

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 02/02/2026.

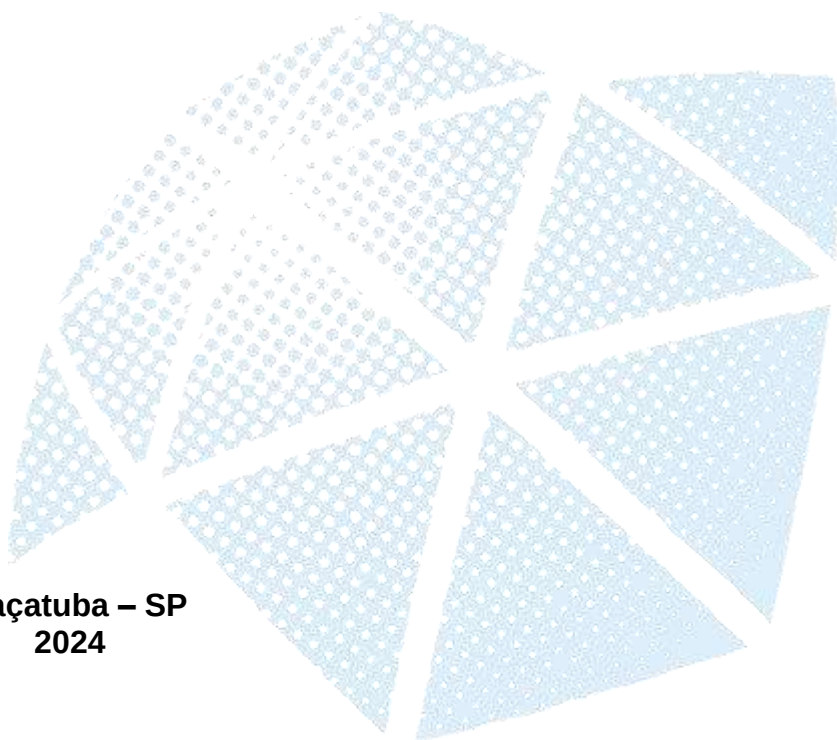


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

CAROLINE LIBERATO MARCHIOLLI

**Estudo da resposta biológica de uma superfície de titânio
revestida com odanacatib: análise de molhabilidade e
biocompatibilidade. Estudo in vitro e in vivo**

**Araçatuba – SP
2024**



CAROLINE LIBERATO MARCHIOLLI

**Estudo da resposta biológica de uma superfície de titânio
revestida com odanacatib: análise de molhabilidade e
biocompatibilidade. Estudo in vitro e in vivo**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista (Unesp), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

Orientador: Profº. Associado Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior

**Araçatuba – SP
2024**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

M317e Marchioli, Caroline Liberato.
Estudo da resposta biológica de uma superfície de
titânio revestida com odanacatib : análise de molhabilidade e biocompatibilidade. Estudo in vitro e in vivo /
Caroline Liberato Marchioli. - Araçatuba, 2024
68 f.: il.; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Idelmo Rangel Garcia Júnior

1. Osseointegração 2. Titânio 3. Catepsina K I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedicatória

Dedico este trabalho e todos os momentos importantes da minha vida, aos meus pais Ismael e Márcia. Obrigada pela educação, ética, respeito e amor que sempre tive como exemplo dentro e fora de casa. Obrigada por toda confiança e amor. E ao Bingo, Sushi, Amora, Nala, Bisteca e Logan, minhas fontes de amor.

*Agradecimentos
Especiais*

A **Deus**, neste momento de reflexão, quero expressar minha profunda gratidão por todas as bênçãos que tens derramado sobre a minha vida. Agradeço por cada respiração, por cada novo amanhecer e por todas as experiências que moldaram quem sou. Obrigada por estar sempre ao meu lado, guiando-me nos momentos difíceis e celebrando comigo nas alegrias. Reconheço a Tua bondade em cada detalhe da minha jornada, e sou grata pela graça que me é concedida diariamente. Que o meu coração permaneça aberto à Tua vontade, e que eu possa continuar a crescer em fé, amor e compaixão. Agradeço por seres o farol que ilumina o meu caminho.

Aos meus pais, **Ismael Marchioli e Marcia Marchioli**, a minha profunda gratidão a vocês. Agradeço do fundo do meu coração por todo o amor, apoio e sacrifício que têm dedicado à minha vida. Vocês são os alicerces da minha jornada, proporcionando-me orientação, encorajamento e segurança. Cada conselho, cada sorriso, e até mesmo cada desafio que enfrentamos juntos moldaram a pessoa que sou hoje. Agradeço por todos os esforços, sacrifícios e momentos de alegria compartilhados. Vocês são fontes inesgotáveis de amor e inspiração. Saibam que a vossa dedicação não passa despercebida e é infinitamente valorizada. Amo vocês mais do que as palavras podem expressar. Que a vida continue a nos presentear com momentos preciosos.

A minha avó, **Maria Dulcinea** e a minha madrinha, **Rita de Cássia**, minha profunda gratidão a duas mulheres extraordinárias que têm sido pilares fundamentais na minha vida. A minha Maria, sua sabedoria, carinho e paciência são fontes constantes de inspiração. Suas histórias e conselhos moldaram a minha visão de mundo, e sua presença é uma bênção que me enche de alegria. A minha tia/madrinha, agradeço por ser mais do que uma figura de apoio; você é minha guia e amiga. Seu apoio incondicional e amor constante são como uma luz

orientadora em minha vida, e sou imensamente grato por tê-la ao meu lado. Ambas desempenham papéis únicos e especiais na minha jornada, e cada momento compartilhado é um tesouro. Agradeço por todas as lições, risos e amor que têm dedicado a mim.

*A minha irmã, **Larissa Marchioli**, minha primeira e única melhor amiga, por todo companheirismo e amizade, por estar sempre por perto oferecendo o melhor ombro e abraço do mundo, sou grata a você e ao meu cunhado **Henry Mota**, por todo apoio dedicado.*

*Aos meus avós, **Arlindo Marchioli** (in memoriam) e **Aparecida Marchioli** (in memoriam). Jamais esquecerei daqueles que me deram amor e acreditaram em mim, vocês serão para sempre simbologia de um amor eterno.*

*Aos meus tios, **Leal** (in memoriam), **Iolanda**, **Marcus**, **Aparecida** e aos meus primos, **Marcelle**, **Gabriel**, **Rodrigo** e **Juliana**, por todo o amor, pela nossa união, pela nossa família, que mesmo distante consigo sentir o amor de vocês por perto*

*Ao meu orientador, **Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior**, minha sincera gratidão pela sua orientação e apoio ao longo deste período. Sua dedicação e expertise foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e profissional. Suas orientações perspicazes, paciência e encorajamento constante foram verdadeiramente inspiradores. Cada conversa e conselho foram como faróis que iluminaram o caminho do meu aprendizado, e sou imensamente grata por isso. Agradeço por investir seu tempo e esforço em meu desenvolvimento, por compartilhar seu conhecimento e por ser um guia excepcional. Sua contribuição fez toda a diferença em minha jornada acadêmica e deixará uma marca duradoura em minha carreira.*

*Ao **Prof. Dr. André Luis da Silva Fabris**, a medida que reflito sobre minha jornada acadêmica e pessoal, não posso deixar de expressar minha profunda gratidão a você. Sua presença na minha vida como professor e amigo tem sido uma bênção extraordinária. Seu comprometimento com o ensino vai além da sala de aula, transcende as fronteiras formais e cria um ambiente de aprendizado único. Sua paciência, compreensão e amizade transformaram não apenas a minha experiência educacional, mas também a minha perspectiva sobre a vida. Agradeço por cada conselho sábio, por cada momento compartilhado e por cada desafio superado juntos. Sua dualidade como educador e amigo tornou minha jornada mais rica, significativa e memorável. Que esta expressão de gratidão alcance você de maneira tão profunda quanto sua influência tem impactado a minha vida.*

*A **Prof. Dra. Roberta Okamoto**, minha profunda gratidão por sua dedicação e comprometimento conosco. Sua presença vai muito além da transmissão de conhecimento; é uma fonte de inspiração para seus alunos. Sua paixão pelo que faz reflete-se em cada lição, e sou verdadeiramente grata por ter tido a oportunidade de ser sua aluna, e conviver de perto. Agradeço por seu tempo, paciência e pelo impacto positivo. Suas orientações e conselhos moldaram todo meu trajeto e contribuíram significativamente para o meu crescimento. Que sua dedicação continue a influenciar positivamente nossas vidas, inspirando a busca pelo conhecimento e excelência.*

*A **Prof. Dra. Luciana Simonato**, encontrar em uma professora que também se tornou minha amiga é um privilégio raro e extraordinário. Quero dedicar um momento para expressar minha profunda gratidão por sua presença incrível na minha vida. Suas aulas foram mais do que fontes de conhecimento; foram momentos de inspiração, aprendizado e risos compartilhados. Sua capacidade de tornar o ambiente educacional não apenas informativo,*

mas também acolhedor, é verdadeiramente notável. Agradeço não apenas pelo que ensinou em sala de aula, mas também pela amizade genuína que compartilhamos. Seu apoio, orientação e conselhos têm sido inestimáveis, e sou verdadeiramente grata por ter uma professora que é também uma amiga tão incrível. Que esta relação especial continue a crescer e florescer. Obrigada por ser mais do que uma professora, por ser minha amiga e mentora.

*Ao **Prof. Dr. Francisley Avila de Souza** por ser a maior representação de um pai que temos por aqui. O senhor carrega todo o “bloco 5” em baixo dos braços como se realmente fossem seus filhos. Obrigada pelos inúmeros cafés, por se importar verdadeiramente com o nosso bem-estar, por todos conselhos e cuidado, por estar sempre disponível. Obrigada por toda colaboração, todo auxílio de todos do grupo do senhor, sempre foi muito importante. Muito obrigada, professor.*

*Ao **Dr. Atair Carvalho e Juarez Barcelos**, primeiramente por terem acreditado em mim como estagiária, todos os dias que estive com vocês foram de aprendizados. Agradeço a oportunidade e o privilégio. Lembro com carinho de todas as questões ou desafios superados de aprendizados vivenciados. Acredito que essa experiência moldou meu caráter e habilidades, preparando-me para os desafios futuros como Cirurgiã-dentista. Obrigada por serem uma figura inspiradora e por terem sido parte fundamental do meu início profissional. Jamais esqueço de vocês e de toda equipe.*

*Ao grupo de pesquisa: **Natália Sanches, Lara Cervantes, Sara Berton, Maria Cristina Ruiz e Estéfany do Prado**, gostaria de expressar minha profunda gratidão a cada um de vocês pelo incrível trabalho e dedicação que compartilhamos em nosso grupo. Trabalhar com pessoas tão talentosas e comprometidas tem sido uma experiência enriquecedora e*

recompensadora. Cada um de vocês trouxe uma vivência e experiência única, contribuindo para o sucesso e a qualidade de nossos projetos. A colaboração e o espírito de equipe que compartilhamos são verdadeiramente inspiradores. Agradeço por todos os esforços, ideias inovadoras e pela atmosfera positiva que criamos juntos. Cada desafio superado fortaleceu nossa união e resiliência como equipe de pesquisa. Que continuemos a trabalhar juntos, explorando novas fronteiras e alcançando resultados significativos. Sou verdadeiramente grata por fazer parte deste grupo excepcional.

*A, **Natalia Sanches**, mesmo à distância no momento, sua presença na minha vida é uma fonte constante de alegria e conforto. Minha profunda gratidão por ser uma amiga incrível, mesmo estando longe, nunca saiu verdadeiramente de perto. Obrigada por sua constante bondade, apoio e amor. Sinto sua presença de maneira significativa em cada mensagem, ligação e pensamento compartilhado. Obrigada por sua lealdade, compreensão e por ser alguém em quem posso confiar, independentemente do lugar ou situação que nos separa. Sua amizade é luz em meus dias e uma prova de que as verdadeiras amizades superam qualquer barreira, é um presente. Que a vida nos reserve oportunidades e situações para nos reunirmos. Até lá, agradeço por cada momento compartilhado e por continuar a ser essa amiga maravilhosa. Saudades todos os dias, minha eterna dupla dinâmica.*

*À **Lara Cervantes**, minha “irmã mais velha”, por me receber tão bem, por toda oportunidade acadêmica e clínica, por toda amizade que construímos. Obrigada por sempre ser receptiva, por orientar e aconselhar pensando sempre no melhor. Por me receber tão bem junto à sua família. Obrigada por confiar em mim. Estarei sempre disponível*

*Aos amigos que fiz na pós-graduação e a todos colegas da **CTBMF/FOA** por*

*partilharem momentos, festividades, suporte e responsabilidades. Em especial: **Pedro Chaves, Izabella Sol, Paulo Matheus, Melissa Murai, Luiz Guilherme Fiorin, Harisson Valeriano, Barbara Rios, Anderson Santos, Laís Kawamata, Beethoven Costa** e a todos os alunos do grupo do **Prof. Francisley** e da **Prof. Roberta** que trabalham juntos conosco e fazem com que os projetos sejam cada vez melhores, muito obrigada por tudo. A jornada da pós-graduação não seria a mesma sem a presença calorosa e inspiradora de vocês. Obrigada por tornarem os dias mais leves, por compartilharem conhecimentos, desafios e risadas. Cada um de vocês trouxe uma peça única para esse quebra-cabeça acadêmico, tornando nossa experiência coletiva mais rica e significativa.*

*A **Maria Eduarda Freitas e Luana Oliveira**, minha profunda gratidão por cada uma de vocês. Ao longo dos anos, nossa amizade tem sido uma fonte constante de apoio, alegria e conforto, apesar das nossas diferenças, nós sabemos de onde viemos e como chegamos fazendo com que o caminho fosse sempre lembrado e também sempre consagrado. Obrigado por estarem ao meu lado nos bons e maus momentos, por compartilharem risos, lágrimas e as muitas aventuras da vida. Nós sabemos!*

*Ao **Giovanni Saci** e ao **Pedro Chaves**, quero dedicar algumas palavras para expressar minha sincera gratidão por ter cruzado os caminhos de vocês. Conhecer amigos de maneira inesperada foi uma agradável surpresa na minha vida. Obrigada por trazerem alegria, diversidade e novas perspectivas para o meu mundo. Vocês são um presente valioso que enriquece a minha jornada de maneiras que eu não poderia ter previsto. Agradeço por compartilhar risadas, experiências e por fazer parte integrante da minha rede de apoio. As presenças de vocês tornaram minha vida mais rica e colorida.*

Aos meus amigos da vida, Caio Megiani, Isabela Parrete, Thaina Castilheri, Luan Santos, Jessinando, Família Xavier, Maria Eduarda Bifaroni, Matheus Silva, Wassila Borges, Yukio Yokota, Rafael Rovina, Os Parras, Marcel Lima, Marília Rodrigues, Rosane Rachas, Mariana Bandeira, Monara Bornelli, Ana Caroline Lima, Luiz Otávio Rovina, Leandro Mendonça, Yan Brenner, Samêla Rezende, Pedro Ribeiro, Letícia Manfrinato, Carla Sanches, Rafaela Jacomassi, Natalia Lucatto, Sávio Alves, Renan Lemos, Vitória Parmejane, Paulo Sales, Cáira Medeiros, Mayara Mendonça, minha profunda gratidão por cada um de vocês. Ter amigos verdadeiros é uma dádiva rara e valiosa que enriquece minha vida de maneiras incontáveis. Obrigado por serem alicerces sólidos nos momentos difíceis, por compartilharem alegrias nas conquistas e por estarem presentes em cada capítulo da minha jornada. Agradeço pelo apoio incondicional e por serem verdadeiros companheiros. Vocês são mais do que amigos; são uma parte essencial da minha vida e da minha história.

*A **minha Ala**, não posso deixar dedicar um momento para expressar minha profunda gratidão por cada um de vocês. A presença de amigos verdadeiros em minha vida é um presente inestimável que enriquece meus dias de maneiras indescritíveis. Obrigada por serem autênticos, por compartilharem suas vidas, sonhos e desafios de uma maneira que vai além da superficialidade. Nossa honestidade e lealdade são pilares que sustentam nossa amizade, e eu valorizo cada instante que passamos juntos. Agradeço por estarem ao meu lado nas alegrias e nas tristezas, por serem meu porto seguro nos momentos difíceis e por celebrarem comigo nas vitórias. Profundamente grata por ter amigos tão preciosos como vocês em minha jornada.*

Agradecimientos

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP e seus representantes, senhor diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem e do senhor, vice-diretor Prof. Ass. Luciano Tavares Angelo Cintra, do senhor Prof. Tit. Wirley Gonçalves Assunção, como coordenador do programa de Pós-Graduação em Odontologia, pela oportunidade de ser aluna desta tão renomada instituição, onde cada um que faz parte tem consciência e faz jus ao legado que carrega.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” com o atual Coordenador Professor Dr. Wirley Gonçalves Assunção.

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP) pela disponibilidade, paciência e gentileza em todas as etapas do mestrado, em especial as Servidoras Cristiane Regina Lui Matos e Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto. Agradeço o trabalho sempre eficiente por vocês desempenhado.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP) pela prontidão em nos atender.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa BCO Processo nº 2022/06429-8 - Treinamento Técnico TT3, que é vinculada ao Auxílio à Pesquisa do Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior, a qual foi fundamental para

realização desta e demais pesquisas.

Aos demais professores do Departamento de Cirurgia, Prof. Dra. Daniela Ponzoni, Prof. Dra. Alessandra Aranega, Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho, Prof. Dra. Ana Paula Bassi, Prof. Dr. Leonardo Faverani. Obrigada por partilharem de todo conhecimento e acolhimento a todo o momento.

Aos funcionários do NEC ODONTO, em especial, Elisa. Aos funcionários do INSPE ODONTOLOGIA, Rose, Daniela, Carol e Samêla. Ao IRG CONCEITO, Franciane as meninas Dayse, Camila, Héliide, obrigada por todo auxílio, amizade e paciência. Vocês são muito importantes para que tudo aconteça, e que para que todos os dias aqui não saia do trilho. Obrigada, obrigada, obrigada.

Ao Laboratório de Imunofarmacologia de Araçatuba, coordenado pela Professora Dra. Sandra Helena Penha de Oliveira e em especial seu orientado, Eduardo que sempre esteve conosco em dias de laboratório.

Ao Laboratório de Multiusuário - Sala de Microtomografia Computadorizada na pessoa do Professor Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

A Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr/UNESP) em nome da Técnica Sônia Zanetti e ao laboratório de Físico/Química.

Ao **Laboratório de Endodontia**, coordenado pelo Professor Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra por permitir a utilização do Microscópio Polarizado para análise de birrefringência, e a seu aluno de Doutorado Fábio e Pedro pela orientação e assistência.

Ao **Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, e ao grande Seu **João Batista**, responsável pelo suporte, apoio e amizade no desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos **funcionários da FOA/UNESP, Marco, Paulo, Renato, Fausto, Celinha** obrigada por nos aconselhar e nos encaminhar durante todo este processo. As demais sessões da pós-graduação, esterilização, limpeza, entre outras, e seus servidores que sempre prestaram um atendimento importante.

Aos **funcionários da Santa Casa de Araçatuba, Unimed Araçatuba e Unimed Birigui**, pelo respeito e educação que sempre mantiveram com a nossa equipe.

Aos **pacientes**, por de toda e qualquer forma mudarem meu modo de ver a vida, agradeço a confiança e oportunidade de aprender e evoluir com cada um de vocês.

Aos **animais**, in memoriam, que sacrificaram suas vidas em prol da ciência.

Epigrafe

"Que possamos semear o bem por onde formos, compreendendo que cada gesto de amor é uma luz que ilumina os caminhos da alma."

Autor: Joanna de Ângelis (psicografado por Divaldo Franco)

MARCHIOLLI, C. L. **Estudo da resposta biológica de uma superfície de titânio revestida com odanacatib: análise de molhabilidade e biocompatibilidade.**

Estudo in vitro e in vivo. 2024. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

RESUMO

Estudos recentes e prospectivos tem relacionado o sucesso da osseointegração as características das superfícies de implantes de titânio, abrindo campo para os tratamentos de superfície, associados ou não a princípios químicos com o propósito de otimizar a osseointegração e aumentar a neoformação óssea, visando aprimorar e inovar as metodologias. Com isso, tem-se que o objetivo deste trabalho é avaliar a dinâmica da resposta biológica de uma superfície modificada por duplo ataque ácido, modificado por ácido mais Solução de Fluidos Corpóreos (SBF) e modificada pelo princípio ativo Odanacatib, na concentração de 0,26mg/ml, pelo método biomimético em modelo subcutâneo padronizado em ratos machos e análise de cultura de células. Após a análise de topografia, de rugosidade de superfície e molhabilidade, serão destinados 24 ratos (*Rattus norvegicus albinus* Wistar) para a realização da análise de biocompatibilidade (subcutânea) e serão utilizados 78 discos de titânio de 0,5 cm de diâmetro e 0,2 cm de altura, sendo 16 com superfície de duplo ataque ácido (GCS), 16 com superfície modificada por SBF (GXS) e 16 com superfície modificada a base de Odanacatib (GOS) pelo método biomimético de modificação de superfície, em que serão instalados 2 discos por animal no tecido subcutâneo nas regiões extremas do dorso do animal contralateralmente, em que a coleta das amostras de tecido subcutâneo serão 7 e 15 dias. De acordo com a hipótese proposta, os resultados foram esclarecedores para entender o comportamento das superfícies testadas, atribuindo uma visão mais precisa diante do comportamento biológico, quando em íntimo contato com o tecido conjuntivo. Em que foi possível avaliar que a ação tópica do ODN no tecido conjuntivo não resulta em efeitos adversos. Conferindo resultados otimizados nas análises de topografia e ângulo de contato em relação aos demais grupos experimentais, e resultados semelhantes a superfície biomimética na análise de biocompatibilidade aos 7 e aos 15 dias.

Palavras-chave: Osseointegração. Titâneo. Catepsina K.

MARCHIOLLI, C. L. **Study of the biological response of a titanium surface coated with odanacatib: analysis of wettability and biocompatibility. In vitro and in vivo study.** 2024. Dissertation (Master's Degree) - School of Dentistry, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2024.

ABSTRACT

Recent and prospective studies have linked the success of osseointegration to the characteristics of the surfaces of titanium implants, opening up the field for surface treatments, associated or not with chemical principles with the aim of optimizing osseointegration and increasing bone neoformation. The aim is to improve and innovate methodologies. With this in mind, the aim of this study is to evaluate the dynamics of the biological response of a surface modified by double acid attack, modified by acid plus Body Fluid Solution (SBF) and modified by the active ingredient Odanacatib, at a concentration of 0.26mg/ml, using the biomimetic method in a standardized subcutaneous model in male rats and cell culture analysis. After analyzing the topography, surface roughness and wettability, 24 rats (*Rattus norvegicus albinus* Wistar) will be used for the biocompatibility analysis (subcutaneous) and 78 titanium discs of 0.5 cm in diameter and 0.2 cm in height will be used, 16 with a double acid etched surface (GCS), 16 with an SBF-modified surface (GXS) and 16 with an Odanacatib-modified surface (GOS) using the biomimetic surface modification method, in which 2 disks per animal will be installed in the subcutaneous tissue in the extreme regions of the animal's back contralaterally, subcutaneous tissue samples were taken at 7 and 15 days. According to the proposed hypothesis, the results were enlightening in terms of understanding the behavior of the surfaces tested, providing a more accurate view of biological behavior when in close contact with connective tissue. It was possible to assess that the topical action of ODN on connective tissue does not result in adverse effects. The results were optimized in the topography and contact angle analyses compared to the other experimental groups, and the results were similar to the biomimetic surface in the biocompatibility analysis at 7 and 15 days.

Keywords: Osseointegration. Titanium. Cathepsin K..

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - 1ª Fase de modificação por ácido dos GCS, GXS e GOS	17
Figura 2 – Discos imersos na solução de NaOH	18
Figura 3 - Preparação do simulador de fluído corpóreo	18
Figura 4 – Solução de fluído corpóreo com Odanacatib	19
Figura 5 – Discos imersos em SBF e SBF com Odanacatib	19
Figura 6 – Etapa final do tratamento de superfície dos grupos GXS e GOS	20
Figura 7: Delineamento Experimental referentes à cirurgia para a instalação dos discos	21
Figura 8 - Delineamento experimental referente à análise subcutânea	22
Figura 9 – Procedimento cirúrgico da implantação dos discos de titânio de acordo com os modelos pré-estipulados	23
Figura 10 – Análise de molhabilidade para obtenção do ângulo de contato	26
Figura 11 - Ferramenta Grid no software ImageJ com traçado de grade histométrica de 130 pontos aplicada sobre a fotomicrografia histológica obtida em aumentativa de 100x	
Figura 12 – Microscopia eletrônica de varredura das superfícies experimentais do Grupo Controle: GCS	30
Figura 13 – Microscopia eletrônica de varredura das superfícies experimentais do Grupo SBF (GXS):	31
Figura 14 – Microscopia eletrônica de varredura das superfícies experimentais do Grupo Odanacatib (GOS):	31
Figura 15 – Espectroscopia energia Dispersiva de Raio X do GCS	32
Figura 16 – Espectroscopia energia Dispersiva de Raio X do GXS	32
Figura 17 – Espectroscopia energia Dispersiva de Raio X do GOS	32
Figura 18 – Obtenção do ângulo de contato	33
Figura 19 – Tecido subcutâneo em região de contato com o disco – Grupo Controle 7 e 15 dias.	35
Figura 20 – Tecido subcutâneo em região de contato com o disco – Grupo SBF 7 e 15 dias	35
Figura 21 – Tecido subcutâneo em região de contato com o disco – Grupo SBF 7 e 15 dias	36
Figura 22: Imagens representativas da coloração do Picrosirius red para identificar a maturidade das fibras colágenas	38
Figura 23: Análise de Imunoistoquímica (Interleucina 6) em 40x	39
Figura 24: Análise de Imunoistoquímica (VEGF) em 40x	40
Figura 25: Análise de Imunoistoquímica (TGF B) em 40x	40
Figura 26: Análise de Imunoistoquímica (COL1) em 40x	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Análise de molhabilidade	31
Gráfico 2 - Histomorfométrico	37
Gráfico 3 – Quantificação das fibras colágenas através da análise de picrosiriusred	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise estatística da avaliação do ângulo de contato	34
Tabela 2 – Análise histomorfométrica (Vasos Sanguíneos)	37
Tabela 3 – Análise histomorfométrica (Linfócitos)	37
Tabela 4 – Análise Imunomarcação	41

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
ANOVA	Análise de variância
AON	Área de tecido ósseo neoformado
Au	Ouro
BSAP	Fosfatase alcalina específica do osso
BV/TV	Porcentagem de volume ósseo
C	Carbono
Ca	Cálcio
CaP	Fosfato de Cálcio
Ctsk	Protease de cisteína lisossomal catepsina K
Cl	Cloro
Cm	Centímetro
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
Conn.Dn	Densidade de conectividade
Ctan	Ctanalyser
EDS	Energia Dispersiva de Raios X
ELCOI	Extensão linear de contato entre o tecido ósseo e a superfície doimplante
ESL	Esclerodermia localizada
FOA	Faculdade de Odontologia de Araçatuba
GCS	Grupo Controle
GOS	Grupo modificado por Odanacaib
GXS	Grupo modificado por SFC
HE	Hematoxilina e eosina
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Mg/Kg	Miligrama por quilo
Mg/kg/dia	Miligrama kilo dia
Mg/L	Miligrama por Litro
Micro-ct	Microtomografia computadorizada
ml	Mililitros
ml/Kg	Mililitro por quilo

Mm	Milímetro
Mol.L-1	Mol Litro
N	Nitrogênio
N.cm	Newton por centímetro
Na	Sódio
NAOH	Hidróxido de Sódio
O	Oxigênio
°c	Graus célsius
OVX	Ovariectomizada
p	Nível de significância
P	Fósforo
ph	Potencial hidrogeniônico
ROI	Área ao redor do implante
SFC	Solução de Fluido Corpóreo
SHAM	Grupo controle isento de tratamento e alteração sistêmica
Si	Silício
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação das trabéculas
Tb.Th	Espessura do trabeculado ósseo
Ti	Titânio
TRAP-5b	Tratarato 5b
θ	Ângulo de contato
μl	Microlitros
μm	Micrometro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1 Tratamento dos Implantes e Discos	17
3.1.1 Preparação da Superfície Teste e Controle	17
3.2 Delineamento Experimental	20
3.3 Procedimento Cirúrgico	22
4 ANÁLISES PROPOSTAS	25
4.1 Análise de topográfica (Microscopia Eletrônica de Varredura e Espetroscopia energia Dispersiva de Raio X)	25
4.2 Análise de molhabilidade	25
4.3 Análise Histológica	26
4.4 Análise Histomorfométrica qualitativa e quantitativa em subcutâneo (Análise de Biocompatibilidade)	26
4.5 Análise da maturação de fibras colágenas (picrosírus red)	28
4.6 Análise de Imunoistoquímica	28
4.7 Análise Estatística	29
5 RESULTADOS	30
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

A reabilitação com implantes dentários tem ganhado cada vez mais destaque a permitir a restauração estético-funcional do sistema estomatognático através de propriedades mecânicas adequadas, estabilidade oclusal e osseointegração (CRUZ, M.B, 2022 e SANTOS, A.F.P 2023). A osseointegração é um processo que segue a sequência conservada de regeneração óssea e é fundamental para o sucesso clínico dessas reabilitações (YOUNIS et al., 2010 e MAZZO et al., 2012). Tendo a topografia e as propriedades químicas da superfície do implante dentário como fator determinante da velocidade e a qualidade da neoformação óssea.

Os pesquisadores apontam que as superfícies rugosas aumentam a área de contato na interface osso-implante, a adesão dos osteoblastos e facilitam a adsorção seletiva de proteínas, o que favorece a osseointegração. Com o intuito de otimizar estas superfícies, os estudos de superfícies bioativas, conduzem o aprimoramento da incorporação de princípios ativos de ação osteocondutora, estimulando a osteogênese e a fixação osso-implante. (CRUZ, M.B 2022 e LOTINUN S, 2013).

Dentre os princípios ativos disponíveis na indústria e na literatura, cabe-se introduzir o Odanacatib (ODN), um inibidor altamente seletivo e sensível da cathepsina K (CTSK), que por sua vez, é a principal enzima que impulsiona a reabsorção durante a reconstrução óssea. Em outras palavras, o ODN atua na inibição da reabsorção óssea sem afetar a formação óssea, além de aumentar a densidade mineral óssea (DMO). No entanto, o ODN foi interrompido no estudo de fase III do Long-term Odanacatib Fracture Trial (LOFT), devido ao potencial risco de acidente vascular cerebral (AVC).

Estudos revelam que o ODN apresenta vantagens em relação a ação dos bisfosfonatos, pois reduz a eficiência de reabsorção das células, mas não altera as outras funções osteoclásticas normais, como diferenciação, migração e polarização (DUONG, 2012; MUISE *et al.*, 2016). Por não ocorrer a morte dos osteoclastos, visto que os sinais entre as células osteoblasticas e osteoclasticas podem continuar de forma inalterada, conclui-se que o efeito reproduzido pelos CTSK é substancial na formação óssea e na inibição da reabsorção, por atuar de forma exclusiva nos osteoclastos.

Outros estudos realizado em macacos ovactomizados, tratados com duas

concentrações de CTsK, concluíram que os grupos tratados com a maior concentração apresentaram melhores resultados em relação aumento a densidade mineral óssea, suprimindo a reabsorção óssea, não afetando o número de osteoclastos pelos biomarcadores de osteoclastos-fosfatase ácida resistente ao tratarato 5b (TRAP-5b), de colágeno-1 e fosfatase alcalina específica do osso (BSAP) e melhores resultados histológicos em relação aos grupos SHAM e OVX (FRATZL-ZELMAN *et al.*, 2013). Além de apresentar um aumento significativo na resistência óssea medida pela carga final com tratamento com odanacatib. (CUSICK *et al.*, 2012).

Em uma revisão e meta-análise de estudos clínicos randomizados e controlados por placebo publicados em 2023, mostraram que o ODN aumentou significativamente a DMO e reduziu em 48,31% as concentrações de telopeptídeos C séricos de colágeno tipo I (sCTX) e em 56,54%, N-telopeptídeo/creatinina urinária (uNTx/Cr) em pacientes com osteoporose, em comparação com grupo controle placebo. Em termo de formação óssea, pacientes em tratamento contínuo com ODN apresentaram aumento do pró-peptídeo N-terminal, marcador de formação óssea tipo I (P1NP). (ROGNJIN *et al.*, 2023).

Na literatura, há registro de efeitos adversos (EAs), de forma geral em relação aos CTsK, e um dos efeitos adversos são as reações cutâneas semelhantes à morfeia, também designada: esclerodermia localizada (EsL), que é uma doença do tecido conjuntivo de etiologia desconhecida, na qual o excesso de deposição de colágeno leva ao desenvolvimento de lesões escleróticas (SILVA; SILVA; MORGADO, 2018), além de preocupações em relação a infecções respiratórias graves observadas em ensaios anteriores com balicatib (outro inibidor da catepsina K). No entanto, esses efeitos foram monitorados cuidadosamente em ensaios de ODN, que por ser um inibidor da protease K mais seletivo que o balicatib, apresentava um risco semelhante de EAs cutâneos ao placebo. (BONE *et al.*, 2010; PERONI *et al.*, 2008).

Contudo, apesar das descobertas promissoras, mais estudos são necessários para mapear o efeito do ODN de forma sistêmica e explorar o seu efeito tópico. Dado isso, presente estudo visa avaliar a dinâmica da resposta biológica de uma superfície de titânio modificada por Odanacatib pelo método biomimético e tratada por duplo ataque ácido e com solução de fluido corpóreo em modelo subcutâneo padronizado em ratos machos para mapeamento do condicionamento celular do perfil inflamatório

e possíveis efeitos colaterais dose-dependente.

Uma vez que a literatura carece de estudos de caracterização de superfícies associado ao Odanacatib, o atual estudo propõe introduzir as propriedades topográficas, perfil físico-químico e comportamento biológico no que diz respeito a osseointegração. Visando alternativas reabilitadoras para beneficiar pacientes que apresentem alteração no metabolismo ósseo, como é o exemplo da osteoporose, e em casos em que a quantidade e a qualidade óssea são deficientes (MC-CLUNG *et al.*, 2014; MERCK, 2014).

7 CONCLUSÃO

As modificações de superfície propostas neste trabalho mostraram serem seguras quando em íntimo contato com o tecido conjuntivo em organismos normofisiológicos. Indicando que o ODN não apresentou efeitos colaterais cutâneos, conferindo resultados otimizados nas análises de topografia e ângulo de contato em relação aos demais grupos experimentais, e resultados semelhantes a superfície biomimética na análise de biocompatibilidade aos 7 e aos 15 dias.

REFERÊNCIAS

Abe Y, Kokubo T, Yamamuro T. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilizing a biological process. *J Mater Sci Mater Med*. 1990; 1:233–8. doi: 10.1007/BF00701082.

Aparecida AH, Fook MVL, Santos ML, Guastaldi AC. Influência dos íons K⁺ e Mg²⁺ na obtenção de apatitas biomiméticas. *Eclética Quím*. 2005;30(4):13–8. doi: 10.1590/S0100-46702005000400002.

Barbosa TP. Características funcionais de implantes dentários: topografia superficial e molhabilidade [dissertação]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2016.

Bone HG, McClung MR, Roux C, Recker RR, Eisman JA, Verbruggen N, et al. Odanacatib, a cathepsin-K inhibitor for osteoporosis: a two-year study in postmenopausal women with low bone density. *J Bone Miner Res*. 2010;25(5):937-47. doi: 10.1359/jbmr.091035.

Boonen S, Rosenberg E, Claessens F, Vanderschueren D, Papapoulos S. Inhibition of cathepsin K for treatment of osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep*. 2012;10(1):73-9. doi: 10.1007/s11914-011-0085-9.

Brömme D, Lecaille F. Cathepsin K inhibitors for osteoporosis and potential off-target effects. *Expert Opin Investig Drugs*. 2009;18(5):585-600. doi: 10.1517/13543780902832661.

Bruzzzone AAG, Costa HL, Lonardo PM, Lucca DA. Advances in engineered surfaces for functional performance. *CIRP Annals - Manufacturing Technology*. 2008;57(2):750-69. doi: 10.1016/j.cirp.2008.09.003

Cabal A, Jayakar RY, Sardesai S, Phillips EA, Szumiloski J, Posavec DJ, et al. High-resolution peripheral quantitative computed tomography and finite element analysis of bone strength at the distal radius in ovariectomized adult rhesus monkey demonstrate efficacy of odanacatib and differentiation from alendronate. *Bone*. 2013;56(2):497-505. doi: 10.1016/j.bone.2013.06.011.

Chapurlat RD, Arlot M, Burt-Pichat B, Chavassieux P, Roux JP, Portero-Muzy N, et al. Microcrack frequency and bone remodeling in postmenopausal osteoporotic women

on long-term bisphosphonates: a bone biopsy study. *J Bone Miner Res.* 2007;22(10):1502-9. doi: 10.1359/jbmr.070609.

Correa APL. Implantes de titânio com superfície tratada a base de β tricálcio fosfato em levantamento da membrana sinusal. Estudo experimental de superfície, análise biomecânica, histométrica e imunoistoquímica em coelhos [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 2018.

Cruz, M.B.; Silva, N.; Marques, J.F.; Mata, A.; Silva, F.S.; Caramês, J. Biomimetic Implant Surfaces and Their Role in Biological Integration—A Concise Review. *Biomimetics* 2022, 7, 74. <https://doi.org/10.3390/biomimetics7020074>

Cusick T, Chen CM, Pennypacker BL, Pickarski M, Kimmel DB, Scott BB, et al. Odanacatib treatment increases hip bone mass and cortical thickness by preserving endocortical bone formation and stimulating periosteal bone formation in the ovariectomized adult rhesus monkey. *J Bone Miner Res.* 2012;27(3):524-37. doi: 10.1002/jbmr.1477.

Duong LT. Therapeutic inhibition of cathepsin K-reducing bone resorption while maintaining bone formation. *Bonekey Rep.* 2012;(1):67. doi: 10.1038/bonekey.2012.67.

Espósito, M.; Ardebili, Y.; Worthington, HV Intervenções para substituição de dentes perdidos: Diferentes tipos de implantes dentários. Sistema de banco de dados Cochrane. Rev. 2019, 2019, CD003815. [RefCruz] [Pub Med]

Figueira-Júnior HC. Tratamento biomimético de discos e implantes de titânio com alendronato: caracterização topográfica, estudo histométrico e imunoistoquímico em coelhos [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba; 2018.

Fratzl-Zelman N, Roschger P, Fisher JE, Duong LT, Klaushofer K. Effects of Odanacatib on bone mineralization density distribution in thoracic spine and femora of ovariectomized adult rhesus monkeys: a quantitative backscattered electron imaging study. *Calcif Tissue Int.* 2013;92(3):261-9. doi: 10.1007/s00223-012-9673-7.

Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Perrotti V, Iezzi G, Piattelli A, et al. Micro- topography

and reactivity of implant surfaces: an in vitro study in simulated body fluid (SBF). *Microsc Microanal.* 2015;21(1):190-203. doi: 10.1017/S1431927614014615.

Gil, J.; Manero, J.M.; Ruperez, E.; Velasco-Ortega, E.; Jiménez-Guerra, A.; Ortiz-García, I.; Monsalve-Guil, L. Mineralization of Titanium Surfaces: Biomimetic Implants. *Materials* 2021, 14, 2879. <https://doi.org/10.3390/ma14112879>

Khan MP, Singh AK, Singh AK, Shrivastava P, Tiwari MC, Nagar GK, et al. Odanacatib restores trabecular bone of skeletally mature female rabbits with osteopenia but induces brittleness of cortical bone: a comparative study of the investigational drug with PTH, estrogen, and alendronate. *J Bone Miner Res.* 2016;31(3):615-29. doi: 10.1002/jbmr.2719.

Kiviranta R, Morko J, Uusitalo H, Aro HT, Vuorio E, Rantakokko J. Accelerated turnover of metaphyseal trabecular bone in mice overexpressing cathepsin K. *J Bone Miner Res.* 2001;16(8):1444-52. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.8.1444.

Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amourig Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater.* 2007;23(7):844-54. doi: 10.1016/j.dental.2006.06.025.

Leung P, Pickarski M, Zhuo Y, Masarachia PJ, Duong LT. The effects of the cathepsin K inhibitor odanacatib on osteoclastic bone resorption and vesicular trafficking. *Bone.* 2011;49(4):623-35. doi: 10.1016/j.bone.2011.06.014.

Lotinun S, Kiviranta R, Matsubara T, Alzate JA, Neff L, Lüth A, et al. Osteoclast-specific cathepsin K deletion stimulates S1P-dependent bone formation. *J Clin Invest.* 2013;123(2):666-81. doi: 10.1172/JCI64840.

Machado ACP. Biocompatibilidade in vivo de implantes de titânio submetidos ao processo biomimético [tese]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP; 2008.

Mazzo CR, Reis AC, Shimano AC, Valente ML. In vitro analysis of the influence of surface treatment of dental implants on primary stability. *Braz Oral Res.* 2012;26(4):313-17. doi: 10.1590/S1806-83242012005000006.

Mcclung M, Langdahl B, Papapoulos S, Saag KG, Adami S, Bone HG, et al. Odanacatib anti-fracture efficacy and safety in postmenopausal women with

osteoporosis. Results from the phase III long-term odanacatib fracture trial (LOFT). *J Bone Miner Res.* 2014;29(Suppl 1):S51.

Merck. Merck Announces Data from Pivotal Phase 3 Fracture Outcomes Study for Odanacatib, an Investigational Oral, Once-Weekly Treatment for Osteoporosis. 2014 [cited 23 nov 2023]. Available from: <https://www.merck.com/news/merck-announces-data-from-pivotal-phase-3-fracture-outcomes-study-for-odanacatib-an-investigational-oral-once-weekly-treatment-for-osteoporosis/>

Muise ES, Podtelezhnikov AA, Pickarski M, Loboda A, Tan Y, Hu G, et al. Effects of long-term odanacatib treatment on bone gene expression in ovariectomized adult rhesus monkeys: differentiation from alendronate. *J Bone Miner Res.* 2016;31(4):839-51. doi: 10.1002/jbmr.2752.

Nicolas-Silvente, AI; Velasco-Ortega, E.; Ortiz-Garcia, I.; Monsalve-Guil, L.; Gil, J.; Jiménez-Guerra, A. Influência do tratamento superficial do implante de titânio na rugosidade superficial e composição química. *Materiais* 2020, 13, 314.

Pennypacker B, Shea M, Liu Q, Masarachia P, Saftig P, Rodan S, et al. Bone density, strength, and formation in adult cathepsin K (-/-) mice. *Bone.* 2009;44(2):199-207. doi: 10.1016/j.bone.2008.08.130.

Pennypacker BL, Duong LT, Cusick TE, Masarachia PJ, Gentile MA, Gauthier JY, et al. Cathepsin K inhibitors prevent bone loss in estrogen-deficient rabbits. *J Bone Miner Res.* 2011;26(2):252-62. doi: 10.1002/jbmr.223.

Peroni A, Zini A, Braga V, Colato C, Adami S, Girolomoni G. Drug-induced morphea: report of a case induced by balicatib and review of the literature. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(1):125-9. doi: 10.1016/j.jaad.2008.03.009.

Queiroz TP, Souza FÁ, Guastaldi AC, Margonar R, Garcia IR Jr, Hochuli-Vieira E. Commercially pure titanium implants with surfaces modified by laser beam with and without chemical deposition of apatite. Biomechanical and topographical analysis in rabbits. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(8):896-903. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02471.x.

Rongjin Chen1,; Changshun Chen.; Bin Geng1.; Chenhui Yang1.; Hefang Xiao.; Fei Yang.; Hao Wang.; Yayi Xia1. Efficacy and safety of odanacatib for osteoporosis treatment: a systematic review and meta-analysis Received: 9 January 2023 /

Accepted: 28 April 2023 / Published online: 11 May 2023 © International Osteoporosis Foundation and Bone Health and Osteoporosis Foundation 2023

Santos, A.F.P.; Cervantes, L.C.C.; Okamoto, R.; Guastaldi, A.C.; Queiroz, T.P.; Panahipour, L.; Gruber, R.; Souza, F.Á. Interleukin-6 Expression of Osteogenic Cell Lines Grown on Laser-Treated and Hydroxyapatite-Coated Titanium Discs. *Appl. Sci.* 2023, 13, 12646. <https://doi.org/10.3390/app132312646>

Silva FC, Silva JL, Morgado FN. The binomial parasite-host immunity in the healing process and in reactivation of human tegumentary leishmaniasis. *Front Microbiol.* 2018;9:1308. doi: 10.3389/fmicb.2018.01308.

Sivolella S, Brunello G, Ferroni L, Berengo M, Meneghello R, Savio G, et al. A novel in vitro technique for assessing dental implant osseointegration. *Tissue Eng Part C Methods.* 2016;22(2):132-41. doi: 10.1089/ten.TEC.2015.0158.

Stefan et al., 2007). Le Guéhennec L, Soueidan ALP, Amouri QY. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *J. Dent. Mater.*, v. 23, n. 7, 2007: 844-854

Stepan JJ, Burr DB, Pavo I, Sipos A, Michalska D, Li J, et al. Low bone mineral density is associated with bone microdamage accumulation in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone.* 2007;41(3):378-85. doi: 10.1016/j.bone.2007.04.198.

Stoch SA, Zajic S, Stone J, Miller DL, Van Dyck K, Gutierrez MJ, et al. Effect of the cathepsin K inhibitor odanacatib on bone resorption biomarkers in healthy postmenopausal women: two double-blind, randomized, placebo-controlled phase I studies. *Clin Pharmacol Ther.* 2009;86(2):175-82. doi: 10.1038/clpt.2009.60.

Williams DS, McCracken PJ, Purcell M, Pickarski M, Mathers PD, Savitz AT, et al. Effect of odanacatib on bone turnover markers, bone density and geometry of the spine and hip of ovariectomized monkeys: a head-to-head comparison with alendronate. *Bone.* 2013;56(2):489-96. doi: 10.1016/j.bone.2013.06.008.

Younis I, Gault D, Sabbagh W, Kang NV. Patient satisfaction and aesthetic outcomes after ear reconstruction with a Branemark-type, bone-anchored, ear prosthesis: a 16 year review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010;63(10):1650-5. doi: 10.1016/j.bjps.2009.10.004.

Yuan Y, Lee TR. Contact angle and wetting properties. In: Bracco G, Holst B, editors. Surface science techniques. Berlin: Springer; 2013. p. 33-4. doi: 10.1007/978-3-642-34243-1.

Zhao G, Raines AL, Wieland M, Schwartz Z, Boyan BD. Requirement for both micron- and submicron scale structure for synergistic responses of osteoblasts to substrate surface energy and topography. *Biomaterials*. 2007;28(18):2821-9. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.02.024.

Zhao G, Zinger O, Schwartz Z, Wieland M, Landolt D, Boyan BD. Osteoblast-like cells are sensitive to submicron-scale surface structure. *Clin Oral Implants Res*. 2006;17(3):258-64. doi: 10.1111/j.1600-0501.2005.01195.x.