

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 31/07/2024.

**COMPORTAMENTO DE CÉLULAS ENDOTELIAIS AO
TITÂNIO CONTRIBUI PARA UM EFEITO PARÁCRINO
CAPAZ DE PROMOVER A DIFERENCIAÇÃO DE
OSTEOBLASTOS**

PATRICIA LUCIA FRETES WOOD

Botucatu

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Instituto de Biociências de Botucatu

PATRICIA LUCIA FRETES WOOD

**COMPORTAMENTO DE CÉLULAS ENDOTELIAIS AO
TITÂNIO CONTRIBUI PARA UM EFEITO PARÁCRINO
CAPAZ DE PROMOVER A DIFERENCIAÇÃO DE
OSTEOBLASTOS**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do
título de Doutor junto Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia, área de
concentração Biotecnologia aplicada à saúde
humana e animal.

*Orientação: Profº. Drº. Willian Fernando
Zambuzzi*

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Wood, Patricia Lucia Fretes.

Comportamento de células endoteliais ao titânio
contribui para o efeito parácrino capaz de promover a
diferenciação de osteoblastos /
Patricia Lucia Fretes Wood. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Willian Fernando Zambuzzi
Capes: 31302017

1. Células Endoteliais. 2. Materiais biomédicos.
3. Implantes dentários. 4. Osseointegração. 5. Titânio.

Palavras-chave: Análises biológicas; Biomaterial;
Implantes dentários; Osteointegração; Titânio.

“Se eu vi mais longe, foi por estar sentado sobre ombros de gigantes.”

Sir Isaac Newton

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
CAPITULO 1.....	12
1. INTRODUÇÃO E MOTIVAÇÃO	12
2. OSSO: ASPECTOS GERAIS	13
3. BIOMATERIAIS	13
4. ADESÃO DE CÉLULAS SOBRE MATERIAIS: PRIMEIRO PASSO INTEGRAÇÃO DE BIOMATERIAIS E REGENERAÇÃO ÓSSEA	14
5. ENDOTÉLIO E O FLUXO SANGUÍNEO	16
6. OBJETIVOS.....	19
CAPITULO 2.....	20
2. MATERIALS & METHODS	23
2.1. Reagents	23
2.2. Titanium-enriched medium obtaining and experimental design	24
2.3. Cell culture	26
2.4. Gene expression.....	26
2.5 Western blot.....	29
2.6. Statistical Analysis	30
3. RESULTS	30
4. DISCUSSION.....	36
5. CONCLUSION	38
6. REFERENCES	38
CAPITULO 3.....	45
1. INTRODUCTION	47
2. MATERIAL AND METHODS.....	49
2.1. Materials and titanium alloys.....	49
2.2 Cell culture.	49
2.3 Preparation of angiocrine factors-obtaining medium.....	50
2.5 Titanium content was quantified by GFAAS.....	52
2.6 mRNA isolation and qPCR analysis	53
2.7 Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray (EDX). 54	
2.8 Gelatin proteolysis-based zymography	55
2.9 Statistical analysis	55

3. RESULTS.....	55
3.2. Mechanotransduction-related endothelial cell signaling drives angiocrine factors able to require Col3A1 and profile of ECM remodeling in differentiating osteoblasts.....	60
4. DISCUSSION.....	64
5. CONCLUSION	67
6. REFERENCES	68
DISCUSSÃO	75
Referências Bibliográficas	78

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1

Figura 1. Mecanismos intracelulares decorrentes da adesão celular.....	15
Figura 2. Tensões mecânicas exercidas na parede do vaso.....	16
Figura 3. Fluxo sanguíneo laminar e fluxo sanguíneo perturbado	18

CAPITULO 2

Fig.1. Experimental design performed in this study	25
Fig.2. Effect of titanium-enriched medium on HDAC1, HDAC2 and HDAC3...	31
Fig.3. Effect of titanium-enriched medium on HDAC6 and SIRT1.....	32
Fig.4. Effect of titanium-enriched medium on H2B	33
Fig.5. Effect of titanium-enriched medium on DNMTs	34
Fig.6. Effect of titanium-enriched medium on TETs.....	35

CAPITULO 3

Fig.1. Schematization of the experimental flow and timeline	51
Fig.2. Titanium surfaces dynamically interact with the microenvironment	56
Fig.3. Osteogenic transcription factors Runx2 and Osterix genes are modulated by angiocrine factors	57
Fig.4. Differentiated osteoblast gene markers were higher in response to angiocrine factors obtained from EC	59
Fig.5. Col3A1 gene was higher in response to mechanotransduction-related endothelial cell signaling sourced angiocrine factors	60
Fig.6. Bone ECM remodeling-related gene markers are finely modulated by mechanotransduction-related endothelial cell signaling sourced angiocrine soluble factors.....	62
Fig.7. MMPs activities in Ob are modulated by angiocrine soluble factors sourced from mechanotransduction-related endothelial cell signaling	63
Fig.8. Schematization chart gathers the main findings of this study explaining the biocompatibility of titanium-based alloys.....	64

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 2

Table 1. Data sheet of the specific genes evaluated in this study	27
--	----

CAPITULO 3

Table 1. Genes, primers sequences and running condition.....	53
---	----

LISTA DE ABREVIACÕES

ALP - Alkaline phosphatase

ANOVA - Análise de variância

BG - background correction

BSP - bone sialoprotein

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

cDNA - fita complementar de ácido desoxiribonucleico

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico

Col1a1 – Cadeia alpha 1 de colágeno tipo 1

Col3a1 – Cadeia alpha 3 de colágeno tipo 1

CT - cycle threshold

Ctrl - control group

DAE - Dual Acid-Etched

DNA – Ácido desoxiribonucleico

DNMT1 - DNA methyltransferases 1

DNMT3A - DNA methyltransferases 3A

DNMT3B - DNA methyltransferases 3B

ECL - Enhanced chemiluminescence solution

ECM - extracellular matrix

ECs - endothelial cells

EDX - Energy Dispersive X-ray

eNOS - Endothelial nitric oxide synthase

FAK - Focal Adhesion Kinases

FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FBS - Fetal Bovine Serum

GAPDH - Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

GFAAS - Graphite furnace atomic absorption spectrometry

H2B – Histone 2B

HATs - histone acetyltransferase

HDAC1 - histone deacetylases 1

HDAC2 - histone deacetylases 2

HDAC3 - histone deacetylases 3

HDAC6 - histone deacetylases 6

HUVEC - Human Umbilical Vein Endothelial Cells

ISO – International Organization for Standardization
lnc-RNA – Long non-coding RNA
MMP - metalloproteinases
MMP2 - metalloproteinases 2
MMP9 - metalloproteinases 3
NO - Nitric Oxide
NOTCH – Neurogenic locus notch homolog protein
O.M. - Osteogenic Medium
OCN – osteocalcin
PCR - Polymerase Chain Reaction
pOb - pre-osteoblasts
PTP1B - protein tyrosine phosphatases 1B
PTPs - protein tyrosine phosphatases
qPCR - quantitative real time Polymerase Chain Reaction
RNA - Ribonucleic acid
ROS - reactive oxygen species
Runx2 - Runt-related transcription factor 2
SD - standard deviation
SEM - Scanning Electron Microscopy
SIN - Implants System Company
SIRT1 - NAD-dependent deacetylase sirtuin-1
SR - self-reverse system
Src - Receptor Tyrosine Kinase
SS – Static
TET - methylcytosine dioxygenase
TET1 - methylcytosine dioxygenase 1
TET2 - methylcytosine dioxygenase 2
TET3 - methylcytosine dioxygenase 3
Ti - Titanium
TIMP1 - metalloproteinase inhibitor 1
TIMP2 - metalloproteinase inhibitor 2
TiO₂ – Titanium oxide
W – with
Wo – without

RESUMO

Os mecanismos biológicos envolvidos com a osseointegração de implantes dentários a partir de ligas de titânio ainda não são totalmente conhecidos. Nosso grupo tem mostrado evidências importantes do ponto de vista do crosstalk entre osteoblastos e células endoteliais nesse processo. Para investigar se esse crosstalk estava ocorrendo nesse contexto, também consideramos a sinalização de células endoteliais relacionada à mecanotransdução sob tensão de cisalhamento laminar (até 3 dias), e esse meio enriquecido com fatores angiocrinos foi colhido posteriormente para ser usado na exposição de pré-osteoblastos (pOb) por até 7 dias in vitro. Dois tipos de superfícies de titânio foram considerados da seguinte forma: superfície com duplo ataque ácido (com DAE) e superfícies usinadas (sem DAE). Preliminarmente, mostramos que células endoteliais sofrem uma reprogramação epigenética em resposta ao meio enriquecido com titânio. Coletivamente, todos esses achados apoiam a hipótese de que o titânio mantém o microambiente circundante dinamicamente ativo e, portanto, afeta o desempenho das células endoteliais por meio da modulação epigenética. Especificamente, este estudo destaca a importância do HDAC6 como um participante desse processo, talvez correlacionado com a reorganização do citoesqueleto dessas células (Capítulo 2). Posteriormente, no Capítulo 3, mostramos que estas moléculas angiócrinas liberadas por células endoteliais são importantes no controle da diferenciação de osteoblastos: em resumo, nossos dados mostram a importância da mecanossinalização em favor da liberação de fatores bioativos pelas células endoteliais periimplante, que são responsáveis por criar um microambiente osteogênico capaz de induzir a diferenciação de osteoblastos e modular a remodelação da matriz extracelular (ECM). Levando isso em consideração, parece que as moléculas angiócrinas baseadas na mecanotransdução explicam o uso bem-sucedido do titânio durante a osseointegração.

ABSTRACT

The biological mechanisms involved in the osseointegration of dental implants made from titanium alloys are not yet fully understood. Our group has provided significant evidence from the perspective of crosstalk between osteoblasts and endothelial cells in this process. To investigate whether this crosstalk was occurring in this context, we also considered endothelial cell signaling related to mechanotransduction under laminar shear stress (up to 3 days), and this angiocrine-enriched medium was subsequently harvested for use in exposing pre-osteoblasts (pOb) for up to 7 days in vitro. Two types of titanium surfaces were considered as follows: double acid etching-treated surfaces (with DAE) and machined surfaces (without DAE). Preliminarily, we have shown that endothelial cells undergo epigenetic reprogramming in response to titanium-enriched medium. Collectively, all these findings support the hypothesis that titanium keeps the surrounding microenvironment dynamically active and thus affects the performance of endothelial cells by modulating epigenetics. Specifically, this study highlights the importance of HDAC6 as a participant in this process, perhaps correlated with the cytoskeleton rearrangement of these cells (Chapter 2). Subsequently, in Chapter 3, we demonstrate that these angiocrine molecules released by endothelial cells are crucial in controlling osteoblast differentiation. In summary, our data shows the relevance of mechanosignaling in favor of the release of bioactive factors by peri-implant endothelial cells, which are responsible for creating an osteogenic microenvironment capable of inducing osteoblast differentiation and modulating extracellular matrix (ECM) remodeling. Taking this into account, it appears that mechanotransduction-based angiocrine molecules explain the successful use of titanium during osseointegration.

CAPITULO 1

1. INTRODUÇÃO E MOTIVAÇÃO

Os biomateriais têm sido objeto de extensas pesquisas na área da saúde devido à sua importância na melhoria da qualidade de vida e na longevidade humana. Os biomateriais são dispositivos utilizados para substituir ou restaurar estruturas biológicas danificadas, como na recuperação de lesões ósseas. Devido ao aumento expressivo da expectativa de vida da população, a demanda por biomateriais tem crescido significativamente. Dentre as diversas opções de biomateriais, as ligas metálicas têm se destacado devido às suas características, como alta durabilidade, resistência à corrosão, estabilidade química, biocompatibilidade e baixa citotoxicidade (DE VITERI; FUENTES, 2013).

Em aplicações biomédicas que visam à recuperação de tecido ósseo, as ligas de titânio têm obtido altas taxas de sucesso e são amplamente recomendadas devido às suas excelentes propriedades mecânicas e químicas (BEZERRA et al., 2017; FERNANDES et al., 2018; ROSSI et al., 2017a). Além disso, essas ligas são eficazes na promoção da osteointegração, um processo relacionado principalmente à formação de uma camada de óxido em sua superfície, que estabelece um contato direto com o osso em processo de recuperação (DA COSTA FERNANDES et al., 2018a; DA S. FELTRAN et al., 2019; ROSSI et al., 2017b; SAGHIRI et al., 2016)

No entanto, contrariamente ao que se acreditava na ciência, implantes de titânio não são inertes e, portanto, causam respostas biológicas locais e sistêmicas (ALBANO et al., 2020; DA COSTA FERNANDES et al., 2018b; DA S. FELTRAN et al., 2019; DA SILVA et al., 2020; DE VITERI; FUENTES, 2013; FERREIRA et al., 2021; GOMES et al., 2020b). Nesse contexto, nosso interesse se volta para a análise da influência do implante de titânio no tecido vascular circundante, uma vez que o processo de regeneração óssea depende também de um suprimento sanguíneo adequado para fornecer nutrientes, oxigênio e células osteoprogenitoras (SAGHIRI et al., 2016). Esses mecanismos de cicatrização ao redor dos implantes envolvem uma série de eventos dinâmicos, nos quais a angiogênese desempenha um papel crucial, juntamente com a coagulação, inflamação e remodelação tecidual (AN et al., 2010). Além disso, a superfície do biomaterial de titânio libera partículas químicas em seu ambiente, que podem interferir

no metabolismo das células endoteliais que revestem o tecido vascular, afetando os mecanismos de transdução intracelular de sinais (SAGHIRI et al., 2014).

CONCLUSÃO

Em conjunto, nossos dados reúnem, pela primeira vez, evidências suficientes para atribuir valor à sinalização parácrina das células endoteliais, sob controle epigenético, como pré-requisito e fonte de moléculas angiogênicas capaz de conduzir a diferenciação de osteoblastos. Além disso, quando esses achados são considerados em conjunto, eles podem explicar o sucesso do titânio como liga metálica em aplicações biomédicas e explicar os trabalhos pioneiros do Prof. Brabemark em relação a osseointegração.

Referências Bibliográficas

- ALBANO, C. S. et al. Biofunctionalization of titanium surfaces with alendronate and albumin modulates osteoblast performance. **Heliyon**, v. 6, n. 7, p. e04455, jul. 2020.
- AN, N. et al. Proliferation, behavior, and cytokine gene expression of human umbilical vascular endothelial cells in response to different titanium surfaces. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 93, n. 1, p. 364–372, 2010.
- ANDO, J.; YAMAMOTO, K. Effects of shear stress and stretch on endothelial function. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 15, n. 5, p. 1389–1403, 2011.
- BARONCELLI, M. et al. Human mesenchymal stromal cells in adhesion to cell-derived extracellular matrix and titanium: Comparative kinome profile analysis. **Journal of cellular physiology**, v. 234, n. 3, p. 2984–2996, mar. 2019.
- BEZERRA, F. et al. Nano hydroxyapatite-blasted titanium surface affects pre-osteoblast morphology by modulating critical intracellular pathways. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 114, n. 8, p. 1888–1898, 1 ago. 2017.
- CAFORIO, M.; MANISCALCO, P. The importance of early rehabilitation in proximal humeral fracture: A clinical trial of efficacy and safety of a new endomedullary nail. **Journal of Back and Musculoskeletal Rehabilitation**, v. 30, n. 2, p. 195–202, 2017.
- CAVAGIS, A. et al. TNF α contributes for attenuating both Y 397 FAK and Y 416 Src phosphorylations in osteoblasts. **Oral Diseases**, p. n/a-n/a, nov. 2013.
- CÉLIO, C. J. et al. The molecular pathway triggered by zirconia in endothelial cells involves epigenetic control. **Tissue and Cell**, v. 73, 1 dez. 2021.
- COLLINS, T.; CYBULSKY, M. I. NF- κ B in defense and disease NF- κ B: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? **The Journal of Clinical Investigation**, v. 107, n. 3, p. 255–264, 2001.
- DA C. FERNANDES, C. J. et al. The molecular pathway triggered by zirconia in endothelial cells involves epigenetic control. **Tissue and Cell**, v. 73, p. 101627, dez. 2021.
- DA C. FERNANDES, C. J. et al. Epigenetic Differences Arise in Endothelial Cells Responding to Cobalt–Chromium. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 3, p. 127, 26 fev. 2023.
- DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Titanium-enriched medium drives low profile of ECM remodeling as a pre-requisite to pre-osteoblast viability and proliferative phenotype. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 50, n. February, p. 339–346, 2018a.
- DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Titanium-enriched medium drives low profile of ECM remodeling as a pre-requisite to pre-osteoblast viability and proliferative phenotype. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 50, n. July, p. 339–346, 2018b.
- DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Zirconia stimulates ECM-remodeling as a

- prerequisite to pre-osteoblast adhesion/proliferation by possible interference with cellular anchorage. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 29, n. 4, 2018c.
- DA COSTA FERNANDES, C. J. et al. Metabolic effects of CoCr-enriched medium on shear-stressed endothelial cell and osteoblasts: A possible mechanism involving a hypoxic condition on bone healing. **Materials Science and Engineering C**, v. 128, 1 set. 2021.
- DA S. FELTRAN, G. et al. Differential inflammatory landscape stimulus during titanium surfaces obtained osteogenic phenotype. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 107, n. 8, p. 1597–1604, ago. 2019.
- DA SILVA, R. A. et al. The Impact of Bioactive Surfaces in the Early Stages of Osseointegration: An In Vitro Comparative Study Evaluating the HAnano® and SLActive® Super Hydrophilic Surfaces. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–11, 14 set. 2020.
- DE VITERI, V. S.; FUENTES, E. Titanium and Titanium Alloys as Biomaterials. **Tribology - Fundamentals and Advancements**, v. I, p. 1–50, 2013.
- DELA PAZ, N. G. et al. Role of shear-stress-induced VEGF expression in endothelial cell survival. **Journal of Cell Science**, v. 125, n. 4, p. 831–843, 2012.
- FERNANDES, C. J. C. et al. Nano hydroxyapatite-blasted titanium surface creates a biointerface able to govern Src-dependent osteoblast metabolism as prerequisite to ECM remodeling. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 163, p. 321–328, mar. 2018.
- FERNANDES, C. J. DA C. et al. Titanium-Enriched Medium Promotes Environment-Induced Epigenetic Machinery Changes in Human Endothelial Cells. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 3, p. 131, 27 fev. 2023.
- FERNANDES, G. V. O. et al. Osteoblast adhesion dynamics: A possible role for ROS and LMW-PTP. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 115, n. 6, p. 1063–1069, 2014.
- FERREIRA, M. R. et al. <scp>GSVA</scp> score reveals molecular signatures from transcriptomes for biomaterials comparison. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 109, n. 6, p. 1004–1014, 9 jun. 2021.
- GEMINI-PIPERNI, S. et al. Cellular behavior as a dynamic field for exploring bone bioengineering: A closer look at cell-biomaterial interface. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 561, p. 88–98, 2014.
- GIVENS, C.; TZIMA, E. Endothelial Mechanosignaling: Does One Sensor Fit All? **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 25, n. 7, p. 373–388, 2016.
- GOMES, A. M. et al. Wortmannin targeting phosphatidylinositol 3-kinase suppresses angiogenic factors in shear-stressed endothelial cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 6, p. 5256–5269, 19 jun. 2020a.
- GOMES, A. M. et al. Nanohydroxyapatite-Coated Titanium Surface Increases Vascular Endothelial Cells Distinct Signaling Responding to High Glucose Concentration.

Journal of Functional Biomaterials, v. 14, n. 4, p. 188, 28 mar. 2023.

- GOMES, O. P. et al. A novel BSA immobilizing manner on modified titanium surface ameliorates osteoblast performance. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 190, p. 110888, fev. 2020b.
- HAHN, C.; SCHWARTZ, M. A. Mechanotransduction in vascular physiology and atherogenesis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 10, n. 1, p. 53–62, 2009.
- HENKEL, J. et al. Bone Regeneration Based on Tissue Engineering Conceptions-A 21st Century Perspective. **Bone Research**, v. 1, p. 216–248, 2013.
- KUSUMBE, A. P.; RAMASAMY, S. K.; ADAMS, R. H. Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. **Nature**, v. 507, n. 7492, p. 323–328, 2014.
- MANNA, S. et al. Epigenetic signaling and crosstalk in regulation of gene expression and disease progression. **Epigenomics**, v. 15, n. 14, p. 723–740, jul. 2023.
- MENTZER, S. J.; KONERDING, M. A. Intussusceptive angiogenesis: Expansion and remodeling of microvascular networks. **Angiogenesis**, v. 17, n. 3, p. 499–509, 2014.
- PATRICIA DA SILVA, E. et al. Hyperglycemic microenvironment compromises the homeostasis of communication between the bone-brain axis by the epigenetic repression of the osteocalcin receptor, Gpr158 in the hippocampus. **Brain Research**, v. 1803, p. 148234, mar. 2023.
- PINTO, T. S. et al. Nanohydroxyapatite-Blasted Bioactive Surface Drives Shear-Stressed Endothelial Cell Growth and Angiogenesis. **BioMed Research International**, v. 2022, p. 1–11, 23 fev. 2022.
- PINTO, T. S. et al. Adipogenesis-Related Metabolic Condition Affects Shear-Stressed Endothelial Cells Activity Responding to Titanium. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 14, n. 3, p. 162, 17 mar. 2023.
- POULTER, N. R.; PRABHAKARAN, D.; CAULFIELD, M. Hypertension. **The Lancet**, v. 386, n. 9995, p. 801–812, 2015.
- RODRIGUES MARTINS, B. et al. PI3K/AKT signaling drives titanium-induced angiogenic stimulus. [s.d.].
- ROSSI, M. C. et al. Titanium-released from dental implant enhances pre-osteoblast adhesion by ROS modulating crucial intracellular pathways. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 105, n. 11, p. 2968–2976, 2017a.
- ROSSI, M. C. et al. Titanium-released from dental implant enhances pre-osteoblast adhesion by ROS modulating crucial intracellular pathways. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 105, n. 11, p. 2968–2976, nov. 2017b.
- SAGHIRI, M. A. et al. A Novel Method to Evaluate the Neurocompatibility of Dental Implants. **The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 29, n. 1, p. 41–50, 2014.
- SAGHIRI, M. A. et al. The role of angiogenesis in implant dentistry part I: Review of

- titanium alloys, surface characteristics and treatments. **Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v. 21, n. 4, p. e514–e525, 2016.
- SATHANOORI, R. et al. P2Y2 receptor modulates shear stress-induced cell alignment and actin stress fibers in human umbilical vein endothelial cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 74, n. 4, p. 731–746, 2017.
- SCUMACI, D.; ZHENG, Q. Epigenetic meets metabolism: novel vulnerabilities to fight cancer. **Cell Communication and Signaling**, v. 21, n. 1, p. 249, 21 set. 2023.
- SEIDEL, C. et al. Histone deacetylase 6 in health and disease. **Epigenomics**, v. 7, n. 1, p. 103–118, fev. 2015.
- SOHRABI, K. et al. How successful are small-diameter implants? A literature review. **Clinical Oral Implants Research**, v. 23, n. 5, p. 515–525, 2012.
- TOKUHARA, C. K. et al. Updating the role of matrix metalloproteinases in mineralized tissue and related diseases. **Journal of Applied Oral Science**, v. 27, 2019.
- TRIGGLE, C. R.; DING, H. The endothelium in compliance and resistance vessels. **Medical Education**, n. 3, p. 730–744, 2011.
- WANG, X.; KHALIL, R. A. **Matrix Metalloproteinases, Vascular Remodeling, and Vascular Disease**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 81
- WEE, H. et al. Finite Element-Derived Surrogate Models of Locked Plate Fracture Fixation Biomechanics. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 45, n. 3, p. 668–680, 2017.
- ZAMBUZZI, W. F. et al. On the road to understanding of the osteoblast adhesion: Cytoskeleton organization is rearranged by distinct signaling pathways. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 108, n. 1, p. 134–144, 2009.
- ZAMBUZZI, W. F. et al. Intracellular signal transduction as a factor in the development of “Smart” biomaterials for bone tissue engineering. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, n. 6, p. 1246–1250, 2011.
- ZAMBUZZI, W. F.; MILANI, R.; TETI, A. Expanding the role of Src and protein-tyrosine phosphatases balance in modulating osteoblast metabolism: Lessons from mice. **Biochimie**, v. 92, n. 4, p. 327–332, 2010.