida foi comprovada a partir da análise biomecânica, onde os animais diabéticos apresentaram valores de rigidez e de força máxima significativamente menores que os animais saudáveis ($p < 0,05$). Os resultados referentes aos implantes demonstraram maior área de osso neoformado e maior área de contato osso-implante para o grupo PEO-BG em ambos os períodos pós-operatórios (14 e 28 dias) ($p < 0,05$), com perfil inflamatório compatível com as fases do reparo tecidual. As expressões de BMP-2, RANKL, OPG e OCN corroboraram com os resultados de formação óssea e reforçaram o entendimento de que PEO-BG otimizou o reparo ósseo periimplantar. Dessa forma, o revestimento de PEO-BG apresentou efetivamente uma atividade osteoindutora e atuou melhorando as condições de reparo ósseo periimplantar, o que por sua vez tem grande potencial para favorecer a osseointegração dos implantes.

Palavras-chave: Regeneração óssea. Implantes dentários. Materiais biocompatíveis.

BARBOSA, S. Evaluation of the osteoinductive potential of implants and miniplates coated with bioactive glass via electrolytic plasma oxidation in optimizing bone repair in diabetic rats. 2023. 59 f. Dissertation (Master's) – Faculty of Dentistry, São Paulo State University, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Given the promising effects of bioglass on bone repair, this study aimed to evaluate the osteoinductive potential of the PEO-BG coating synthesized via oxidation by electrolytic plasma on new bone formation in diabetic rats. For this, implants of commercially pure titanium (TiCP) were coated with PEO-BG (~ 45.0 Si, 24.5 Ca, 24.5 Na, 6.0 P; m/v %) via PEO (500 V, 1000 Hz, duty cycle of 10 %, 420 sec). Initially, surface characterizations were conducted to confirm the topography (Confocal Laser Scanning Microscopy – CLSM), chemical composition (Energy Dispersive Spectroscopy – EDS) and physical-chemical properties (Prophylometry and Wettability) of the samples. Then, the in vivo study was conducted using Wistar rats (n = 27) and a protocol of induction of diabetes mellitus by administering streptozotocin (35mg/kg) was applied. After 30 days, the animals were randomly assigned to undergo surgery to implants placement or create femoral fractures, followed by fixation with miniplates of the 1.5mm system. The experimental groups were: Implant with commercially available surface of zirconia blasting followed by double acid etching (ZrAC group) and implant treated with PEO-BG (PEO-BG/Implant group) and for the plates, conventionally commercialized plates were used, with only machined surface (CONV group) and PEO-BG treated surface (PEO-BG/Plate group). At 14 and 28 postoperative days, the animals were euthanized and the samples were lab processing for histometric and immunohistochemical (BMP-2, OPG, RANKL, and OCN) analysis, considering the level of significance of $p < 0.05$ for the statistical analysis. The topographical characterizations demonstrated that the PEO-BG coating was successfully reproduced, with the effective incorporation of the bioglass elements, in addition to the formation of a surface with numerous roughness, high wettability and greater available surface area. Regarding the results, it is necessary to clarify that due to the condition of diabetes mellitus to which all the animals were submitted, there was a high incidence of infection in the surgical sites in the postoperative periods, even without suture dehiscence and the presence of external contaminants. Therefore, the plate samples were strongly affected by the infection and did not show tissue repair.

Thus, it was not possible to consider such samples in the analysis and the positive points listed here refer only to samples from the study developed with implants. The decreasing in mineral bone density as a result of experimentally induced diabetes was proven from the biomechanical analysis, where diabetic animals had lower values of stiffness and maximum strength significantly compared to healthy animals ($P < 0.05$). The implants data showed a greater newly formed bone and bone-implant contact for the PEO-BG group in both postoperative periods (14 and 28 days) ($P < 0.05$), with an inflammatory profile compatible with the stages of tissue repair. BMP-2, RANKL, OPG and OCN immunolabeling corroborated the bone formation results and reinforced the understanding that PEO-BG optimized peri-implant bone repair. Microtomographic analysis demonstrated a significantly superior bone volume and percentage pattern for PEO-BG, as well as superior bone quality parameters. Thus, the PEO-BG coating effectively presented an osteoinductive activity and acted to improve the conditions of peri-implant bone repair, which it has great potential to favor the osseointegration of implants.

Keywords: Bone regeneration. Dental implants. Biocompatible materials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Demonstração macroscópica (A) e microscópica (B) da ação do perfilômetro durante a análise da rugosidade de um disco representante de uma das superfícies utilizadas neste estudo	20
Figura 2 - Goniômetro utilizado para as análises de molhabilidade e energia livre de superfície (A), sendo demonstrado a ponteira responsável pela aplicação da gota na superfície do disco testado (B) e a imagem capturada pelo programa após a mensuração dos ângulos formados (C).....	20
Figura 3 - Representação clínica do procedimento de aplicação de estreptozotocina via veia peniana.....	22
Figura 4 -Imagem representativa do posicionamento da amostra óssea e da célula de carga utilizada para aplicação de força vertical	23
Figura 5 - Figura 5 - Etapas cirúrgicas do procedimento de instalação de implantes. (A) Incisão de 1,5 cm de comprimento para acesso cirúrgico à metáfise tibial. (B) Exposição da musculatura sobreposta a metáfise tibial. (C) Metáfise tibial exposta. (D) Preparo do leito ósseo. (E) Instalação dos implantes com rosqueamento digital (demonstrado com implante do grupo ZrAC). (F) Representação do posicionamento final do implante bicorticalizado (demonstrado com implante do grupo PEO-BG).....	25
Figura 6 - Etapas para confecção de fraturas femorais, osteossíntese com instalação de miniplacas . (A) Realização de incisão na porção lateral do fêmur. (B) Localização da divisão anatômica entre os músculos lateral e bíceps do fêmur, servindo como referência para divulsão tecidual. (C) Fêmur exposto após divulsão. (D) Perfuração para instalação de parafusos. (E) Placa fixada com 4 parafusos bicorticais. (F) Simulação da fratura com disco circular. (G) Aspecto final da fratura. (H) Sutura – realizada por planos	26
Figura 7 - Imagens representativas dos resultados de caracterização topográfica das amostras das três superfícies utilizadas no estudo. (A) Imagens bidimensionais da análise de CLSM em magnitude de 20x. (B) Imagens tridimensionais de CLSM em magnitude de 50x. (C) Mapa de cores da proporção atômica dos componentes presentes na superfície. (D) Valores de rugosidade dos grupos experimentais. (E) Representação gráfica dos valores de ângulo de contato com a água.....	32
Figura 8 - Imagens gráficas referentes aos resultados da análise biomecânica de caracterização do tecido ósseo dos animais diabéticos em comparação com animais	

saudáveis, através da utilização de tíbias e fêmures não operados. (A) Resultados de rigidez para fêmures. (B) Resultado de rigidez das tíbias. (C) Força máxima para os fêmures. (D) Força máxima para as tíbias. A diferença estatística foi representada pelo símbolo pelo asterisco (*)	33
Figura 9 - Imagens referentes a análise histológica das amostras de implantes instalados em tíbias. (A) Fotomicrografias representativas em magnitudes de 10x, 40x e 100x, respectivamente. (B) Valores de área de osso neoformado para os grupos experimentais. (C) Representação gráfica da contagem de células inflamatórias. (D) Representação gráfica de contagem de vasos sanguíneos.....	35
Figura 10 - Figuras representativas da análise imunoistoquímica. (A) Fotomicrografias das regiões de espiras com imunomarcação das respectivas proteínas. (B) Valores de imunomarcação de BMP-2. (C) Valores de imunomarcação de OPG. (D) Valores de imunomarcação de RANKL. (E) Valores de imunomarcação de OCN.....	36
Figura 11 - Imagens referentes a análise microtomográfica. (A) Representação tridimensional da área óssea ao redor do implante. (B) Representação gráfica dos valores de volume ósseo (BV). (C) Representação gráfica da porcentagem de volume ósseo (BV/TV). (D) Representação gráfica dos valores de espessura do trabeculado ósseo (Tb.Th). (E) Representação gráfica de separação das trabéculas ósseas. (F) Representação gráfica do número de trabéculas (Tb.N).....	38
Figura 12 - Representação da análise histológica para miniplacas de titânio. (A) e (B) Fotomicrografias representativas da análise das placas nas magnitudes de 4x, 10x, 40x e 100x, sendo possível verificar regiões de maiores infiltrados inflamatórios, regiões de necrose tecidual e ausência de reparo ósseo. (B) Representação gráfica da contagem de células inflamatórias. (C) Representação gráfica da quantidade de vasos sanguíneos.....	40
Figura 13 - Figuras representativas da análise imunoistoquímica. (A) Fotomicrografias das regiões de espiras com imunomarcação das respectivas proteínas. (B) Valores de imunomarcação de BMP-2. (C) Valores de imunomarcação de OPG. (D) Valores de imunomarcação de RANKL. (E) Valores de imunomarcação de OCN.....	41
Figura 14 - Imagem tridimensional representativa do aspecto observado nas amostras de fêmures para os grupos CONV e PEO-BG, obtido através da microtomografia computadorizada.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMP-2	Proteína óssea morfogenética recombinante humana do tipo 2
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CLSM	Microscopia Confocal de Varredura a Laser 3D
CONV	Superfície usinada comercialmente disponível
cpTi	Superfície de titânio comercialmente puro
OCN	Osteocalcina
OPG	Osteopontina
PEO	Revestimento de superfície por oxidação por plasma eletrolítico
PEO-BG	Revestimento de superfície à base de vidro bioativo por oxidação por plasma eletrolítico
RANKL	Ativador do receptor do ligante do fator nuclear kappa-B ligante
ZrAC	Superfície comercialmente disponível de jateamento de zircônia e duplo ataque ácido

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1 Texturização de superfície das amostras	18
3.1.1 Revestimento à base de vidro bioativo por oxidação por plasma eletrolítico ...	18
3.2 Caracterizações de superfície.....	19
3.2.1 Microscopia Confocal de Varredura a Laser 3D (CLSM).....	19
3.2.2 Perfilometria (rugosidade de superfície).....	19
3.2.3 Molhabilidade e energia livre de superfície	20
3.2.4 Espectroscopia de energia dispersiva.....	21
3.3 Desenho experimental do modelo animal	21
3.3.1 Indução de diabetes mellitus em ratos Wistar	22
3.3.1.1 Análise biomecânica (Teste de Flexão de três pontos)	23
3.3.2 Cirurgia de instalação de implantes em tíbia.....	24
3.3.3 Cirurgia de confecção de fraturas femorais e osteossíntese com instalação de miniplacas	25
3.4 Suspensão pela cauda	27
3.5 Métodos de análise.....	28
4 ANÁLISE DE TECIDOS DESCALCIFICADOS.....	28
4.1 Análise histológica	28
4.2 Análise Imunoistoquímica.....	29
5 ANÁLISE DE TECIDOS CALCIFICADOS	30
5.1 Microtomografia Computadorizada (Micro-Ct)	30
6 RESULTADOS	32
6.1 Caracterização topográfica	32
6.1.1 Microscopia Confocal de Varredura a Laser 3D (CLSM).....	32
6.1.2 Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)	32
6.1.3 Rugosidade de superfície.....	33
6.1.4 Ângulo de contato – água.....	33
6.2 Estudo in vivo	34
6.2.1 Análise comprobatória de redução da DMO – Biomecânica	34
6.3 – Estudo de osseointegração – IMPLANTES.....	35
6.3.1 Análise histológica.....	35

6.3.2 Análise imunoistoquímica.....	37
6.3.3 Análise microtomográfica	38
6.4 Estudo de reparo ósseo – PLACAS	40
6.4.1 Análise histológica.....	40
6.4.2 Análise imunoistoquímica.....	41
6.4.3 Análise microtomográfica	43
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO

A reparação óssea é um procedimento complexo que demanda de interações celulares, disponibilidade de citocinas, matriz osteocondutora e de um bom suprimento vascular para que ocorra adequadamente (1). Nesse contexto, implantodontistas e cirurgiões bucomaxilofaciais podem encontrar dificuldades em reabilitações orais e no tratamento de fraturas (2–4). Similarmente, os médicos ortopedistas também compartilham este desafio terapêutico, especialmente em situações de pacientes politraumatizados, em que condições inerentes ao trauma como magnitude, direção e tipo de força aplicada podem ter implicações diretas no prognóstico (1,5). A somatória de todos esses fatores aumenta as chances de perda de implantes, infecção pós-fixação de fraturas e má consolidação óssea. Além da elevação dos custos dos procedimentos, aumento do tempo de internação e maior morbidade ao paciente (6–9).

Na literatura, também é bem estabelecido que alguns fatores locais do hospedeiro podem interferir diretamente na qualidade do tratamento como a qualidade óssea, localização anatômica, presença de infecções locais e até mesmo a influência de alguns protocolos terapêuticos sistêmicos, como as medicações antirreabsortivas (10–12). Além destes fatores, é importante destacar que alterações sistêmicas como a diabetes mellitus, artrite reumatoide, desnutrição, anemia, hipovitaminoses, osteopenia, osteoporose e anemia podem influenciar negativamente no reparo ósseo (12–14).

Dentre as condições sistêmicas mencionadas, a diabetes mellitus é uma doença que afeta o metabolismo ósseo diretamente, modificando a expressão gênica associada à atividade dos osteoblastos e inibindo a maturação e metabolismo de células tronco mesenquimais. Em adição, a diabetes ocasiona uma redução nos níveis de Vitamina D e consequente aumento na liberação de Paratormônio (PTH), o que estimula a atividade osteoclastogênica e aumenta o risco de fraturas (15–17). Consequentemente, o paciente com diabetes apresenta uma inflamação tecidual crônica e dificuldade de cicatrização generalizada, apresentando uma qualidade óssea ruim e baixa renovação do tecido ósseo. Desta forma, a diabetes é uma condição desafiadora para a instalação de implantes osseointegráveis e fixação de fraturas com miniplacas/placas (12,18,19).

Para tentar superar este problema e aumentar a sobrevida dos tratamentos, estratégias terapêuticas visando aprimorar o processo de reparação óssea em pacientes portadores de diabetes mellitus vem sendo amplamente investigado na área biomédica. Dentre as possíveis estratégias, os revestimentos de superfície têm sido amplamente investigados em diferentes sistemas de implantes e componentes protéticos e, recentemente, também em miniplacas de Ti (20). De maneira geral, os revestimentos de superfícies são produzidos por diferentes métodos de síntese, demonstrando comportamento ósseo superior *in vitro*, quando comparado com superfícies usinadas (sem tratamento) (21–23). Estes achados são atribuídos as melhores propriedades mecânicas, físico-químicas e resistência à corrosão, sendo importantes características quando se visa a neoformação óssea em condições desafiadoras como no cenário da diabetes (22,24,25).

Dentre as inúmeras técnicas de revestimento existentes, a oxidação por plasma eletrolítico (PEO) (26,27) tem sido empregada pelo nosso grupo (20,28–30) e por outros (31–33), como uma via para aumentar o potencial de osseointegração de dispositivos biomédicos implantáveis. Conceitualmente, o PEO é um método simples de processos eletroquímicos de oxidação que permite a formação de topografias complexas (em escala μm), modificando as propriedades superfícies do material (rugosidade, molhabilidade, energia livre de superfície e/ou camada de óxido). Em termos de reparo ósseo, estudos *in vitro* têm evidenciado que a complexa topografia dos revestimentos de PEO proporcionam uma maior área de superfície de contato, consequentemente, favorecem uma melhor interação de proteínas e células humanas com a superfície experimental (34,35). Este mecanismo foi também testado *in vivo*, demonstrando que superfícies tratadas com PEO, de fato, aumentam a área de contato entre osso/implante, acelerando o reparo tecidual e promovendo uma maior área de osso neoformado em fraturas femorais, quando comparado a superfícies comercialmente disponíveis (20,28,30). Ainda, o PEO é um método eficiente para incorporar também elementos bioativos visando potencializar os efeitos benéficos obtidos por meio das modificações de superfície.

Nesta perspectiva, o estudo prévio de Costa et al. (2020) desenvolveu e caracterizou, pela primeira vez na literatura, um revestimento para implantes dentários bioinspirado na composição do biovidro 45S5-bioglass®. Esse revestimento (PEO-BG) foi produzido por PEO sobre a superfície de discos de Ti utilizando agentes

precursores do 45S5-bioglass® em solução eletrolítica (SiO_2 , CaO , Na_2O , P_2O_5). O PEO-BG mostrou ser altamente aderente ao substrato, com alta resistência à corrosão e ao desgaste tribológico, importantes características anteriormente não atingidas por outros métodos de deposição. Além disso, PEO-BG apresenta biocompatibilidade com células humanas e mecanismos biológicos *in vitro* semelhantes ao 45S5-bioglass®. Em síntese, os efeitos biológicos são baseados na lixiviação de íons bioativos (Si, Ca, P e Na) do PEO-BG, que leva ao aumento do pH do meio e, consequentemente, a precipitação mais rápida de uma camada de apatita e a maior adsorção de proteínas do plasma sanguíneo. Portanto, o PEO-BG possui características positivas e superiores para osseointegração e neoformação óssea (36), quando comparado com superfícies controle: maquinada ou comercial (jateamento de alumínio seguido de ataque ácido; SLA).

Assim, tendo em vista os excelentes resultados encontrados *in vitro*, para confirmar que a superfície PEO-BG desenvolvida é promissora para aplicações biomédicas, é de suma importância avaliar o desempenho deste revestimento em modelos animais capazes de captar todo o espectro de interações com o hospedeiro e comprovar a possível estimulação de células osteogênicas para a produção de matriz óssea *in vivo*. Além disso, foi hipotetizado (36) que o PEO-BG poderia promover habilidades osteoindutivas e osteocondutivas devido ao mecanismo de liberação iônica, o que ainda não havia sido estudado considerando amostras de implantes dentários e miniplacas em situações críticas de reparo ósseo, como o que foi simulado pelo uso de modelo animal diabético como desenvolvido neste estudo.

7 CONCLUSÃO

A partir desta investigação *in vivo*, foi possível concluir que o revestimento de oxidação por plasma eletrolítico à base de vidro bioativo apresentou potencial osteoindutivo, o que aumentou de forma significativa os parâmetros do reparo ósseo periimplantar na tíbia de ratos com diabetes mellitus experimentalmente induzida.

REFERÊNCIAS

1. Gómez-Barrena E, Rosset P, Lozano D, Stanovici J, Ermthaller C, Gerbhard F. Bone fracture healing: cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*. 2015 Jan;70:93–101.
2. Snauwaert K, Duyck J, van Steenberghe D, Quirynen M, Naert I. Time dependent failure rate and marginal bone loss of implant supported prostheses: a 15-year follow-up study. *Clin Oral Investig*. 2000 Mar;4(1):13–20.
3. Chukwulebe S, Hogrefe C. The Diagnosis and Management of Facial Bone Fractures. *Emerg Med Clin North Am*. 2019;37(1):137–51.
4. Ayoub A, Al-Fotawei R. Biomaterials in the Reconstruction of the Oral and Maxillofacial Region. *Front Oral Biol*. 2015;17:101–14.
5. Liedert A, Kaspar D, Augat P, Ignatius A, Claes L. Mechanobiology of Bone Tissue and Bone Cells. In: Kamkin A, Kiseleva I, editors. Moscow; 2005.
6. Morgenstern M, Erichsen C, von Rüden C, Metsemakers WJ, Kates SL, Moriarty TF, et al. Staphylococcal orthopaedic device-related infections in older patients. *Injury*. 2016;47(7):1427–34.
7. Tschudin-Sutter S, Frei R, Dangel M, Jakob M, Balmelli C, Schaefer DJ, et al. Validation of a treatment algorithm for orthopaedic implant-related infections with device-retention—results from a prospective observational cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016;22(5):457.e1-457.e9.
8. Manchanda K, Nakonezny P, Sathy AK, Sanders DT, Starr AJ, Wukich DK. A systematic review of ankle fracture treatment modalities in diabetic patients. *J Clin Orthop Trauma*. 2021;16:7–15.
9. Kempegowda H, Richard R, Borade A, Tawari A, Graham J, Suk M, et al. Obesity Is Associated With High Perioperative Complications Among Surgically Treated Intertrochanteric Fracture of the Femur. *J Orthop Trauma*. 2017 Jul;31(7):352–7.
10. Lang LA, Hansen SE, Olvera N, Teich S. A comparison of implant complications and failures between the maxilla and the mandible. *J Prosthet Dent* [Internet]. 2019;121(4):611–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022391318305912>
11. Chappuis V, Avila-Ortiz G, Araújo MG, Monje A. Medication-related dental implant failure: Systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Oct;29 Suppl 1:55–68.
12. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol*. 2012 Jan;8(3):133–43.
13. Karlamangla AS, Burnett-Bowie SAM, Crandall CJ. Bone Health During the Menopause Transition and Beyond. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018 Dec;45(4):695–708.
14. Lupsa BC, Insogna K. Bone Health and Osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2015 Sep;44(3):517–30.
15. Murray CE, Coleman CM. Impact of Diabetes Mellitus on Bone Health. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep;20(19).

16. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep*. 2015 Oct;13(5):327–35.
17. Martins JM, Aranha P. Abnormal Mineral Metabolism in Diabetic Patients -Relevance to Micro and Macrovascular Disease and to Bone Metabolic Disorder. *J Diabetes Treat*. 2018;142.
18. Ajami E, Mahno E, Mendes VC, Bell S, Moineddin R, Davies JE. Bone healing and the effect of implant surface topography on osteoconduction in hyperglycemia. *Acta Biomater* [Internet]. 2014;10(1):394–405. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706113004807>
19. Kanazawa I, Sugimoto T. Diabetes Mellitus-induced Bone Fragility. *Intern Med*. 2018 Oct;57(19):2773–85.
20. Momesso GAC, Polo TOB, da Silva WPP, Barbosa S, Freitas GP, Lopes HB, et al. Miniplates coated by plasma electrolytic oxidation improve bone healing of simulated femoral fractures on low bone mineral density rats. *Materials Science and Engineering: C* [Internet]. 2021;120:111775. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493120336948>
21. Pellegrini G, Francetti L, Barbaro B, del Fabbro M. Novel surfaces and osseointegration in implant dentistry. *J Investig Clin Dent*. 2018 Nov;9(4):e12349.
22. Jemat A, Ghazali MJ, Razali M, Otsuka Y. Surface Modifications and Their Effects on Titanium Dental Implants. *Biomed Res Int*. 2015;2015:791725.
23. Oliveira N, Guastaldi F, Perrotti V, Hochuli-Vieira E, Guastaldi AC, Piattelli A, et al. Biomedical Ti-Mo alloys with surface machined and modified by laser beam: biomechanical, histological, and histometric analysis in rabbits. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2013;15 3:427–37.
24. Hatamleh MM, Wu X, Alnazzawi A, Watson J, Watts D. Surface characteristics and biocompatibility of cranioplasty titanium implants following different surface treatments. *Dental Materials* [Internet]. 2018;34(4):676–83. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564118300423>
25. de Bruyn H, Christiaens V, Doornewaard R, Jacobsson M, Cosyn J, Jacquet W, et al. Implant surface roughness and patient factors on long-term peri-implant bone loss. *Periodontol 2000*. 2017 Feb;73(1):218–27.
26. Walsh FC, Low CTJ, Wood RJK, Stevens KT, Archer J, Poeton AR, et al. Plasma electrolytic oxidation (PEO) for production of anodised coatings on lightweight metal (Al, Mg, Ti) alloys. *Transactions of the IMF*. 2009;87(3):122–35.
27. Akatsu T, Yamada Y, Hoshikawa Y, Onoki T, Shinoda Y, Wakai F. Multifunctional porous titanium oxide coating with apatite forming ability and photocatalytic activity on a titanium substrate formed by plasma electrolytic oxidation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2013 Dec;33(8):4871–5.
28. Polo TOB, Silva WPP, Momesso GAC, Lima-Neto TJ, Barbosa S, Cordeiro JM, et al. Plasma Electrolytic Oxidation as a Feasible Surface Treatment for Biomedical Applications: an in vivo study. *Sci Rep*. 2020 Jun;10(1):10000.
29. Polo TOB, Momesso GAC, Silva WPP, de Souza Santos AM, Fonseca-Santos JM, da Cruz NC, et al. Is an anodizing coating associated to the photobiomodulation able to

- optimize bone healing in ovariectomized animal model? J Photochem Photobiol B [Internet]. 2021;217:112167. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134421000452>
30. Momesso GAC, Santos AM de S, Fonseca E Santos JM, da Cruz NC, Okamoto R, Barão VAR, et al. Comparison between Plasma Electrolytic Oxidation Coating and Sandblasted Acid-Etched Surface Treatment: Histometric, Tomographic, and Expression Levels of Osteoclastogenic Factors in Osteoporotic Rats. *Materials (Basel)*. 2020 Apr;13(7).
 31. Echeverry-Rendón M, Galvis O, Aguirre R, Robledo S, Castaño JG, Echeverría F. Modification of titanium alloys surface properties by plasma electrolytic oxidation (PEO) and influence on biological response. *J Mater Sci Mater Med*. 2017 Sep;28(11):169.
 32. He J, Feng W, Zhao BH, Zhang W, Lin Z. In Vivo Effect of Titanium Implants with Porous Zinc-Containing Coatings Prepared by Plasma Electrolytic Oxidation Method on Osseointegration in Rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018;33(2):298–310.
 33. Klein M, Kuhn Y, Woelke E, Linde T, Ptock C, Kopp A, et al. In vitro study on the hemocompatibility of plasma electrolytic oxidation coatings on titanium substrates. *Artif Organs*. 2020 Apr;44(4):419–27.
 34. Zhou K, Xie F, Wu X, Wang S. Fabrication of High Temperature Oxidation Resistance Nanocomposite Coatings on PEO Treated TC21 Alloy. *Materials (Basel)*. 2019 Dec;13(1).
 35. Laurindo CAH, Torres RD, Mali SA, Gilbert JL, Soares P. Incorporation of Ca and P on anodized titanium surface: Effect of high current density. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014 Apr;37:223–31.
 36. Costa RC, Souza JGS, Cordeiro JM, Bertolini M, de Avila ED, Landers R, et al. Synthesis of bioactive glass-based coating by plasma electrolytic oxidation: Untangling a new deposition pathway toward titanium implant surfaces. *J Colloid Interface Sci* [Internet]. 2020;579:680–98. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002197972030847X>
 37. Glösel B, Kuchler U, Watzek G, Gruber R. Review of dental implant rat research models simulating osteoporosis or diabetes. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2010;25(3):516–24.
 38. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2020 Aug 1;177(16):3617–24. Available from: <https://doi.org/10.1111/bph.15193>
 39. Silva AV da, Volpon JB. Modelo de suspensão pela cauda e seu efeito em algumas propriedades mecânicas do osso do rato . Vol. 12, *Acta Ortopédica Brasileira* . scielo ; 2004. p. 22–31.
 40. Fan GY, Cherg JH, Chang SJ, Poongodi R, Wang CH, Wang YW, et al. Severe Burn Injury in a Swine Model for Clinical Dressing Assessment. *J Vis Exp*. 2018 Nov;(141).
 41. Hassumi JS, Mulinari-Santos G, Fabris AL da S, Jacob RGM, Gonçalves A, Rossi AC, et al. Alveolar bone healing in rats: micro-CT, immunohistochemical and molecular analysis. *J Appl Oral Sci*. 2018 Jun;26:e20170326.

42. Fabris AL da S, Mulinari-Santos G, Hassumi JS, Freire AR, Faverani LP, Gruber R, et al. Morphometric and histologic characterization of alveolar bone from hypertensive patients. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017 Dec;19(6):1106–13.
43. Bonardi JP, Pereira R dos S, Boos Lima FBDJ, Faverani LP, Griza GL, Okamoto R, et al. Prospective and Randomized Evaluation of ChronOS and Bio-Oss in Human Maxillary Sinuses: Histomorphometric and Immunohistochemical Assignment for Runx 2, Vascular Endothelial Growth Factor, and Osteocalcin. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2018;76(2):325–35.
44. Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Momesso GAC, Luvizuto ER, de Oliveira Puttini I, Okamoto R. Effect of antiresorptive drugs in the alveolar bone healing. A histometric and immunohistochemical study in ovariectomized rats. *Clin Oral Investig*. 2017 Jun;21(5):1485–94.
45. Farnezi Bassi AP, Bizelli VF, Brasil LF de M, Pereira JC, Al-Sharani HM, Momesso GAC, et al. Is the Bacterial Cellulose Membrane Feasible for Osteopromotive Property? *Membranes (Basel)*. 2020 Sep;10(9).
46. 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.
47. Benetti F, Briso ALF, de Araújo Lopes JM, Carminatti M, Conti LC, Gallinari MO, et al. In vivo analysis of the presence of heme oxygenase-1, transcription factor Jun-D and CD90+/CD73+/CD105+/CD45- cells in the pulp of bleached teeth. *Int Endod J*. 2019 Dec;52(12):1723–37.
48. Cintra LTA, Benetti F, Ferreira LL, Rahal V, Ervolino E, Jacinto R de C, et al. Evaluation of an experimental rat model for comparative studies of bleaching agents . Vol. 24, *Journal of Applied Oral Science* . scielo ; 2016. p. 95–104.
49. Pedrosa WFJ, Okamoto R, Faria PEP, Arnez MFM, Xavier SP, Salata LA. Immunohistochemical, tomographic and histological study on onlay bone graft remodeling. Part II: calvarial bone. *Clin Oral Implants Res*. 2009 Nov;20(11):1254–64.
50. Manrique N, Pereira CCS, Luvizuto ER, Sánchez MDPR, Okamoto T, Okamoto R, et al. Hypertension modifies OPG, RANK, and RANKL expression during the dental socket bone healing process in spontaneously hypertensive rats. *Clin Oral Investig*. 2015 Jul;19(6):1319–27.
51. Marques I da SV, da Cruz NC, Landers R, Yuan JCC, Mesquita MF, Sukotjo C, et al. Incorporation of Ca, P, and Si on bioactive coatings produced by plasma electrolytic oxidation: The role of electrolyte concentration and treatment duration. *Biointerphases [Internet]*. 2015;10(4):41002. Available from: <https://doi.org/10.1116/1.4932579>
52. da Silva Vieira Marques I, Barão VAR, da Cruz NC, Yuan JCC, Mesquita MF, Ricomini-Filho AP, et al. Electrochemical behavior of bioactive coatings on cp-Ti surface for dental application. *Corros Sci [Internet]*. 2015;100:133–46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010938X15300160>
53. Liu J, Mohd Rafiq NB, Wong LM, Wang S. Surface Treatment and Bioinspired Coating for 3D-Printed Implants. *Front Chem [Internet]*. 2021 Nov 18;9:768007. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34869211>

54. Gouveia PF, Mesquita-Guimarães J, Galárraga-Vinueza ME, Souza JCM, Silva FS, Fredel MC, et al. In-vitro mechanical and biological evaluation of novel zirconia reinforced bioglass scaffolds for bone repair. *J Mech Behav Biomed Mater* [Internet]. 2021;114:104164. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616120307074>
55. Rohr N, Nebe JB, Schmidli F, Müller P, Weber M, Fischer H, et al. Influence of bioactive glass-coating of zirconia implant surfaces on human osteoblast behavior in vitro. *Dental Materials* [Internet]. 2019;35(6):862–70. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564118312867>
56. Pantulap U, Arango-Ospina M, Boccaccini AR. Bioactive glasses incorporating less-common ions to improve biological and physical properties. *J Mater Sci Mater Med* [Internet]. 2021 Dec 23;33(1):3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34940923>
57. Al-Harbi N, Mohammed H, Al-Hadeethi Y, Bakry AS, Umar A, Hussein MA, et al. Silica-Based Bioactive Glasses and Their Applications in Hard Tissue Regeneration: A Review. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 2021 Jan 20;14(2):75. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33498229>
58. Tanios M, Brickman B, Cage E, Abbas K, Smith C, Atallah M, et al. Diabetes and Impaired Fracture Healing: A Narrative Review of Recent Literature. *Curr Osteoporos Rep* [Internet]. 2022;20(5):229–39. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11914-022-00740-z>
59. Elamir Y, Gianakos AL, Lane JM, Sharma A, Grist WP, Liporace FA, et al. The Effects of Diabetes and Diabetic Medications on Bone Health. *J Orthop Trauma* [Internet]. 2020;34(3). Available from: https://journals.lww.com/jorthotrauma/Fulltext/2020/03000/The_Effects_of_Diabetes_and_Diabetic_Medications.14.aspx
60. Chrcanovic BR, Albrektsson T, Wennerberg A. Diabetes and Oral Implant Failure: A Systematic Review. *J Dent Res* [Internet]. 2014 Jun 13;93(9):859–67. Available from: <https://doi.org/10.1177/0022034514538820>