



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

**MARINA CORRÊA DUTRA**

**IMPLANTES FUNCIONALIZADOS POR GENISTEÍNA E SEU  
EFEITO SOBRE O REPARO PERIMPLANTAR EM RATAS  
OVARIETOMIZADAS**

Araçatuba - SP  
2025

A decorative graphic in the bottom right corner of the page, consisting of several overlapping triangles and quadrilaterals. The shapes are filled with a light blue color and a pattern of small white dots, creating a halftone or stippled effect. The lines between the shapes are white, creating a starburst or geometric pattern.

**MARINA CORRÊA DUTRA**

**IMPLANTES FUNCIONALIZADOS POR GENISTEÍNA E SEU  
EFEITO SOBRE O REPARO PERIMPLANTAR EM RATAS  
OVARIECTOMIZADAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientador(a): Prof. Dra. Roberta Okamoto

Araçatuba - SP  
2025

Dedico este trabalho à minha mãe, Tânia Doris Corrêa. Sua força, amor incondicional e apoio incansável foram a luz nos meus momentos de dúvida e o impulso nas minhas conquistas. Tudo o que alcancei até aqui carrega um pouco de você.

## **AGRADECIMENTOS**

Meu agradecimento à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, em especial à Faculdade de Odontologia de Araçatuba.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio fapesp (processo 2018/03114-0) em nome da minha orientadora, Professora Titular Dr<sup>a</sup> Roberta Okamoto, que apoiou financeiramente este estudo.

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), (processo 15635/2024-8), pela oportunidade de participar desse projeto, pelo apoio financeiro e pelo incentivo à pesquisa durante a minha graduação.

Aos professores e pós-graduandos, por terem aceitado meu convite e pela disponibilidade em compor a banca do meu Trabalho de Conclusão de Curso. Meus agradecimentos ao grupo que participa do Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados (LSMT).

À Professora Roberta Okamoto, meus mais sinceros agradecimentos por ter me acolhido em seus projetos de pesquisa e por ter me acompanhado com tanto cuidado e dedicação ao longo de toda esta jornada. Tenho profunda admiração por sua inteligência, paciência e comprometimento. Sua orientação foi essencial não apenas para minha formação acadêmica, mas também para meu crescimento pessoal, contribuindo para o desenvolvimento do meu senso crítico, da minha maturidade e da confiança em minha própria caminhada.

À Juliana de Moura, minha profunda gratidão por todo o apoio prestado ao longo deste processo. Sua ajuda foi de valor imensurável e teve um impacto significativo na minha trajetória. Sou extremamente grata pelos ensinamentos compartilhados no âmbito científico, que não apenas me orientaram, mas também se tornaram uma verdadeira fonte de inspiração. Admiro seu comprometimento, dedicação e incrível didática.

Aos amigos da faculdade, deixo meu agradecimento por terem feito parte de uma fase tão significativa da minha vida. Próximos ou não, cada um contribuiu de alguma forma, oferecendo apoio, companhia e leveza em momentos desafiadores. Em especial, agradeço à Isabella Biazus, que foi minha dupla e esteve ao meu lado desde o primeiro, até o último ano da graduação. Obrigada por ter compartilhado

comigo tantos momentos bons e desafiadores. Sua companhia constante e seu apoio foram essenciais para mim durante todos esses anos.

A minha família, em especial minha mãe, que me deu coragem e apoio para voar, mas sempre me ofereceu um lugar seguro onde poderei retornar. Sou eternamente grata por tudo o que fez e continua fazendo por mim. Seu apoio constante, sua ajuda incansável foram essenciais para que eu chegasse até aqui. Sempre se dedicou ao máximo para me ver bem e feliz. Obrigada por acreditar em mim, e por me impulsionar a seguir em frente, especialmente nos momentos mais difíceis. Admiro profundamente sua força e dedicação, minha maior fonte de inspiração.

*“A estrada para o sucesso está  
sempre em construção.”*

*-Lily Tomlin*

## RESUMO

DUTRA, M. C. **Implantes funcionalizados por genisteína e seu efeito sobre o reparo perimplantar em ratas ovariectomizadas**. 2025 - Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização / Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

A osteoporose é uma condição patológica caracterizada pela diminuição da densidade mineral óssea, o que compromete a resistência do tecido ósseo. Dentre os fármacos de primeira linha para o tratamento desta patologia destaca-se o bifosfonato risedronato de sódio. No entanto, esse medicamento pode provocar efeitos adversos no contexto odontológico, como a osteonecrose dos maxilares, exigindo cuidados específicos. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do risedronato de sódio administrado sistemicamente, em associação à genisteína como tratamento local, aplicada por meio da funcionalização de implantes. O modelo experimental foi desenvolvido com ratas Wistar fêmeas, com deficiência estrogênica induzida e submetidas a dieta hipercalórica, com o intuito de simular condições compatíveis com a síndrome metabólica. 30 ratas foram divididas em três grupos: SHAM (cirurgia fictícia e dieta normocalórica), OVX-CD (ovariectomia e dieta de cafeteria) e OVX-CD-RIS (ovariectomia, dieta de cafeteria e tratamento com risedronato). Cada grupo foi subdividido conforme o tipo de implante: funcionalizado com genisteína (GEN) ou convencional (IC). No dia 0, realizaram-se as cirurgias e a introdução das dietas. Após 30 dias, iniciou-se a administração do bifosfonato. No 90º dia, foi feita a exodontia dos primeiros molares superiores, seguida da instalação imediata dos implantes. As ratas foram eutanasiadas 28 dias após o procedimento, as amostras de tecido ósseo reparacional foram coletadas e submetidas à análise de PCR e para mensuração do torque reverso de remoção. Os resultados mostraram que a genisteína local associada ao risedronato sistêmico contribuiu para que houvesse uma melhora na expressão de genes ALP, BSP e OCN. Para o teste mecânico, os grupos SHAM (GEN) e OVS-RIS (GEN) obtiveram maiores valores. Conclui-se, portanto, que a combinação entre o risedronato de sódio, e a genisteína local mostrou-se favorável para a melhora no processo de reparo perimplantar.

**Palavras-chave:** osteoporose, síndrome metabólica, risedronato, genisteína.

## ABSTRACT

DUTRA, M. C. **Genistein-functionalized implants and their effect on peri-implant repair in ovariectomized rats.** 2025 - Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização / Graduação) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

Osteoporosis is a pathological condition characterized by the decrease in bone mineral density, which compromises the strength of bone tissue. Among the first-line drugs for the treatment of this pathology, the bisphosphonate sodium risedronate stands out. However, this medication may cause adverse effects in the dental context, such as osteonecrosis of the jaws, requiring specific care. In this sense, this work aimed to evaluate the effects of sodium risedronate administered systemically, in association with genistein as a local treatment, applied through the functionalization of implants. The experimental model was developed with female Wistar rats, with induced estrogen deficiency and subjected to a high-calorie diet, in order to simulate conditions compatible with metabolic syndrome. Thirty rats were divided into three groups: SHAM (sham surgery and normocaloric diet), OVX-CD (ovariectomy and cafeteria diet), and OVX-CD-RIS (ovariectomy, cafeteria diet and treatment with risedronate). Each group was subdivided according to the type of implant: functionalized with genistein (GEN) or conventional (IC). On day 0, the surgeries and the introduction of the diets were performed. After 30 days, the administration of the bisphosphonate was started. On the 90th day, the upper first molars were extracted, followed by immediate implant placement. The rats were euthanized 28 days after the procedure, reparative bone tissue samples were collected and subjected to PCR analysis and to reverse torque removal measurement. The results showed that local genistein associated with systemic risedronate contributed to an improvement in the expression of ALP, BSP and OCN genes. For the mechanical test, the SHAM (GEN) and OVS-RIS (GEN) groups obtained higher values. It is concluded, therefore, that the combination of sodium risedronate and local genistein proved favorable for improving the peri-implant repair process.

**Keywords:** osteoporosis, metabolic syndrome, risedronate, genistein.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Ilustração da cirurgia bilateral de ovariectomia. A: tricotomia; B: corte com tesoura; C e D: acesso ao ovário e laqueamento; E: corte dos ovários; F: sutura em planos. 15
- Figura 2 – In Vivo: Instalação dos implantes em maxila, região de molar (implante imediato). 17
- Figura 3 – Delineamento do modelo experimental de acordo com os dias. 17
- Figura 4 – Torquímetro digital. 18

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Divisão dos grupos estudados e exemplificação do número de 14 amostras.

## LISTA DE

### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|          |  |
|----------|--|
| CEUA     | Comitê De Ética Em Pesquisa No Uso De Animais  |
| FOA      | Faculdade de odontologia de Araçatuba  |
| NCEP-ATP | National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel<br>(Programa Nacional de Educação sobre Colesterol – Painel de Tratamento de Adultos) |
| PVPI     | Olivinill Pirrolidona Iodo Degermante  |
| LBL      | LayerbyLayer   |
| PBS      | Phosphate-Buffered Saline (Solução Salina Tampão de Fosfato)   |
| ALP      | Fosfatase alcalina   |
| OCN      | Osteocalcina   |
| BSP      | Sialoproteína Óssea  |
| µG       | Micrograma   |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO   | 12 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS  | 14 |
| 2.1 ANIMAIS  | 14 |
| 2.2 OVARIECTOMIA BILATERAL   | 14 |
| 2.3 DIETA DE CAFETERIA – SÍNDROME METABÓLICA   | 15 |
| 2.4 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO SISTÊMICO - RISEDRONATO DE SÓDIO                                      | 16 |
| 2.5 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO LOCAL – FUNCIONALIZAÇÃO COM GENISTEÍNA                                | 16 |
| 2.6 CIRURGIAS PARA EXODONTIAS DOS PRIMEIROS MOLARES SUPERIORES E INSTALAÇÃO IMEDIATA DOS IMPLANTES | 16 |
| 2.7 ANÁLISES   | 18 |
| 2.7.1 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA (TORQUE REVERSO DOS IMPLANTES)   | 18 |
| 2.7.2 ANÁLISE DE PCR EM TEMPO REAL   | 18 |
| 3 RESULTADOS   | 19 |
| 3.1 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA (TORQUE REVERSO DOS IMPLANTES)   | 19 |
| 3.2 ANÁLISE DE PCR   | 20 |
| 4 DISCUSSÃO  | 23 |
| 5 CONCLUSÃO  | 24 |
| REFERÊNCIAS  | 25 |
| ANEXOS   | 27 |

## 1 INTRODUÇÃO

A osteoporose é uma condição metabólica caracterizada pela redução da massa óssea e pela degradação da microarquitetura do osso, o que resulta em fragilidade aumentada e maior suscetibilidade a fraturas. Essas fraturas podem levar a deformidades, dor crônica, perda de funcionalidade e até mesmo à morte. A incidência dessa doença tem crescido progressivamente, acompanhando o aumento da expectativa de vida e o envelhecimento da população tanto masculina quanto feminina (SILVA et al.; 2024; CAIRES et al., 2017).

Embora a osteoporose seja frequentemente associada ao público feminino, principalmente devido à maior prevalência e taxa de fraturas observadas em mulheres pós-menopáusicas, a doença também acomete os homens, que apresentam menor frequência de fraturas, mas maior mortalidade e morbidade decorrentes dessas lesões (TARANTINO et al., 2017). Dessa forma, a atenção à osteoporose deve ser estendida a ambos os sexos, dada sua relevância clínica para homens e mulheres (GAMBOA et al., 2022).

Além do aumento da expectativa de vida, nos últimos anos, a população tem passado por diversas mudanças comportamentais e no estilo de vida, destacando-se a crescente prevalência de rotinas sedentárias e hábitos alimentares inadequados. Como resultado, houve um aumento significativo na proporção de indivíduos acometidos por síndromes metabólicas, que consistem em um conjunto de alterações sistêmicas associadas a dislipidemias, cujas consequências mais graves incluem hipertensão arterial e diabetes tipo 2. A prevalência global da síndrome metabólica, segundo os critérios do NCEP-ATP III, varia entre 8% e 24% nos homens e entre 7% e 46% nas mulheres. Apesar das campanhas de promoção de hábitos saudáveis, esses ainda não são uma realidade para grande parte da população (ABREU et al., 2025; HSIN-HUI et al., 2018; WONG et al., 2016).

Diversos estudos indicam uma possível associação entre osteoporose e síndrome metabólica, visto que ambas as condições apresentam alta incidência na população. Para o tratamento dessas doenças, há no mercado diversos medicamentos classificados como anti-reabsortivos e anabolizantes, cujo objetivo principal é

minimizar a perda óssea por meio do aumento da densidade mineral óssea e da melhora da microarquitetura do tecido (DURDEN et al., 2017).

Apesar da variedade de medicamentos disponíveis, os anti-reabsortivos da classe dos bifosfonatos continuam sendo a principal opção no tratamento da osteoporose. Entretanto, no campo da odontologia, sua utilização ainda gera preocupações, especialmente devido à ocorrência de osteonecrose dos maxilares associada a essa terapia (GRIZALES et al., 2020; BACCARO et al., 2015; RUGGIERO et al., 2014). Considerando os efeitos sistêmicos provocados por esses fármacos, bem como seus benefícios comprovados, há a necessidade de desenvolver novas estratégias de administração que minimizem os potenciais efeitos adversos relacionados ao seu uso.

Nesse contexto, o diferencial desta proposta reside na combinação do tratamento sistêmico com o bifosfonato risedronato de sódio com a aplicação local da genisteína, incorporada à superfície dos implantes por meio da técnica Layer-by-Layer (SHIN et al., 2017). Essa associação permite que o efeito local da genisteína desempenhe um papel fundamental na melhoria da resposta de osseointegração neste modelo experimental e visa evitar os possíveis efeitos colaterais que a administração sistêmica deste fármaco poderia causar.

Portanto, este projeto tem por objetivo caracterizar o processo de reparo alveolar do tecido ósseo perimplantar em maxila após a instalação de implantes funcionalizados com genisteína, tratamento local, associado a um tratamento sistêmico com o bifosfonato risedronato de sódio, a fim de visualizar o seu efeito sobre o osso periimplantar em ratas submetidas a ovariectomia e a dieta de cafeteria, avaliando o efeito local deste fármaco nas condições que mimetizam a osteoporose e a síndrome metabólica. O caráter inovador desta proposta consiste na busca por ferramentas que melhorem a resposta de osseointegração baseando-se na incorporação de substância química que tem um efeito local sobre as células do leito receptor do implante, melhorando as características do tecido ósseo e consequentemente a longevidade do procedimento reabilitador.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 ANIMAIS

Com a aprovação do comitê de ética em experimentação animal (processo 566-2019), foram utilizadas 30 ratas wistar fêmeas provenientes do biotério central. Foram divididas em 3 grupos, nos quais SHAM representam os animais controle submetidos apenas à cirurgia fictícia e com dieta de cafeteria e, portanto, síndrome metabólica respectivamente. Os grupos OVX-CD e OVX-CD-RIS são os animais que além das cirurgias de ovariectomia bilateral tem a dieta de cafeteria e tratamento medicamentoso sistêmico, respectivamente. Cada um dos grupos foi subdividido de acordo com os tipos de implantes a serem instalados. Assim, obtivemos os subgrupos: implantes convencionais (IC) e implantes funcionalizados com genisteína (GEN). Os animais de todos os grupos foram mantidos em gaiolas e alimentados com ração balanceada e água até o momento em que houve a divisão de acordo com a osteoporose e a síndrome metabólica induzidas com o tratamento medicamentoso. Após a recuperação cirúrgica (SHAM e OVX), os animais dos grupos CD receberam a dieta de cafeteria para a determinação da síndrome metabólica. As ratas dos subgrupos ris, receberam o tratamento medicamentoso com risedronato de sódio (0,7mg/kg/semana), via gavagem.

**Tabela 1 - Divisão dos grupos estudados e exemplificação do número de amostras.**

|                                 | SHAM | OVX-CD | OVX-CD-RIS |
|---------------------------------|------|--------|------------|
| Implantes convencionais (IC)    | 5    | 5      | 5          |
| Implantes funcionalizados (GEN) | 5    | 5      | 5          |

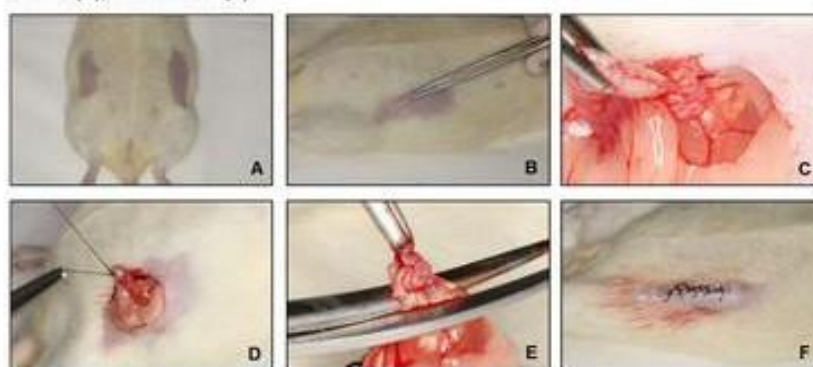
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

### 2.2 OVARIECTOMIA BILATERAL

Os animais ficaram em jejum durante oito horas antecedentes ao procedimento cirúrgico e as ratas dos grupos ovariectomizados (OVX) foram anestesiadas com

Cloridrato de Xilazina e Cloridrato de Quetamina e imobilizadas sob prancha cirúrgica onde foi realizada uma incisão de 1cm nos flancos e divulsão por planos do tecido subcutâneo e do peritônio afim acessar à cavidade abdominal. Em seguida, foram localizados e laqueados os ovários e os chifres uterinos com fio de Poliglactina 910 4.0 para remoção dos ovários. Por fim, foi feita a sutura por planos com fio de Poliglactina 910 4.0. As ratas do grupo SHAM passaram pelo mesmo procedimento, porém foi realizada apenas a exposição cirúrgica dos chifres uterinos e dos ovários sem suas respectivas laqueadura e remoção, com intuito de submeter os animais deste grupo ao mesmo estresse cirúrgico dos demais grupos.

**Figura 1: Ilustração da cirurgia bilateral de ovariectomia. A: tricotomia; B: corte com tesoura; C e D: acesso ao ovário e laqueamento; E: corte dos ovários; F: sutura em planos.**



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

### **2.3 DIETA DE CAFETERIA – SÍNDROME METABÓLICA**

Após a recuperação das cirurgias (SHAM/OVX) e durante o restante de todo o experimento, foi oferecida uma dieta de alta densidade energética (hiperlipídica) de cafeteria. Para cada rata, foi pesado diariamente 30g do alimento, variando entre bolachas recheadas, bolachas “waffer” e salgadinho de milho. Também foi disponibilizado água com uma concentração de 12% de sacarose. A cada 15 dias foi realizado o controle de peso, glicemia, índice de Lee e medida da pressão arterial por pletismografia caudal para acompanhar o desenvolvimento das alterações metabólicas. Além disso, foi coletado sangue dos animais deste grupo, através de punção cardíaca, 1 dia antes da cirurgia de instalação dos implantes para caracterizar o perfil lipídico e verificar a presença das dislipidemias.

## **2.4 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO SISTÊMICO - RISEDRONATO DE SÓDIO**

Este tratamento iniciou depois de 20 dias da cirurgia OVX no grupo OVX-CD-RIS e foi mantido até o final do experimento. O fármaco, foi administrado na dosagem de 0,7mg/kg, semanalmente, de acordo com as orientações na bula do medicamento, através de gavagem, utilizando uma agulha curva de gavagem, e a medicação diluída em água. A agulha de gavagem é utilizada com o intuito de levar a medicação até próximo a região do esôfago. O volume final administrado é de 0,3ml.

## **2.5 TRATAMENTO MEDICAMENTOSO LOCAL – FUNCIONALIZAÇÃO COM GENISTEÍNA**

A administração desse medicamento foi feita a partir de implantes com sua superfície funcionalizada com Genisteína pela técnica de deposição por LayerbyLayer (LbL), que consiste na imersão de um substrato sólido (geralmente com certo desequilíbrio de cargas em sua superfície) por um determinado intervalo de tempo numa solução aquosa contendo o material a ser depositado (Shin et al, 2017). A técnica LbL tem como vantagens a simplicidade dos materiais envolvidos para a formação de multicamadas, o substrato pode ser de qualquer geometria e o solvente comumente empregado é a água.

## **2.6 CIRURGIAS PARA EXODONTIAS DOS PRIMEIROS MOLARES SUPERIORES E INSTALAÇÃO IMEDIATA DOS IMPLANTES**

Após o jejum pré-cirúrgico, os animais foram sedados pela combinação de 50mg/kg de Ketamina intramuscular e 5mg/Kg de cloridrato de xilazina e receberam cloridrato de mepivacaína como anestesia local e para hemostasia do campo operatório. Em seguida, o animal foi posicionado na mesa cirúrgica confeccionada especialmente para procedimentos em roedores, favorecendo a manutenção da cavidade bucal aberta e proporcionando um posicionamento adequado para o procedimento de exodontia. Então, foi feita a antissepsia da região com Polivinilpirrolidona iodo tópico. Depois foi realizada a exodontia dos primeiros molares superiores com o auxílio de um esculpador Hollenbeck nº 3S, para a realização da diérese; sindesmotomia, em seguida a luxação do primeiro molar superior com o esculpador de hollenbeck 3S utilizando o princípio de uso em forma de cunha e alavanca, para em seguida realizar a elevação do elemento dentário (exodontia), não havendo à necessidade de



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

## 2.7 ANÁLISES

### 2.7.1 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA (TORQUE REVERSO DOS IMPLANTES)

Para a análise biomecânica, aos 28 dias após a exodontia dos 1° molares superiores e instalação imediata dos implantes, os animais foram sedados com cloridrato de quetamina e xilazina e as maxilas foram acessadas para exposição dos implantes e realização do torque reverso. Um monta-implante (Neodent, Curitiba, Paraná, Brasil) foi adaptado ao hexágono do implante e o torquímetro digital foi acoplado ao monta-implante. Foi aplicado movimento anti-horário aumentando-se o torque reverso até a rotação do implante no interior do tecido ósseo, rompendo-se completamente a interface osso/implante, momento em que o torquímetro registra o pico máximo de torque para esse rompimento, em Newton por centímetro (N.cm).

**Figura 4: Torquímetro digital.**



Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

### 2.7.2 ANÁLISE DE PCR EM TEMPO REAL

Após a realização do torque reverso, as maxilas foram removidas e reduzidas com disco de aço montado em baixa rotação, respeitando pelo menos 0,5 cm em cada face do espaço perimplantar, preservando este osso que estava em contato com as espiras dos implantes. A reação de cadeia de polimerase em tempo real (PCR) foi realizada com o objetivo de avaliar a expressão gênica de marcadores relacionados ao processo de reparo ósseo ao redor dos implantes. Cada fragmento ósseo foi cuidadosamente lavado em PBS e posteriormente congelado em nitrogênio líquido para que o RNA total seja extraído com o reagente Trizol (life Technologies:

Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e mantidos em freezer em temperatura de  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise.

Após a análise da integridade, pureza e concentração do RNA, foi confeccionado o cDNA utilizando  $1\mu\text{g}$  de RNA através da reação de transcriptase reversa (M-MLV transcriptase reversa: Promega Corporation, Madison, WI, USA). Os cDNAs das amostras foram pipetados juntamente com o Taqman Fast Advanced Mastermix (Applied Biosystems) na placa para PCR (96 well fast thermal cycling, Life Biotechnologies) para detecção de genes envolvido no processo de reparo ósseo (Taqman Gene Expression Assays). Os genes que foram estudados são os que codificam a Fosfatase Alcalina, Sialoproteína Óssea, e Osteocalcina. O PCR foi realizado num sistema de detecção para PCR em tempo real Quantum 3 (Applied Biosystems) sob as seguintes condições:  $50^{\circ}\text{C}$  (2 minutos),  $95^{\circ}\text{C}$  (10 minutos) e 40 ciclos de  $95^{\circ}\text{C}$  (15 segundos),  $60^{\circ}\text{C}$  (1 minuto), seguido pela curva de desnaturação padrão. A expressão gênica relativa foi calculada em referência à expressão das proteínas ribossômicas mitocondriais e normalizada pela expressão gênica dos fragmentos ósseos dos alvéolos em reparação dos diferentes períodos experimentais (método  $\Delta\Delta\text{CT}$ ). O ensaio foi feito em quadruplicata.

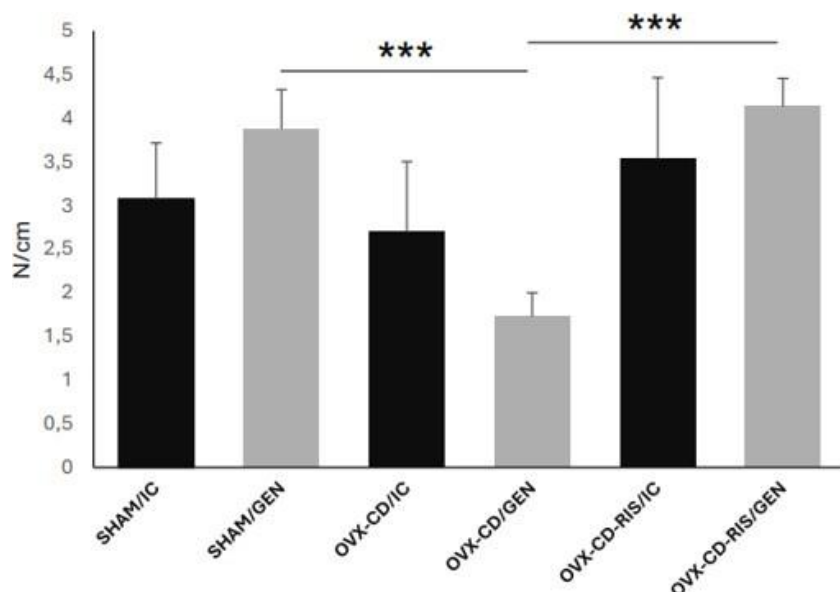
### 3 RESULTADOS

#### 3.1 AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA (TORQUE REVERSO DOS IMPLANTES)

A seguir, será apresentado os dados referentes ao torque de remoção dos 3 grupos experimentais, comparando-se as duas superfícies testadas, Convencional e Funcionalizada com Genisteína. Os resultados obtidos mostram que o grupo OVX-CD-RIS/GEN resultou melhores valores, seguido por SHAM/GEN e OVX-CD/GEN. Apesar de não ter diferença estatística significativa, o grupo OVX-CD-RIS com a superfície do implante funcionalizada com genisteína obteve melhores valores em comparação com o OVX-CD-RIS convencional.

**Gráfico 1: Resultado de valores médios obtidos no torquímetro digital durante a remoção dos implantes. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA two way, tendo como fatores avaliados a condição sistêmica dos animais e a superfície dos implantes testados. Havendo diferenças entre os**

fatores, foi aplicado o pós teste de Tukey, com nível de significância de ( $p < 0,05$ ).

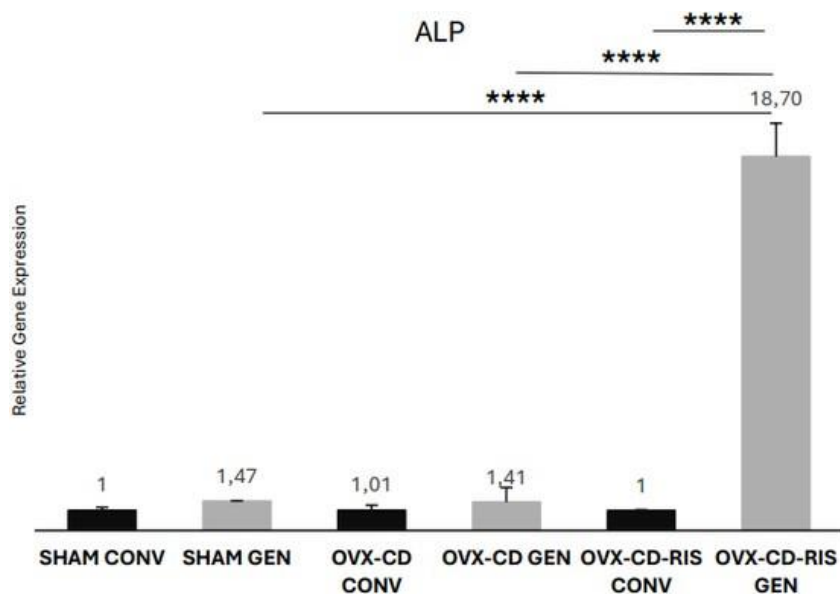


Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

### 3.2 ANÁLISE DE PCR

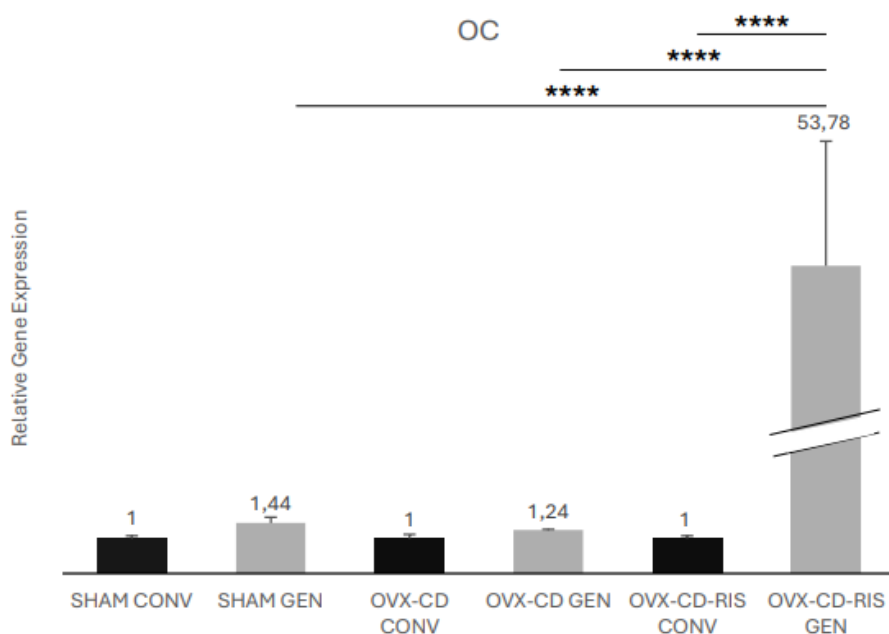
Nesta próxima análise, os resultados exibiram que a genisteína local associada ao risedronato de sódio sistêmico contribuiu para que houvesse uma melhora significativa na expressão de genes ALP, BSP e OCN, os quais estão relacionados a formação óssea e mineralização óssea. O grupo OVX RIS CD, associado com a genisteína local apresentaram maiores valores das expressões gênicas avaliadas, como mostram os gráficos a seguir.

**Gráfico 2: Padrão de expressão gênica da fosfatase alcalina. Os resultados obtidos por meio de análise molecular utilizando B2M como gene constitutivo. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA bidirecional, tendo como fatores avaliados a condição sistêmica dos animais e a superfície dos implantes testados. Caso houvesse diferenças entre os fatores, o pós-teste de Tukey foi aplicado, com nível de significância de ( $p < 0,05$ ).**



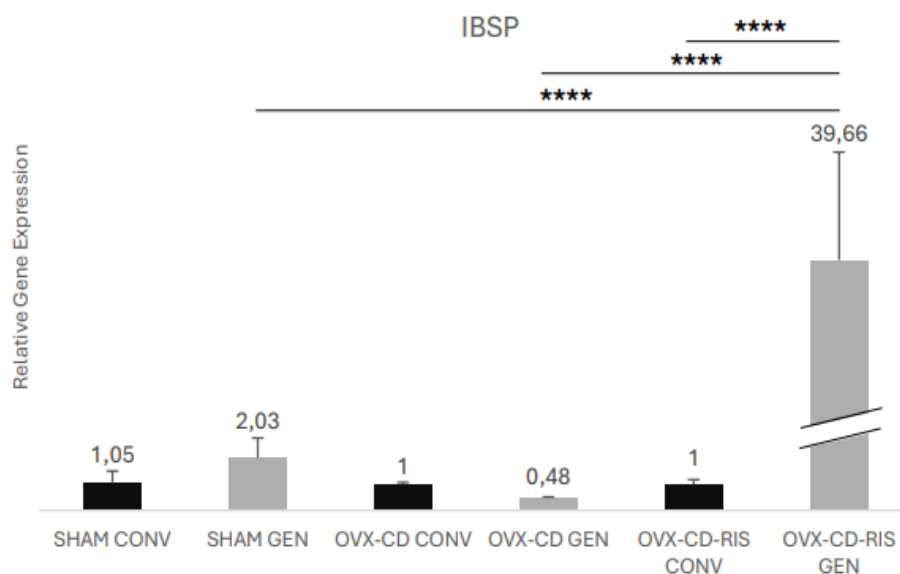
Fonte: Elaborado pela autora, 2025.

**Gráfico 3: Padrão de expressão gênica da osteocalcina.** Os resultados obtidos por meio de análise molecular utilizando B2M como gene constitutivo. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA bidirecional, tendo como fatores avaliados a condição sistêmica dos animais e a superfície dos implantes testados. Caso houvesse diferenças entre os fatores, o pós-teste de Tukey foi aplicado, com nível de significância de ( $p < 0,05$ ).



Fonte: Elaborado pela autora, 2025

**Gráfico 4: Padrão de expressão gênica da sialoproteína óssea. Os resultados obtidos por meio de análise molecular utilizando B2M como gene constitutivo. Os dados foram submetidos ao teste estatístico ANOVA bidirecional, tendo como fatores avaliados a condição sistêmica dos animais e a superfície dos implantes testados. Caso houvesse diferenças entre os fatores, o pós-teste de Tukey foi aplicado, com nível de significância de ( $p < 0,05$ ).**



Fonte: Elaborado pela autora, 2025

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a interação entre o uso sistêmico do risedronato de sódio e a aplicação local da genisteína como estratégia para favorecer o reparo ósseo peri-implantar em ratas com deficiência estrogênica e submetidas a condições metabólicas alteradas, simulando um quadro compatível com a osteoporose. (DEMPSTER; LINDSAY, 1993; WONG et al., 2016).

A dieta de cafeteria foi utilizada com o propósito de mimetizar a síndrome metabólica, caracterizada por um conjunto de alterações sistêmicas associadas à dislipidemia, uma condição frequentemente observada no período pós-menopáusic. Dessa forma, buscou-se estabelecer um modelo experimental que reflita de maneira mais fiel as condições clínicas reais.

Na avaliação biomecânica realizada por meio do teste de torque reverso, observou-se que o grupo OVX-CD-RIS/GEN, que recebeu tanto o risedronato sistêmico quanto a genisteína local, apresentou os melhores resultados, comparáveis ao grupo saudável SHAM/GEN. Esses dados sugerem uma melhora na resistência biomecânica do tecido ósseo ao redor dos implantes. Por outro lado, os grupos SHAM/GEN e OVX-CD/GEN, que receberam apenas a aplicação local de genisteína, demonstraram desempenho inferior, indicando que a funcionalização do implante, quando utilizada de forma isolada, não promove benefícios significativos sem a ação sistêmica complementar.

Ainda que os valores não tenham apresentado significância estatística, o grupo OVX-CD-RIS/GEN obteve melhores resultados quando comparado ao grupo OVX-CD-RIS/IC, sugerindo uma possível contribuição adicional da genisteína para o fortalecimento biomecânico do tecido ósseo peri-implantar.

A análise de PCR em tempo real tornou-se a tecnologia de referência para a detecção e quantificação de ácidos nucleicos em ambientes de pesquisa, diagnóstico, forense e biotecnológico (Bustin SA, 2010). Os dados obtidos nessa análise revelaram que o grupo OVX-CD-RIS/GEN apresentou expressões significativamente superiores nos três marcadores gênicos analisados: ALP

(fosfatase alcalina), iBSP (sialoproteína óssea) e OCN (osteocalcina), todos relacionados à formação e mineralização do tecido ósseo. Os demais grupos mostraram níveis inferiores de expressão gênica, com diferenças estatísticas pouco relevantes entre si. O que evidencia que a utilização simultânea do medicamento sistêmico (risedronato) com a genisteína contribui para uma melhora do tecido ósseo.

Este projeto teve como objetivo mimetizar o quadro de pacientes osteoporóticas em tratamento com o fármaco antirreabsortivo risedronato de sódio. Muitos desses pacientes apresentam a necessidade de reabilitação com implantes dentários, uma demanda crescente na odontologia. Considerando os possíveis efeitos adversos associados a esse medicamento, como a osteonecrose dos maxilares, foi adotada a estratégia de instalação de implantes funcionalizados com genisteína, com o intuito de mitigar tais efeitos colaterais. Como resultado, essa abordagem apresentou efeitos positivos na melhora do reparo peri-implantar.

## **5. CONCLUSÃO**

Dessa forma, os resultados desse presente estudo indicam que a associação do risedronato de sódio, um bifosfonato administrado por via sistêmica, à aplicação local de genisteína em implantes funcionalizados contribui de maneira positiva para a expressão de genes relacionados ao tecido ósseo, além de promover o fortalecimento biomecânico desse tecido. Portanto, favorecem o processo de osseointegração e o reparo ósseo peri-implantar.

## REFERÊNCIAS

**ABREU, A. P. de et al.** Síndrome cardiovascular renal metabólica: um conceito atual e urgente. *Brazilian Journal of Nephrology*, São Paulo, v. 47, n. 2, e20240277, abr.–jun. 2025. DOI: 10.1590/2175-8239-JBN-2024-0277pt.

**ADAMS, G. J. et al.** Microarchitecture and morphology of bone tissue over a wide range of BV/TV assessed by micro-computed tomography and three different threshold backgrounds. *Medical Engineering & Physics*, v. 106, 2022.

**AL-SHAHAT, A. R.; SHAIKH, M. A.; ELMANSI, R. A.** Prostatic assessment in rats after bilateral orchidectomy and calcitonin treatment. *Endocrine Regulations*, v. 45, n. 1, p. 29-36, 2011.

**BACCARO, L. F. et al.** The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: a viewpoint from Brazil. *Clinical Interventions in Aging*, v. 10, p. 583-591, 2015.

**CAIRES, E. L. P. et al.** Tratamento da osteoporose pós-menopáusicas: um algoritmo baseado na literatura para uso no sistema público de saúde. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 57, n. 3, p. 254-263, 2017.

**CASTRO GAMBOA, Adriana et al.** Fatores de risco e prevalência de osteopenia e osteoporose em mulheres posmenopáusicas diagnosticadas por densitometria óssea. *Acta Médica Costarricense*, San José, v. 64, n. 1, p. 44–51, mar. 2022. DOI: 10.51481/amc.v64i1.1217.

**DEMPSTER, D. W.** Bone remodeling. In: RIGGS, B. L.; MELTON, L. J. *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management*. 2. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1995. cap. 3, p. 67-91.

**DEMPSTER, D. W.; LINDSAY, R.** Pathogenesis of osteoporosis. *The Lancet*, v. 341, p. 797-801, mar. 1993.

**DURDEN, E. et al.** Two-year persistence and compliance with osteoporosis therapies among postmenopausal women in a commercially insured population in the United States. *Archives of Osteoporosis*, v. 12, n. 1, p. 22, 2017.

**FERNANDEZ-GRISALES, Rafael et al.** Conhecimento, atitudes e práticas de dentistas na Colômbia em relação à osteonecrose dos maxilares induzida por bifosfonatos. *CES Odontología*, Medellín, v. 33, n. 1, p. 14-21, jan. 2020.

**GENNARI, L.; KHOSLA, S.; BILEZIKIAN, J. P.** Estrogen and fracture risk in men. *Journal of Bone and Mineral Research*, v. 23, n. 10, p. 1548-1551, 2008.

**GOLDS, G.; HOUDEK, D.; ARNASON, T.** Male hypogonadism and osteoporosis: the effects, clinical consequences, and treatment of testosterone deficiency in bone health. *International Journal of Endocrinology*, v. 2017, p. 4602129, 2017.

**RUGGIERO, S. L. et al.** American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw – 2014 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, v. 72, n. 10, p. 1938-1956, 2014.

**SHIN, Q. et al.** Surface modification of dental titanium implant layer-by-layer electrostatic self-assembly. *Frontiers in Physiology*, 2017.

**SILVA, Mariana Cruz da et al.** Inércia terapêutica na osteoporose em mulheres pós-menopáusicas. *Revista Portuguesa de Medicina Geral e Familiar*, Lisboa, v. 40, n. 5, p. 444-449, out. 2024.

**TELLA, S. H.; GALLAGHER, J. C.** Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v. 142, p. 155-170, 2014.

**TARANTINO, U. et al.** Clinical guidelines for the prevention and treatment of osteoporosis: summary statements and recommendations from the Italian Society for Orthopaedics and Traumatology. *Journal of Orthopaedics and Traumatology*, v. 18, supl. 1, p. 3-36, 2017.

## ANEXOS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

---

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Relatório Final do trabalho intitulado "Avaliação do efeito sinérgico entre Risedronato sistêmico e Genisteína local sobre o reparo periimplantar em ratas com deficiência de estrogênio e síndrome metabólica", Processo FOA nº 2019-0566, sob responsabilidade de Roberta Okamoto e colaboração de Jaqueline Suemi Hassumi e Paulo Noronha Lisboa Filho foi aprovado pela CEUA em 24 de Fevereiro de 2022.

**CERTIFICATE**

We certify that the study entitled "Evaluation of the synergistic effect between systemic Risedronate and local genistein on peri-implant repair in estrogen deficient rats and metabolic syndrome", Process FOA nº 2019-0566, under the supervision of Roberta Okamoto and collaboration of Jaqueline Suemi Hassumi and Paulo Noronha Lisboa Filho had its the Final Report approved by the CEUA on February 24, 2022.

**Prof. Associado João Carlos Callera**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator