

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/08/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"**

**INTERAÇÃO ENTRE ALTA LIPOGÊNESE
DECORRENTE DE CONDIÇÕES METABÓLICAS COM O
COMPORTAMENTO DE OSTEÓBLASTOS E DA CÉLULA
ENDOTELIAL DESAFIADOS COM TITÂNIO**

THAÍS SILVA PINTO

Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi

Botucatu – SP

Fevereiro/2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"**

**INTERAÇÃO ENTRE ALTA LIPOGÊNESE
DECORRENTE DE CONDIÇÕES METABÓLICAS COM O
COMPORTAMENTO DE OSTEÓBLASTOS E DA CÉLULA
ENDOTELIAL DESAFIADOS COM TITÂNIO**

THAÍS SILVA PINTO

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, *Campus* de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutora, junto ao Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia.

Prof. Dr. Willian Fernando Zambuzzi

Botucatu – SP

Fevereiro/2024

P659i Pinto, Thaís Silva
Interação Entre Alta Lipogênese Decorrente de Condições Metabólicas Com o Comportamento de Osteoblastos e da Célula Endotelial Desafiados com Titânio / Thaís Silva Pinto. -- Botucatu, 2024
179 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Willian Fernando Zambuzzi

1. Implantes de titânio. 2. Osseointegração. 3. Obesidade. 4. Célula endotelial. 5. Osteoblasto. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE THAÍS SILVA PINTO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 23 dias do mês de fevereiro do ano de 2024, às 14:00 horas, no(a) Central de Aulas do Instituto de Biociências de Botucatu, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de THAÍS SILVA PINTO, intitulada **Interação Entre Alta Lipogênese Decorrente de Condições Metabólicas Com o Comportamento de Osteoblastos e da Célula Endotelial Desafiados com Titânio**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Bioquímicas / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp, Profa Dra CAMILA RENATA CORREA CAMACHO (Participação Presencial) do(a) Departamento de Patologia / Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. CARMEN VERÍSSIMA FERREIRA HALDER (Participação Presencial) do(a) Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual / Instituto de Biologia - Unicamp, Prof. Dr. RODRIGO CARDOSO DE OLIVEIRA (Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Odontologia de Bauru - USP, Prof. Dr. JOSÉ CAVALCANTE SOUZA VIEIRA (Participação Presencial) do(a) Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. WILLIAN FERNANDO ZAMBUZZI



Agradecimentos

Agradeço à minha Mãe, meu Pai e meu Irmão, que mesmo distantes, carrego sempre em meu coração e em meus pensamentos, e estão sempre me apoiando e me amparando. O amor que sinto por eles que me estabiliza e mantém firme para ir atrás dos meus sonhos. Agradeço também ao meu amado Padrasto que é meu segundo Pai e que também me apoia em tudo.

Ao Daniël Bruggeman, que tornou tudo mais fácil e leve desde que entrou na minha vida, e desde então está sempre me apoiando e torcendo por mim. De mãos dadas e com muito amor, juntos caminhamos na mesma direção.

Aos meus amigos e amigas de Taubaté por me permitirem dividir algumas das histórias mais fantásticas que vivi, em especial à Caroline Abou Hala Nunes e ao Marcos Rodrigo Mattje Fernandes.

Aos meus bons amigos da turma 6109R do Bacharel em Farmácia da Fundação Universitária Vida Cristã (Faculdade de Pindamonhangaba), bem como aos meus Professores da Graduação, por todos os momentos e ensinamentos. Em especial à Kátia Almeida.

Aos meus queridos amigos que fiz em Botucatu, sejam os da farmácia Universo Natural, da academia, da UNESP ou de qualquer outra origem, que não permitiram que eu me sentisse sozinha em nenhum momento, sempre me ajudaram como anjos e me proporcionaram momentos incríveis e inesquecíveis. Especialmente à Jéssica Leite Garcia e ao Felipe Prosdocini.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP, ao Coordenador do PPG em Biotecnologia, a todos os Professores, dos quais tive o privilégio e o prazer de aprender muito e de poder me inspirar. Aos colegas e funcionários do Setor de Química e Bioquímica pelas ajudas, risadas sem fim na cozinha, as comilanças nas confraternizações, pelo café nosso de cada dia e todos os momentos juntos.

Aos membros do Laboratório de Bioensaios e Dinâmica Celular (LaBIO) pela convivência durante todos esses 7 anos. Muito obrigada pela amizade, parceria e competência.

Vou levar em meu coração as boas amizades por toda minha vida. Em especial ao Anderson Moreira Gomes.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Willian F. Zambuzzi, por ter me recebido tão bem em seu grupo, por ter me guiado e me encorajado durante todos esses anos, por todo o apoio e ajuda a todo momento. Por compartilhar seu rico conhecimento com brilhantismo e humildade. Cheguei acanhada e com medo em busca de crescimento profissional, mas fui surpreendida com oportunidades e conquistas incríveis que eu não acreditava ser capaz. Obrigada por me fazer seguir firme em busca dos meus sonhos. Agradeço imensamente por tudo!

À S.I.N. Sistema de Implantes, pela doação dos materiais utilizados em nossas pesquisas;

À CAPES, inclusive pela oportunidade de realizar o Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE). Aproveito e agradeço à Erasmus Medical Center, ao Prof. Dr. Maikel Peppelenbosch e a Prof.^a Dr.^a Gwenny Fuhler por me receberem tão bem em seus grupos de pesquisa durante esse período.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (FAPESP: 2019/26854-2; 2014/22689-3).

Por último, o mais importante, agradeço à Deus pela maneira como conduz a minha vida, pela evolução tanto profissional como pessoal que adquiri nesse período e por me contemplar com tamanhas bênçãos, oportunidades e realizações como essa. Me faltam palavras para expressar tanta alegria e gratidão.

“Mas eu confio na Tua benignidade; na Tua salvação, meu coração se alegrará.

Cantarei ao Senhor, porquanto me tem feito muito bem.”

- Sl 13,5s

Resumo

Biomateriais metálicos, especialmente o titânio, são utilizados como implantes odontológicos e ortopédicos, e dependem de processos como angiogênese e osteogênese para garantir o sucesso na implantação. Embora a utilização desses biomateriais seja bem estabelecida, profissionais de saúde enfrentam desafios, como a prolongada recuperação, sobretudo em indivíduos com metabolismo comprometido, como aqueles diagnosticados com obesidade e síndrome metabólica. O impacto dessas condições no processo de regeneração tecidual e osseointegração ainda é pouco compreendido. Estudos indicam que o metabolismo comprometido está associado a alterações na biologia óssea e vascular, prejudicando o microambiente peri-implante. Este estudo investigou as respostas de células endoteliais e osteoblastos ao titânio com diferentes modificações de superfície, como o duplo ataque ácido (DAE) e o revestimento de nanohidroxiapatita (nHA), em condições de alta lipogênese utilizando modelos com adipócitos, organoides de fígado e hepatócitos. Além disso, analisamos células mesenquimais (MSC) obtidas do fêmur de ratos obesos (Obese) e tratados com farelo de arroz (RB). Os modelos de alta lipogênese com adipócitos, organoides hepáticos e hepatócitos, demonstraram um aumento no número e no tamanho das gotículas de lipídeos intracelulares. A célula endotelial, quando exposta ao titânio e à condição adipogênica, mostrou modulações na expressão dos genes VEGF-R1, MAPKs e IL-6, assim como na proteína SRC. Os osteoblastos, quando diferenciados com meio condicionado por adipócitos, organoides de fígado e hepatócitos, exibiram gotículas de gordura intracelular e modulação na expressão de genes relacionados ao osso em resposta ao titânio. O gene RUNX2 foi amplificado nos osteoblastos tratados com titânio nHA em condições lipogênicas dos adipócitos e hepatócitos. Nas MSCs do fêmur de ratos obesos, observou-se um aumento na expressão do gene Runx2 e uma redução em Ppar- γ , Tgfb1 e Osx. Já o grupo Obese + RB elevou a expressão do gene Bglap. Na célula endotelial o titânio nHA estimulou a expressão de genes como VEGF, eNOS e AKT, resultando em uma maior angiogênese e migração celular, juntamente com um aumento no remodelamento da matriz extracelular. Os titânios testados influenciaram vias relacionadas à angiogênese dependente da via PI3K/AKT. Esta pesquisa apresenta contribuições importantes para o entendimento do impacto da alta lipogênese sobre a resposta de células endoteliais e osteoblastos ao titânio *in vitro*, assim como as alterações no perfil de expressão gênica das MSCs em um contexto *ex vivo* com ratos obesos tratados com farelo de arroz (Obese + RB), comprovando que os mecanismos envolvidos no microambiente peri-implantar são impactados nestas condições.

Palavras-chave: Osso; Titânio; Hidroxiapatita; Obesidade; Síndrome metabólica, Célula endotelial; Osteoblasto; Adipócito; Lipogênese.

Abstract

Metallic biomaterials, especially titanium, are widely used as dental and orthopedic implants, relying on processes such as angiogenesis and osteogenesis for successful implantation. Despite the well-established use of these biomaterials, healthcare professionals encounter challenges, such as extended recovery times, particularly in individuals with compromised metabolism, such as those diagnosed with obesity and metabolic syndrome. The impact of these conditions on tissue regeneration and the osseointegration process remains poorly understood. Studies indicate that compromised metabolism is linked to changes in bone and vascular biology, adversely affecting the peri-implant microenvironment. This study aimed to investigate the responses of endothelial cells and osteoblasts to titanium with different surface modifications, including double acid etching (DAE) and nanohydroxyapatite (nHA) coating, under conditions of high lipogenesis using models with adipocytes, liver organoids, and hepatocytes. Furthermore, we analyzed mesenchymal cells (MSC) obtained from the femur of obese rats (Obese) and treated with rice bran (RB). High lipogenesis models with adipocytes, liver organoids, and hepatocytes demonstrated an increase in the number and size of intracellular lipid droplets. The endothelial cell, when exposed to titanium and adipogenic conditions, showed modulations in the expression of VEGF-R1, MAPKs, and IL-6 genes, as well as in the SRC protein. Osteoblasts, when differentiated with medium conditioned by adipocytes, liver organoids, and hepatocytes, exhibited intracellular fat droplets and modulation in the expression of bone-related genes in response to titanium. The RUNX2 gene was amplified in osteoblasts treated with nHA titanium under lipogenic conditions of adipocytes and hepatocytes. In MSCs from the femur of obese rats, an increase in the expression of the Runx2 gene and a reduction in Ppar- γ , Tgfb1, and Osx were observed. The Obese + RB group increased the expression of the Bglap gene. In the endothelial cell, nHA titanium stimulated the expression of genes such as VEGF, eNOS, and AKT, resulting in greater angiogenesis and cell migration, along with an increase in the remodeling of the extracellular matrix. The tested titanium influenced pathways related to angiogenesis dependent on the PI3K/AKT pathway. This research presents important results for understanding the impact of high lipogenesis on the response of endothelial cells and osteoblasts to titanium in vitro, as well as changes in the gene expression profile of MSCs in an ex vivo context with obese rats treated with rice bran (Obese + RB), proving that the mechanisms involved in the peri-implant microenvironment are impacted under these conditions.

Keywords: Bone; Titanium; Hydroxyapatite; Obesity; Metabolic syndrome, Endothelial cell; Osteoblast; Adipocyte; Lipogenesis.

SUMÁRIO

Capítulo 1: INTRODUÇÃO	16
OBJETIVOS	23
Capítulo 2: Adipogenesis-Related Metabolic Condition Affects Shear-Stressed Endothelial Cells Activity Responding to Titanium	24
Capítulo 3: Interactions of high lipogenic states with titanium on osteogenesis	49
Capítulo 4: Gamma-oryzanol (γOz) rich rice bran promotes osteogenic phenotype of bone marrow-obtained stromal cells in obesity conditions	82
Capítulo 5: Nanohydroxyapatite-Blasted Bioactive Surface Drives Shear-Stressed Endothelial Cell Growth and Angiogenesis	96
Capítulo 6: PI3K/AKT signaling drives titanium-induced angiogenic stimulus	118
Capítulo 7: DISCUSSÃO	136
Capítulo 8: CONSTATAÇÕES	158
Capítulo 9: CONCLUSÃO	160
Capítulo 10: PERSPECTIVAS FUTURAS	161
Capítulo 11: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	162
Capítulo 12: ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO PERÍODO	174

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1:

Fig.1 Notável aumento na prevalência global da obesidade.	17
--	-----------

Capítulo 2:

Fig. 1. Outline and workflow.	29
Fig. 2. High-glucose medium affects adipocyte differentiation.	35
Fig. 3. Adipogenesis model recapitulates the inflammation microenvironment and requires PPAR- γ .	36
Fig. 4. Adipocytes require MAPK and MMP activity.	37
Fig. 5. EGF and VEGFR1 genes are modulated in response to titanium-based surfaces.	37
Fig. 6. Both survival and cell proliferation progress were investigated in ECs.	39
Fig. 7. MAPK-related genes were modulated in EC responding to adipogenesis.	39
Fig. 8. c-Src involvement.	40
Fig. 9. IL6 and IL1B gene expression changed in response to conditioned mediums.	41

Capítulo 3:

Figure 1: Functional changes in osteoblasts upon coculture with adipocytes and titanium.	61
Figure 2. Mineralization and lipid accumulation of osteoblasts derived from hMSCs upon treatment with adipocyte-conditioned medium.	62
Figure 3. RT-qPCR outcomes of osteogenic cells derived from hMSCs undergoing differentiation in the presence of adipocytes-conditioned medium with or without titanium enrichment.	63
Figure 4. Experimental MetALD model using 3D intrahepatic cholangiocyte organoids (ICO).	65

Figure 5. RT-qPCR outcomes of osteogenic cells derived from hMSCs undergoing differentiation in the presence of ICO-conditioned medium with or without titanium enrichment. 67

Figure 6. RT-qPCR outcomes of osteogenic cells derived from hMSCs undergoing differentiation in the presence of hepatocyte-conditioned medium with or without titanium enrichment. 68

Figure 7. Cell cycle and proliferation of hMSCs after two weeks of differentiation in osteoblasts, treated with hepatocytes Huh7-conditioned medium and titanium-enriched medium. 69

Supplementary figure 1: Experimental Flow for High Adipogenesis Condition. 73

Supplementary figure 2. Osteoblasts originating from hMSCs stained with alizarin red S staining (upper panels) and oil red O and hematoxylin (lower panels), upon treatment with ICO-conditioned medium. 74

Supplementary figure 3: ECM remodeling of hMSCs after two weeks of differentiation in osteoblasts treated with ICO-conditioned medium. 75

Supplementary figure 4. Experimental MetALD model with Huh7 hepatocytes. 76

Supplementary figure 5. Osteogenic hMSCs-derived cells stained with alizarin red S (upper), and Staining with oil red O and hematoxylin (lower), after differentiation with Huh7-conditioned medium. 77

Supplementary figure 6: ECM rearrangement of osteoblasts originating from hMSCs, treated with hepatocytes Huh7-conditioned medium and titanium-enriched medium. 76

Capítulo 4:

Fig.1. Experimental Design. 89

Fig.2. Rice bran promotes preferentially stimulating osteogenic phenotype in bone marrow-obtained adherent cells. 91

Fig.3. The Tnfr2 gene was higher, while relevant osteogenic phenotype-related cytokines and their receptors were downregulated. 92

Capítulo 5:

Figure 1: Experimental design of this study. 101

Figure 2: HAnano® cytotoxicity and the capacity of shear-stressed endothelial cell in capturing medium-soluble titanium.	105
Figure 3: HAnano® upmodulates EC phenotype-related genes.	106
Figure 4: The angiogenic effect of HAnano® was measured by a wound healing assay.	107
Figure 5: Both Ti-related surfaces with DAE or HAnano® promote higher activity of MMP2 enzyme.	108
Figure 6: CDK4 is upmodulated in response to HAnano®.	109

Capítulo 6:

Graphical Abstract	122
Fig. 1 Experimental design of this study.	125
Fig. 2 Survival signaling was evaluated by measuring the phosphorylation profile of AKT.	127
Fig. 3 Angiogenic stimulus of titanium (Ti) on endothelial cells.	128
Fig. 4 Wortmannin targeting PI3K suppresses the angiogenic stimulus of titanium (Ti).	129

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2:

Table 1: Sequences of the primers and conditions of the quantitative polymerase chain reaction cycle.	32
--	-----------

Capítulo 3:

Table 1: Description of the experimental assay (n = 3).	59
--	-----------

Capítulo 4:

Table 1: Expression primers sequences and quantitative polymerase chain reaction cycle conditions.	87
Table. Description of the experimental assay (Lineage: Wistar Rat)	89

Capítulo 5:

Table 1 Expression <i>primers</i> sequences and qPCR cycle conditions.	104
---	------------

Capítulo 6:

Table 1 Expression primers sequences and qPCR cycle conditions.	124
--	------------

LISTA DE ABREVIÇÕES

18S - 18S ribosomal RNA	FBS – Fetal Bovine Serum
Actb - Actin beta	FFA – Free fatty acids
AKT – Protein Kinase B	FGF - fibroblast growth factor
ALP – Alkaline phosphatase	GADPH – Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
ANOVA – Analysis of Variance	GFAAS - Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry
Bglap - Bone gamma-carboxyglutamate protein	HA – Hidroxiapatite
Bmpr1 - bone morphogenetic protein receptor 1	HAnano® - surface blasted with nanosized hydroxyapatite
BMPs - bone morphogenetic proteins	HCl - <i>Hydrochloric acid</i>
BM-MSCs - Bone marrow-derived mesenchymal stem cells	HGF - <i>Hepatocyte growth factor</i>
BSA – Bovine Serum Albumin	HGM – High Glucose Medium
CaCl₂ – Calcium chloride	hMSC – human mesenchymal stem cell
CBO - Protein carbonylation	HSF - High-sugar fat
CDK2 – Cyclin Dependent Kinase 2	Huh7 - Human hepatocyte cell line
cDNA – Complementary DNA	HUVEC - <i>Human umbilical vein endothelial cells</i>
CIDEB - cell death inducing DFFA like effector b	IBMX - 3-isobutyl-1-methylxanthine
COX - cytochrome c oxidase	IL – Interleukin
CPT1A – carnitine palmitoyltransferase 1A	iNOS - nitric oxide synthase 2
CPT1B – carnitine palmitoyltransferase 1B	JNK – C-Jun N-terminal Kinase
Ct - cycle threshold	LEM – Liver Organoids Expansion Medium
CYTB – cytochrome b	LPO – Lactate, Pyruvate, Octanoic acid
DAE – Dual Acid Etched	Mac – Machined (for implants surfaces)
DMEM – Dulbecco's modified Eagle's medium	MAPK – Mitogen-Activated Protein Kinase
DNA - Deoxyribonucleic acid	MEC – Matriz extracelular
DNPH - 2,4-dinitrophenyl hydrazine	MMP – Matrix Metalloproteinase
DTT – Dithiothreitol	MSC - mesenchymal stem cell
ECL - Enhanced ChemiLuminescence	MTT - 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide
ECM – Extracellular Matrix	MW - molecular weight
ECs – Endothelial cells	Myd88 - MYD88 innate immune signal transduction adaptor
EGF - Epidermal growth factor	NaCl - Sodium chloride
ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	NAFLD - nonalcoholic fatty liver disease.
eNOS - nitric oxide synthase 3	NaOH - sodium hydroxide
Erk – mitogen-activated protein kinase 1	NFKB1 - nuclear factor kappa B subunit 1
FAK – Focal Adhesion Kinase	

nHA – surface blasted with nanosized hydroxyapatite
NO - Nitric oxide
OA – Oleic acid
OPG – Osteoprotegerin (TNF receptor superfamily member 11b)
OSX – Osterix
P38 - Mitogen-activated protein kinase 14
PA – Palmitic acid
PBS - *Phosphate-buffered saline*
PDGF - Platelet-derived growth factor
PFA - Paraformaldehyde
PI3K - phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase
PKB – Protein Kinase B
PNPLA3 - patatin like phospholipase domain containing 3
PPARA – peroxisome proliferator activated receptor alpha
Pparg - Peroxisome proliferator activated receptor gamma
PVDF – Polyvinylidene difluoride
qPCR – Quantitative polymerase chain reaction
RANKL - TNF superfamily member 11
RB - Rice Bran
RNA - Ribonucleic acid
RP2 - RP2 activator of ARL3 GTPase
RPM - Revolutions per minute
RPMI – Cell culture growth medium (Roswell Park Memorial Institute)
RT - Room temperature
RT-qPCR – Real Time-quantitative Polymerase Chain Reaction
RUNX2 – Runt-Related Transcription Factor 2
SD - Standard deviation
SDS-PAGE – Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
SEM – Standard Error of the Mean
Src – SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase
SREBP1 - sterol regulatory element binding transcription factor 1

T2DM - Type 2 diabetes mellitus
TBS - Tris-buffered saline
TGFB1 - transforming growth factor beta 1 (TGF- β)
Ti – Titanium
TIMP - Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinases
TiO₂ - Titanium dioxide
TM6SF2 - transmembrane 6 superfamily member 2
Tnf - Tumor necrosis factor (Tnfa; TNF α)
Tnfr1 - Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1A
Tnfr2 - TNF receptor superfamily member 1B
v/v – volume / volume
VEGF - Vascular endothelial growth factor
VEGFr1 - fms related receptor tyrosine kinase 1
VEGFr2 - kinase insert domain receptor
w/DAE – With Dual Acid Etched
w/v – weight / volume
wo/DAE – Without Dual Acid Etched
 α MEM – Alpha Minimum Essential Media
 γ Oz - Gamma-oryzanol

INTRODUÇÃO

Um aumento global significativo na prevalência da obesidade e das complicações metabólicas associadas vêm ocorrendo. Aproximadamente 40% da população mundial é afetada pela obesidade ou sobrepeso, sendo essa condição reconhecida como um fator de risco significativo da síndrome metabólica (X. Lin & Li, 2021). A síndrome metabólica compreende uma combinação de fatores de risco, incluindo obesidade abdominal, pressão arterial elevada, níveis aumentados de glicemia e dislipidemia. Esses fatores aumentam a probabilidade de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, esteatose hepática e várias outras complicações de saúde (Huang, 2009). Notavelmente, distúrbios metabólicos como a obesidade são amplamente reconhecidos pela sua associação com danos no reparo e regeneração tecidual, incluindo em tratamentos com implantes metálicos, dificultando predominantemente o processo de cicatrização de feridas (Cheng, Ball, Gonzales, Schenk, & Hughes-Austin, 2020), isso ocorre provavelmente devido ao aumento da condição pró-inflamatória sistêmica e ao aumento do risco de complicações associadas ao implante, como de infecção, chamada peri-implantite (de Oliveira et al., 2020).

A obesidade é uma doença crônica multifatorial, caracterizada principalmente pelo acúmulo de gordura no tecido adiposo que com sua saturação acomete outros tecidos e que confere ao indivíduo o aumento de peso e um perfil metabólico pró-inflamatório e desregulado cronicamente (Engin, 2017). A prevalência dessa doença continua crescendo mesmo com avanços no conhecimento de sua fisiopatologia e com algumas opções terapêuticas (mas que sabidamente apresentam efeitos colaterais) (González-Muniesa et al., 2017). Devido ao crescente número de casos de obesidade no mundo (Fig.1) espera-se também o crescimento no número de pacientes obesos que receberão implante de titânio, passando a fazer parte de uma parcela importante da população que apresenta o metabolismo comprometido e que preocupa os profissionais da área da saúde (de Oliveira et al., 2020).

Embora existam várias métricas, o método predominante de diagnóstico da obesidade continua sendo o cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC). O IMC é determinado pela relação entre o peso de um indivíduo em quilogramas e sua altura em metros quadrados (kg/m^2). Utilizando o IMC como ferramenta de medição e diagnóstico,

categoriza-se os indivíduos em três grupos principais: normais ($<25 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso (entre 25 e 29 kg/m^2) e obesos ($>30 \text{ kg/m}^2$) (Nuttall, 2015).

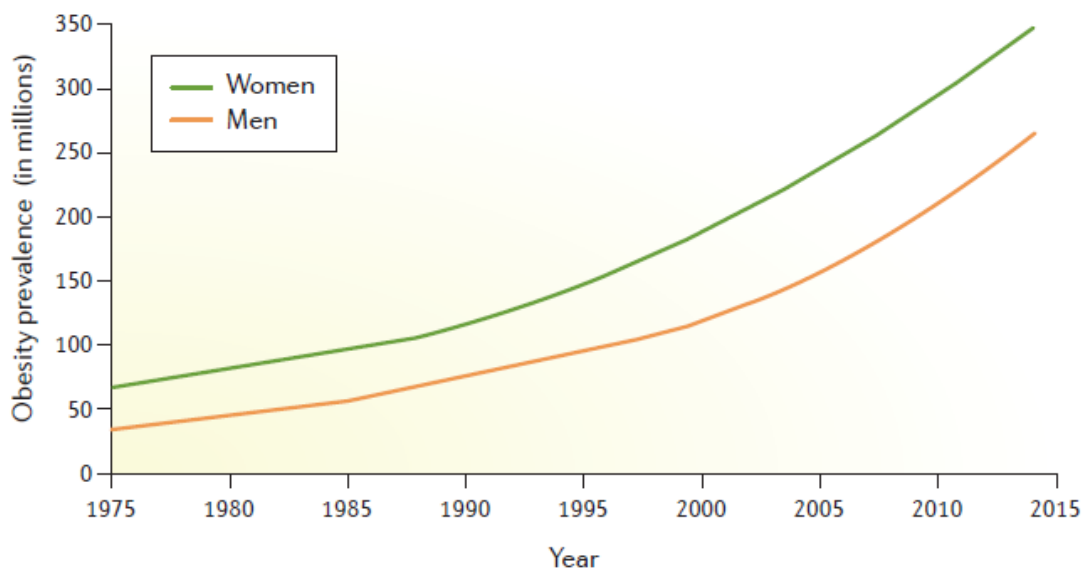


Fig. 1 Notável aumento na prevalência global da obesidade. De 1975 em diante, a incidência de obesidade quase triplicou em escala mundial, com taxas mais elevadas observadas em mulheres em comparação com homens. Além disso, o índice de massa corporal médio padronizado por idade global teve um aumento consistente, crescendo $0,4 \text{ kg/m}^2$ por década nos homens e $0,5 \text{ kg/m}^2$ nas mulheres de 1980 a 2008 (González-Muniesa et al., 2017).

O tecido adiposo serve principalmente ao propósito de armazenar energia através do acúmulo de gotículas de gordura intracelular nos adipócitos. Essas gotículas abrigam sobretudo o triacilglicerol, que é posteriormente quebrado em ácidos graxos e glicerol, e mobilizado quando o corpo necessita de energia adicional (Frühbeck, Méndez-Giménez, Fernández-Formoso, Fernández, & Rodríguez, 2014). O tecido adiposo é reconhecido não apenas como o principal reservatório para armazenamento de energia proveniente da ingestão alimentar, mas também como um órgão endócrino, exercendo atividades sistêmicas através de sinalização parácrina e endócrina (Feijóo-Bandín et al., 2020). Em períodos de balanço energético positivo, o tecido adiposo acumula energia excedente, armazenando triglicerídeos nas gotículas lipídicas dos adipócitos e esse armazenamento ocorre através de um aumento no número dessas células (hiperplasia) ou de um aumento no tamanho dos adipócitos existentes (hipertrofia) (Hausman, DiGirolamo, Bartness, Hausman, & Martin, 2001). Embora a ocorrência geral da obesidade esteja ligada a distúrbios metabólicos, propõe-se que a disfunção no tecido adiposo resultante da

hipertrofia desempenhe especificamente um papel significativo no aparecimento de condições metabólicas como a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (Kim et al., 2007; Machado & Cortez-Pinto, 2023). No contexto da obesidade, o acúmulo excessivo de gordura estimula a liberação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, agindo potencialmente como um fator crucial na formação da resistência à insulina (Boden, 2008; Perseghin, Ghosh, Gerow, & Shulman, 1997). Além disso, os ácidos graxos livres podem acessar diretamente o fígado através da circulação portal, e dessa forma, níveis elevados de ácidos graxos livres hepáticos contribuem para o aumento da síntese lipídica, gliconeogênese e resistência à insulina no fígado (Jung & Choi, 2014).

O acúmulo excessivo de gordura e a disfunção nos adipócitos levam à ruptura de numerosos fatores secretórios originados do tecido adiposo, observa-se assim, um desequilíbrio no perfil de liberação de moléculas sinalizadoras, como de interleucinas inflamatórias e nas adipocinas que atuam diretamente nos sistemas ou indiretamente via hipotálamo (Feijóo-Bandín et al., 2020).

A manutenção do equilíbrio metabólico surge da comunicação intrincada e bidirecional entre tecidos metabólicos cruciais, como tecido adiposo e fígado. Esta comunicação, convencionalmente facilitada por hormônios e metabólitos, sofre perturbações em condições como a obesidade, levando à desregulação (Luo & Liu, 2016). Um crescente conjunto de evidências indica que a inflamação persistente no tecido adiposo pode ser um fator crucial no início da disfunção metabólica associada à obesidade (Jung & Choi, 2014).

Como referido, a crescente epidemia mundial de obesidade é acompanhada por um aumento preocupante de indivíduos que enfrentam distúrbios hepáticos, principalmente a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). A prevalência da DHGNA vem aumentando constantemente a uma taxa anual de 1%, já afetando 30% da população mundial (Machado & Cortez-Pinto, 2023).

A DHGNA está associada a fatores como obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. Essa doença progride por estágios, começando com a esteatose simples, onde o excesso de gordura se acumula nas células do fígado, e pode avançar para a esteatohepatite não alcoólica, caracterizada por inflamação e danos às células do fígado. Se não for controlada, a esteatohepatite pode causar fibrose, cirrose e um risco aumentado de complicações relacionadas ao fígado (Paschos & Paletas, 2009). O fígado desempenha um papel fundamental no gerenciamento do metabolismo da gordura, orquestrando a integração de ácidos graxos produzidos internamente e obtidos externamente, e esse

acúmulo ou redução de gordura no fígado reflete o equilíbrio entre as vias que captam e eliminam ácidos graxos, que em condições comprometidas, como a DHGNA, esses papéis críticos no metabolismo da gordura podem ser afetados negativamente (Ipsen, Lykkesfeldt, & Tveden-Nyborg, 2018).

Como mencionado inicialmente, distúrbios metabólicos como a obesidade estão bem estabelecidos pela sua correlação com a reparação e regeneração tecidual prejudicada, afetando particularmente intervenções que envolvem implantes metálicos e impedindo significativamente o curso natural da cicatrização de feridas (Cheng et al., 2020). Vale destacar nesses processos a importância do suprimento sanguíneo adequado exercido pelos vasos sanguíneos, sendo que dentre as alterações vasculares iniciais observadas na obesidade, destaca-se a disfunção endotelial (Tran et al., 2023). Os mecanismos que impulsionam a disfunção endotelial estão principalmente associados à diminuição da produção e disponibilidade de óxido nítrico, juntamente com a presença de estresse oxidativo (Martínez-Martínez, Souza-Neto, Jiménez-González, & Cachofeiro, 2021). Por sua vez, uma crescente onda de relatos têm abordado implicações advindas da obesidade sobre o metabolismo ósseo, prejudicando processos naturais de formação e reabsorção óssea, bem como o processo de osseointegração frente a um implante, como os implantes de titânio (Cao, 2011; Greco, Lenzi, & Migliaccio, 2015; Monteiro, Pellizzer, Araújo Lemos, de Moraes, & do Egito Vasconcelos, 2019).

Por várias décadas o titânio é utilizado como dispositivo médico e biomaterial implantável nos diferentes tecidos, por exemplo, no tecido ósseo como *scaffolds*, e como *stents* tubulares, por exemplo, no endotélio vascular e no esôfago, mas mais comumente no tecido ósseo na área da ortopedia e na odontologia (Girón et al., 2021). O titânio possui importantes características que confere a esse biomaterial metálico adequada aplicabilidade, a citar, a sua elevada resistência à corrosão e força mecânica, boa biocompatibilidade, baixa toxicidade, entre outros, sendo assim o implante mais utilizado mesmo existindo outras opções de biomaterial metálico disponíveis comercialmente (Sidambe, 2014).

Ao longo dos anos o titânio veio sendo otimizado com o intuito de acelerar o processo de recuperação pós-cirúrgico bem como evitar complicações decorrentes do processo de implantação. Tais otimizações vão desde uma alteração no seu formato e apresentação até modificações de superfície que modulam a texturização ou que

adicionam algum revestimento (Bezerra et al., 2017; Fernandes et al., 2018; Sartoretto et al., 2020). As modificações de superfície têm o intuito de melhorar a osseointegração, o contato direto osso e implante e a adaptação do tecido peri-implante (Khosravi, Maeda, DaCosta, & Davies, 2018), sendo importante lembrar que o tecido peri-implante abrange não só o tecido ósseo, mas também o tecido endotelial (situado nos vasos sanguíneos que irrigam o local da lesão) e os tecidos moles (I, Noda, Ohba, Asahina, & Sumita, 2023).

Apesar do titânio ser bem estabelecido nas práticas clínicas, bem como suas alterações e otimizações, muito trabalho ainda precisa ser realizado já que vários desafios ainda são enfrentados pelos profissionais da área da saúde, como os casos de demasiada demora na recuperação, de rejeição tecidual e casos de infecção (peri-implantite), situações que apresentam maior risco de tratamento e que são mais comuns em pacientes com alterações sistêmicas e metabólicas, com potencial de resposta cicatricial comprometida (Coelho et al., 2018). Dentro dessa temática, pacientes com metabolismo não sadio, como os diagnosticados com síndrome metabólica, tem preocupado médicos e dentistas, por apresentarem metabolismo e sistemas comprometidos com consequente atividade celular disfuncional, podendo apresentar problemas no mecanismo de regeneração e reparo tecidual, bem como de osseointegração (de Oliveira et al., 2020).

Para enfrentar estes desafios, os esforços têm sido direcionados para melhorar o desempenho dos implantes de titânio para acelerar a recuperação pós-cirúrgica e mitigar potenciais complicações associadas ao procedimento de implantação. Isto envolve a otimização do titânio através de técnicas como modificações de superfície que alteram a topografia da superfície e/ou aplicam revestimentos com funcionalidades específicas (Bezerra et al., 2017; Fernandes et al., 2018; Sartoretto et al., 2020). Duas técnicas comuns para modificação de superfície são o duplo ataque ácido (*Dual Acid Etching*, DAE) e o jateamento com nanohidroxiapatita (nHA):

→ O duplo ataque ácido (DAE) envolve o tratamento da superfície do implante de titânio com uma combinação de ácidos fortes, normalmente uma mistura de ácido clorídrico (HCl) e ácido sulfúrico (H₂SO₄). Este processo cria uma textura superficial microrrugosa no implante, aumentando sua energia superficial e proporcionando um maior grau de molhabilidade. Esta microrrugosidade visa promover uma melhor adesão de proteínas e facilitar a fixação celular, apoiando em última análise os estágios iniciais da osseointegração. A superfície DAE é conhecida por sua capacidade de melhorar a fixação

biomecânica do implante e acelerar a cicatrização óssea (Al-Radha, 2016; Hung, Lin, & Feng, 2017).

→ A nanohidroxiapatita (nHA) é um material biocompatível, neste método de modificação de superfície, o implante de titânio, após receber o duplo ataque ácido, é jateado com partículas de hidroxiapatita (o componente mineral do osso natural) em nanoescala. Isso cria uma superfície com características nanométricas e uma camada de hidroxiapatita, proporcionando um ambiente biomimético que melhora a osteocondutividade do implante. A presença de hidroxiapatita estimula a formação de uma camada de fosfato de cálcio na superfície do implante, imitando a composição mineral óssea natural. Esta camada promove ainda mais a osseointegração, facilitando a interação entre o implante e o tecido ósseo circundante (Bezerra et al., 2017; A. Lin, Wang, Kelly, Gubbi, & Nishimura, 2009).

Tanto DAE quanto nHA visam melhorar a resposta biológica aos implantes de titânio, criando superfícies que promovem a fixação celular, adsorção de proteínas e subsequente formação óssea. A seleção entre essas técnicas depende de vários fatores, incluindo a aplicação específica, a rugosidade superficial desejada e a resposta biológica direcionada. Os profissionais de saúde encontram valor em testes e ensaios que identificam a abordagem mais adequada para um determinado público-alvo, contribuindo para a otimização do desempenho e o sucesso a longo prazo dos implantes de titânio em aplicações biomédicas (Bezerra et al., 2017; da Silva et al., 2020; Fernandes et al., 2018; Rossi et al., 2017).

Diante deste cenário e da problemática apresentada, há uma necessidade discernível de iniciativas de pesquisa que investiguem as influências metabólicas na saúde óssea e endotelial, decorrente da disponibilidade limitada de modelos *in vitro* cientificamente relevantes e translacionais para estudar os efeitos de condições como obesidade e DHGNA em implantes de titânio. O presente estudo emprega diferentes metodologias *in vitro* adaptadas especificamente para correlacionar as condições biológicas, especialmente aquelas associadas a esses estados patológicos. O objetivo principal é explorar de forma abrangente as interações potenciais entre condições metabólicas com elevada lipogênese, função das células endoteliais e a diferenciação de osteoblastos em resposta a um ambiente enriquecido com titânio. A investigação começa com um modelo de alta adipogenicidade utilizando adipócitos, examinando seu impacto

nas células endoteliais e na diferenciação de osteoblastos quando expostos a um meio enriquecido com titânio. Além disso, é proposto também um modelo validado de alta lipogênese *in vitro*, correlacionado com esteatose hepática, utilizando organoides de fígado e hepatócitos para observar seu impacto na diferenciação de osteoblastos na presença do titânio. E ainda, uma análise de um modelo *ex vivo* com células tronco mesenquimais extraídas do fêmur de ratos tratados com dieta rica em açúcar e gordura também é proposta.

No âmbito da pesquisa científica inúmeras metodologias *in vitro* que emulam ou aproximam cenários em sistemas biológicos têm sido projetadas, incluindo aqueles que envolvem patologias. A ciência básica e as fases pré-clínicas da investigação científica desempenham um papel fundamental na definição das etapas subsequentes, orientando principalmente o foco da investigação nas fases clínicas. Neste contexto, as metodologias que permitem um exame mais matizado dos eventos biológicos e o desenvolvimento de modelos preditivos para respostas sistêmicas têm merecido atenção. As análises *in vitro*, como o cultivo de células, apesar de suas limitações, oferecem vantagens notáveis, como garantir condições uniformes para todos os constituintes de um grupo de estudo. Isto contrasta com experimentos *in vivo* onde variações genéticas, fatores ambientais, hábitos e hormônios podem introduzir interferência. Além disso, o cultivo celular facilita a análise celular detalhada e fornece *insights* sobre a bioquímica de macromoléculas e sinalização celular implicada em alterações fenotípicas. As descobertas derivadas de técnicas *in vitro* podem posteriormente informar e refinar os objetivos dos estudos *in vivo* envolvendo animais experimentais, inclusive contribuindo com o princípio dos três erres da ciência (do inglês: *Replacement, Reduction and Refinement*), criado por Russel & Burch em 1959.

Tendo em mente os desafios associados à utilização de implantes de titânio na clínica médico-odontológica, particularmente no intrincado meio molecular de indivíduos com obesidade e DHGNA, algumas questões específicas foram levantadas, dentre elas:

1. Como os distúrbios decorrentes da síndrome metabólica, especificamente a obesidade e a DHGNA, impactam os processos de reparo, regeneração e osseointegração tecidual na presença de titânio?

2. A angiogênese e a rede vascular que irriga o tecido são suscetíveis à interferência de moléculas circulantes associadas à obesidade?
3. Que moléculas específicas desempenham papéis fundamentais nestes processos complexos?

CONCLUSÃO

Mapear as moléculas envolvidas em processos biológicos, especialmente na presença de patologias e síndromes, é uma tarefa complexa. Este estudo forneceu informações valiosas sobre as respostas das células endoteliais e dos osteoblastos ao titânio, delineando as etapas iniciais para a seleção entre DAE e nHA. Essa seleção, baseada em cenários de alta lipogênese, visa estabelecer, nas próximas fases da pesquisa, qual dessas superfícies responde de maneira mais eficaz, potencialmente tornando-se a escolha primária de implante para o público-alvo em questão.

Além disso, este estudo representa um passo inicial na exploração do efeito da alta lipogênese, correlacionando-a com obesidade e doença hepática gordurosa não alcoólica, nas células do ambiente peri-implante em resposta ao titânio. Fornecemos percepções do perfil de expressão gênica em células mesenquimais de fêmur murino no cenário de obesidade, propondo estratégias de tratamento nutracêutico com farelo de arroz. A visão de longo prazo dessa pesquisa é identificar alvos moleculares terapêuticos que possam ser modulados por meio de modificações de superfície, técnicas de revestimento, sistemas de liberação de medicamentos e bioengenharia na produção de implantes biomiméticos (*smart biomaterials*), destinados a esse público alvo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Al-Mansoori, L., Al-Jaber, H., Prince, M. S., & Elrayess, M. A. (2022). Role of Inflammatory Cytokines, Growth Factors and Adipokines in Adipogenesis and Insulin Resistance. *Inflammation*, 45(1), 31–44. <https://doi.org/10.1007/s10753-021-01559-z>
- Al-Radha, A. S. D. (2016). The influence of different acids etch on dental implants titanium surface. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 15, 87–91. Retrieved from <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:40647436>
- Ayada, I., van Kleef, L. A., Zhang, H., Liu, K., Li, P., Abozaid, Y. J., ... Pan, Q. (2023). Dissecting the multifaceted impact of statin use on fatty liver disease: a multidimensional study. *EBioMedicine*, 87, 104392. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104392>
- Bezerra, F., Ferreira, M. R., Fontes, G. N., da Costa Fernandes, C. J., Andia, D. C., Cruz, N. C., ... Zambuzzi, W. F. (2017). Nano hydroxyapatite-blasted titanium surface affects pre-osteoblast morphology by modulating critical intracellular pathways. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(8), 1888–1898. <https://doi.org/10.1002/bit.26310>
- Boden, G. (2008). Obesity and free fatty acids. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 37(3), 635–646, viii–ix. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2008.06.007>
- Bolamperti, S., Villa, I., & Rubinacci, A. (2022). Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence. *Bone Research*, 10(1), 48. <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00219-8>
- Brasaemle, D. L., Dolios, G., Shapiro, L., & Wang, R. (2004). Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically stimulated 3T3-L1 adipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(45), 46835–46842. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409340200>
- Brockman, D., & Chen, X. (2012). Proteomics in the characterization of adipose dysfunction in obesity. *Adipocyte*, 1(1), 25–37. <https://doi.org/10.4161/adip.19129>
- Callejas, J. A., Gil, J., Brizuela, A., Pérez, R. A., & Bosch, B. M. (2022). Effect of the Size of Titanium Particles Released from Dental Implants on Immunological Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13). <https://doi.org/10.3390/ijms23137333>
- Cao, J. J. (2011). Effects of obesity on bone metabolism. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 6, 30. <https://doi.org/10.1186/1749-799X-6-30>
- Chattopadhyay, T., Singh, R. R., Gupta, S., & Surolia, A. (2017). Bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) augments insulin sensitivity in mice with type II diabetes mellitus by potentiating PI3K/AKT pathway. *BioFactors (Oxford, England)*, 43(2), 195–209. <https://doi.org/10.1002/biof.1334>
- Chen, D., Walsh, K., & Wang, J. (2000). Regulation of cdk2 activity in endothelial cells that are inhibited from growth by cell contact. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20(3), 629–635. <https://doi.org/10.1161/01.atv.20.3.629>

- Chen, L., Tong, Z., Luo, H., Qu, Y., Gu, X., & Si, M. (2023). Titanium particles in peri-implantitis: distribution, pathogenesis and prospects. *International Journal of Oral Science*, 15(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s41368-023-00256-x>
- Chen, W., Xu, K., Tao, B., Dai, L., Yu, Y., Mu, C., ... Cai, K. (2018). Multilayered coating of titanium implants promotes coupled osteogenesis and angiogenesis in vitro and in vivo. *Acta Biomaterialia*, 74, 489–504. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.04.043>
- Chen, Y., Ma, B., Wang, X., Zha, X., Sheng, C., Yang, P., & Qu, S. (2021). Potential Functions of the BMP Family in Bone, Obesity, and Glucose Metabolism. *Journal of Diabetes Research*, 2021, 6707464. <https://doi.org/10.1155/2021/6707464>
- Cheng, K. Y., Ball, S. T., Gonzales, F. B., Schenk, S., & Hughes-Austin, J. M. (2020). Metabolic Syndrome Is Associated With Higher Risk of Wound Complications After Total Hip Arthroplasty. *Arthroplasty Today*, 6(3), 571–577. <https://doi.org/10.1016/j.artd.2020.06.010>
- Cho, S. Y., Shin, E. S., Park, P. J., Shin, D. W., Chang, H. K., Kim, D., ... Lee, T. R. (2007). Identification of mouse Prp19p as a lipid droplet-associated protein and its possible involvement in the biogenesis of lipid droplets. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(4), 2456–2465. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608042200>
- Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of Medical Science: AMS*, 9(2), 191–200. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181>
- Coelho, P. G., Pippenger, B., Tovar, N., Koopmans, S.-J., Plana, N. M., Graves, D. T., ... Dard, M. (2018). Effect of Obesity or Metabolic Syndrome and Diabetes on Osseointegration of Dental Implants in a Miniature Swine Model: A Pilot Study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 76(8), 1677–1687. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2018.02.021>
- Cuevas, A. M., Clark, J. M., & Potter, J. J. (2021). Increased TLR/MyD88 signaling in patients with obesity: is there a link to COVID-19 disease severity? *International Journal of Obesity (2005)*, 45(5), 1152–1154. <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00768-8>
- da Costa Fernandes, C. J., Bezerra, F. J. B., de Campos Souza, B., Campos, M. A., & Zambuzzi, W. F. (2018). 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*, 50(July), 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.07.015>
- da Costa Fernandes, C. J., Ferreira, M. R., Bezerra, F. J. B., & Zambuzzi, W. F. (2018). 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*, 29(4), 41. <https://doi.org/10.1007/s10856-018-6041-9>
- da Silva, R. A., da Silva Feltran, G., Ferreira, M. R., Wood, P. F., Bezerra, F., & Zambuzzi, W. F. (2020). 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*, 2020, 3026893. <https://doi.org/10.1155/2020/3026893>
- Davis, R., Singh, A., Jackson, M. J., Coelho, R. T., Prakash, D., Charalambous, C. P., ... Lawrence, A. A. (2022). A comprehensive review on metallic implant biomaterials and their subtractive manufacturing. *The International Journal, Advanced Manufacturing Technology*, 120(3–4), 1473–1530. <https://doi.org/10.1007/s00170-022-08770-8>
- de Oliveira, P. G. F. P., Bonfante, E. A., Bergamo, E. T. P., de Souza, S. L. S., Riella, L., Torroni, A., ... Coelho, P. G. (2020). Obesity/Metabolic Syndrome and Diabetes Mellitus on Peri-implantitis. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2020.05.005>
- dela Paz, N. G., Walshe, T. E., Leach, L. L., Saint-Geniez, M., & D'Amore, P. A. (2012). Role of shear-stress-induced VEGF expression in endothelial cell survival. *Journal of Cell Science*, 125(4), 831–843. <https://doi.org/10.1242/jcs.084301>
- Engin, A. (2017). The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 960, 1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_1
- Everts, P. A., Lana, J. F., Onishi, K., Buford, D., Peng, J., Mahmood, A., ... Podesta, L. (2023). Angiogenesis and Tissue Repair Depend on Platelet Dosing and Bioformulation Strategies Following Orthobiological Platelet-Rich Plasma Procedures: A Narrative Review. *Biomedicines*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071922>
- Fabbrini, E., Sullivan, S., & Klein, S. (2010). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 51(2), 679–689. <https://doi.org/10.1002/hep.23280>
- Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2). <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>
- Feijóo-Bandín, S., Aragón-Herrera, A., Moraña-Fernández, S., Anido-Varela, L., Tarazón, E., Roselló-Lletí, E., ... Lago, F. (2020). Adipokines and Inflammation: Focus on Cardiovascular Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20). <https://doi.org/10.3390/ijms21207711>
- Fernandes, C J C, Bezerra, F., das D do Carmo, M., Feltran, G. S., Rossi, M. C., da Silva, R. A., ... Zambuzzi, W. (2018). CoCr-enriched medium modulates integrin-based downstream signaling and requires a set of inflammatory genes reprogramming in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 106 3, 839–849.
- Fernandes, Celio J C, Bezerra, F., Ferreira, M. R., Andrade, A. F. C., Pinto, T. S., & Zambuzzi, W. F. (2018). 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*, 163, 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.12.049>
- Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. da S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S. (2015). Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence

- Bone Cells. *BioMed Research International*, 2015, 421746. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>
- Forte, Y. S., Renovato-Martins, M., & Barja-Fidalgo, C. (2023). Cellular and Molecular Mechanisms Associating Obesity to Bone Loss. *Cells*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/cells12040521>
- Francisqueti, F. V., Minatel, I. O., Ferron, A. J., Bazan, S. G., Silva, V. D., Garcia, J. L., ... Corrêa, C. R. (2017). Effect of Gamma-Oryzanol as Therapeutic Agent to Prevent Cardiorenal Metabolic Syndrome in Animals Submitted to High Sugar-Fat Diet. *Nutrients*, Vol. 9. <https://doi.org/10.3390/nu9121299>
- Frühbeck, G., Méndez-Giménez, L., Fernández-Formoso, J.-A., Fernández, S., & Rodríguez, A. (2014). Regulation of adipocyte lipolysis. *Nutrition Research Reviews*, 27(1), 63–93. <https://doi.org/10.1017/S095442241400002X>
- Fujimoto, T., & Parton, R. G. (2011). Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(3). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004838>
- Garcia, J. L., Vileigas, D. F., Gregolin, C. S., Costa, M. R., Francisqueti-Ferron, F. V., Ferron, A. J. T., ... Corrêa, C. R. (2022). Rice (*Oryza sativa* L.) bran preserves cardiac function by modulating pro-inflammatory cytokines and redox state in the myocardium from obese rats. *European Journal of Nutrition*, 61(2), 901–913. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02691-0>
- Gillespie, M. S. (2003). *METABOLIC ASPECTS OF ORYZANOL IN RATS* by. (May).
- Girón, J., Kerstner, E., Medeiros, T., Oliveira, L., Machado, G. M., Malfatti, C. F., & Pranke, P. (2021). Biomaterials for bone regeneration: an orthopedic and dentistry overview. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 54(9), e11055. <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11055>
- Gittens, R. A., Olivares-Navarrete, R., Schwartz, Z., & Boyan, B. D. (2014). Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants. *Acta Biomaterialia*, 10(8), 3363–3371. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.037>
- Givens, C., & Tzima, E. (2016). Endothelial Mechanosignaling: Does One Sensor Fit All? *Antioxidants & Redox Signaling*, 25(7), 373–388. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6493>
- Gkastaris, K., Goulis, D. G., Potoupnis, M., Anastasilakis, A. D., & Kapetanios, G. (2020). Obesity, osteoporosis and bone metabolism. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*, 20(3), 372–381.
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.-A., Hu, F. B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., ... Martínez, J. A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17034. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34>
- Greco, E. A., Lenzi, A., & Migliaccio, S. (2015). The obesity of bone. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 6(6), 273–286. <https://doi.org/10.1177/2042018815611004>
- Green, C. J., Pramfalk, C., Morten, K. J., & Hodson, L. (2015). From whole body to cellular models of hepatic triglyceride metabolism: man has got to know his

- limitations. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 308(1), E1-20. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00192.2014>
- Guiu-Jurado, E., Unthan, M., Böhler, N., Kern, M., Landgraf, K., Dietrich, A., ... Blüher, M. (2016). Bone morphogenetic protein 2 (BMP2) may contribute to partition of energy storage into visceral and subcutaneous fat depots. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 24(10), 2092–2100. <https://doi.org/10.1002/oby.21571>
- Guo, S., & Dipietro, L. A. (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
- Hang, T.-C., Tedford, N. C., Reddy, R. J., Rimchala, T., Wells, A., White, F. M., ... Lauffenburger, D. A. (2013). Vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet (PF-4) factor 4 inputs modulate human microvascular endothelial signaling in a three-dimensional matrix migration context. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 12(12), 3704–3718. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.030528>
- Hausman, D. B., DiGirolamo, M., Bartness, T. J., Hausman, G. J., & Martin, R. J. (2001). The biology of white adipocyte proliferation. *Obesity Reviews : An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 2(4), 239–254. <https://doi.org/10.1046/j.1467-789x.2001.00042.x>
- Horwitz, A., & Birk, R. (2023). Adipose Tissue Hyperplasia and Hypertrophy in Common and Syndromic Obesity-The Case of BBS Obesity. *Nutrients*, 15(15). <https://doi.org/10.3390/nu15153445>
- Hu, G., Place, A. T., & Minshall, R. D. (2008). Regulation of endothelial permeability by Src kinase signaling: vascular leakage versus transcellular transport of drugs and macromolecules. *Chemico-Biological Interactions*, 171(2), 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.08.006>
- Huang-Doran, I., Zhang, C.-Y., & Vidal-Puig, A. (2017). Extracellular Vesicles: Novel Mediators of Cell Communication In Metabolic Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 28(1), 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.10.003>
- Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*, 2(5–6), 231–237. <https://doi.org/10.1242/dmm.001180>
- Hung, K.-Y., Lin, Y.-C., & Feng, H.-P. (2017). The Effects of Acid Etching on the Nanomorphological Surface Characteristics and Activation Energy of Titanium Medical Materials. *Materials (Basel, Switzerland)*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/ma10101164>
- I, T., Noda, S., Ohba, S., Asahina, I., & Sumita, Y. (2023). First-in-Human Study to Investigate the Safety Assessment of Peri-Implant Soft Tissue Regeneration with Micronized-Gingival Connective Tissue: A Pilot Case Series Study. *Medicines*, Vol. 10. <https://doi.org/10.3390/medicines10010009>
- Ibrahim, A., & Arany, Z. (2017, April). Does Endothelium Buffer Fat? *Circulation Research*, Vol. 120, pp. 1219–1221. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310865>
- Ipsen, D. H., Lykkesfeldt, J., & Tveden-Nyborg, P. (2018). Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 75(18), 3313–3327. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2860-6>

- Jung, U. J., & Choi, M.-S. (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(4), 6184–6223. <https://doi.org/10.3390/ijms15046184>
- Kanakaris, N. K., Petsatodis, G., Tagil, M., & Giannoudis, P. V. (2009). Is there a role for bone morphogenetic proteins in osteoporotic fractures? *Injury*, 40 Suppl 3, S21–6. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(09\)70007-5](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(09)70007-5)
- Kanazawa, I. (2015). Osteocalcin as a hormone regulating glucose metabolism. *World Journal of Diabetes*, 6(18), 1345–1354. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i18.1345>
- Khosravi, N., Maeda, A., DaCosta, R. S., & Davies, J. E. (2018). Nanosurfaces modulate the mechanism of peri-implant endosseous healing by regulating neovascular morphogenesis. *Communications Biology*, 1, 72. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0074-y>
- Khoswanto, C. (2023). Role of matrix metalloproteinases in bone regeneration: Narrative review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 13(5), 539–543. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2023.06.002>
- Kim, H. Y., Choe, J. W., Kim, H. K., Bae, S. J., Kim, B. J., Lee, S. H., ... Kim, G. S. (2010). Negative association between metabolic syndrome and bone mineral density in Koreans, especially in men. *Calcified Tissue International*, 86(5), 350–358. <https://doi.org/10.1007/s00223-010-9347-2>
- Kim, J.-Y., van de Wall, E., Laplante, M., Azzara, A., Trujillo, M. E., Hofmann, S. M., ... Scherer, P. E. (2007). Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(9), 2621–2637. <https://doi.org/10.1172/JCI31021>
- Kitamura, T., Asai, N., Enomoto, A., Maeda, K., Kato, T., Ishida, M., ... Takahashi, M. (2008). Regulation of VEGF-mediated angiogenesis by the Akt/PKB substrate Girdin. *Nature Cell Biology*, 10(3), 329–337. <https://doi.org/10.1038/ncb1695>
- Kobayashi, E., Ito, J., Kato, S., Sawada, K., Matsuki, M., Hashimoto, H., ... Nakagawa, K. (2016). Presence of orally administered rice bran oil γ -oryzanol in its intact form in mouse plasma. *Food & Function*, 7(12), 4816–4822. <https://doi.org/10.1039/c6fo01552b>
- Konige, M., Wang, H., & Sztalryd, C. (2014). Role of adipose specific lipid droplet proteins in maintaining whole body energy homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(3), 393–401. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.05.007>
- Kraus, N. A., Ehebauer, F., Zapp, B., Rudolphi, B., Kraus, B. J., & Kraus, D. (2016). Quantitative assessment of adipocyte differentiation in cell culture. *Adipocyte*, 5(4), 351–358. <https://doi.org/10.1080/21623945.2016.1240137>
- Kuo, A., Lee, M. Y., & Sessa, W. C. (2017). Lipid Droplet Biogenesis and Function in the Endothelium. *Circulation Research*, 120(8), 1289–1297. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.310498>
- Kusumbe, A. P., Ramasamy, S. K., & Adams, R. H. (2014). Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. *Nature*, 507(7492), 323–328. <https://doi.org/10.1038/nature13145>
- Larsson, P., Ulfhammer, E., Karlsson, L., Bokarewa, M., Wåhlander, K., & Jern, S.

- (2008). Effects of IL-1 β and IL-6 on tissue-type plasminogen activator expression in vascular endothelial cells. *Thrombosis Research*, 123(2), 342–351. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2008.03.013>
- Lehoux, S., & Tedgui, A. (2003). Cellular mechanics and gene expression in blood vessels. *Journal of Biomechanics*, 36(5), 631–643.
- Lemieux, I., & Després, J.-P. (2020, November). Metabolic Syndrome: Past, Present and Future. *Nutrients*, Vol. 12. <https://doi.org/10.3390/nu12113501>
- Leonardini, A., Laviola, L., Perrini, S., Natalicchio, A., & Giorgino, F. (2009). Cross-Talk between PPAR γ and Insulin Signaling and Modulation of Insulin Sensitivity. *PPAR Research*, 2009, 818945. <https://doi.org/10.1155/2009/818945>
- Li, H., Luo, H., Zhang, Y., Liu, L., & Lin, R. (2022). Association of Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease and Liver Stiffness With Bone Mineral Density in American Adults. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 891382. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.891382>
- Li, J., Gao, Y., Yu, T., Lange, J. K., LeBoff, M. S., Gorska, A., ... Glowacki, J. (2020). Obesity and leptin influence vitamin D metabolism and action in human marrow stromal cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 198, 105564. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105564>
- Li, M., Qian, M., Kyler, K., & Xu, J. (2021). Adipose Tissue-Endothelial Cell Interactions in Obesity-Induced Endothelial Dysfunction. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 8, 681581. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.681581>
- Li, W., Xu, P., Wang, C., Ha, X., Gu, Y., Wang, Y., ... Xie, J. (2017). The effects of fat-induced obesity on bone metabolism in rats. *Obesity Research & Clinical Practice*, 11(4), 454–463. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2016.12.001>
- Lin, A., Wang, C. J., Kelly, J., Gubbi, P., & Nishimura, I. (2009). The role of titanium implant surface modification with hydroxyapatite nanoparticles in progressive early bone-implant fixation in vivo. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(5), 808–816.
- Lin, X., & Li, H. (2021). Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.706978>
- Liu, L.-F., Shen, W.-J., Zhang, Z. H., Wang, L. J., & Kraemer, F. B. (2010). Adipocytes decrease Runx2 expression in osteoblastic cells: roles of PPAR γ and adiponectin. *Journal of Cellular Physiology*, 225(3), 837–845. <https://doi.org/10.1002/jcp.22291>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S.-C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2, 17023-. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- Loosen, S. H., Roderburg, C., Demir, M., Qvarthava, N., Keitel, V., Kostev, K., & Luedde, T. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with an increased incidence of osteoporosis and bone fractures. *Zeitschrift Fur Gastroenterologie*, 60(8), 1221–1227. <https://doi.org/10.1055/a-1482-9236>
- Luo, L., & Liu, M. (2016). Adipose tissue in control of metabolism. *The Journal of Endocrinology*, 231(3), R77–R99. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0211>
- Machado, M. V., & Cortez-Pinto, H. (2023). NAFLD, MAFLD and obesity: brothers in arms? *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 20(2), 67–68.

- <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00717-4>
- Martínez-Martínez, E., Souza-Neto, F. V., Jiménez-González, S., & Cachofeiro, V. (2021). Oxidative Stress and Vascular Damage in the Context of Obesity: The Hidden Guest. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/antiox10030406>
- Minatel, I. O., Francisqueti, F. V., Corrêa, C. R., & Lima, G. P. P. (2016). Antioxidant Activity of γ -Oryzanol: A Complex Network of Interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081107>
- Miniewska, K., Godzien, J., Mojsak, P., Maliszewska, K., Kretowski, A., & Ciborowski, M. (2020). Mass spectrometry-based determination of lipids and small molecules composing adipose tissue with a focus on brown adipose tissue. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 191, 113623. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113623>
- Monteiro, J. L. G. C., Pellizzer, E. P., Araújo Lemos, C. A., de Moraes, S. L. D., & do Egito Vasconcelos, B. C. (2019). Is there an association between overweight/obesity and dental implant complications? A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 48(9), 1241–1249. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijom.2019.01.015>
- Müller, F. A., & Sturla, S. J. (2019). Human in vitro models of nonalcoholic fatty liver disease. *Current Opinion in Toxicology*, 16, 9–16. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.03.001>
- Nandy, A., Helderman, R. C. M., Thapa, S., Jayapalan, S., Richards, A., Narayani, N., ... Rendina-Ruedy, E. (2023). Lipolysis supports bone formation by providing osteoblasts with endogenous fatty acid substrates to maintain bioenergetic status. *Bone Research*, 11(1), 62. <https://doi.org/10.1038/s41413-023-00297-2>
- Nandy, A., Richards, A., Thapa, S., Akhmetshina, A., Narayani, N., & Rendina-Ruedy, E. (2023). Altered Osteoblast Metabolism with Aging Results in Lipid Accumulation and Oxidative Stress Mediated Bone Loss. *Aging and Disease*. <https://doi.org/10.14336/AD.2023.0510>
- Newberry, E. P., Hall, Z., Xie, Y., Molitor, E. A., Bayguinov, P. O., Strout, G. W., ... Davidson, N. O. (2021). Liver-Specific Deletion of Mouse Tm6sf2 Promotes Steatosis, Fibrosis, and Hepatocellular Cancer. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 74(3), 1203–1219. <https://doi.org/10.1002/hep.31771>
- Nuttall, F. Q. (2015). Body Mass Index: Obesity, BMI, and Health: A Critical Review. *Nutrition Today*, 50(3), 117–128. <https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000092>
- Ootsuka, T., Nakanishi, A., & Tsukamoto, I. (2015). Increase in osteoclastogenesis in an obese Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat model. *Molecular Medicine Reports*, 12(3), 3874–3880. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3811>
- Oshida, Y., Tuna, E. B., Aktören, O., & Gençay, K. (2010). Dental implant systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4), 1580–1678. <https://doi.org/10.3390/ijms11041580>
- Oury, F., Yadav, V. K., Wang, Y., Zhou, B., Liu, X. S., Guo, X. E., ... Karsenty, G. (2010). CREB mediates brain serotonin regulation of bone mass through its expression in ventromedial hypothalamic neurons. *Genes & Development*, 24(20),

- 2330–2342. <https://doi.org/10.1101/gad.1977210>
- Pacheco-Pantoja, E. L., Fraser, W. D., Wilson, P. J. M., & Gallagher, J. A. (2014). Differential effects of adiponectin in osteoblast-like cells. *Journal of Receptor and Signal Transduction Research*, 34(5), 351–360. <https://doi.org/10.3109/10799893.2014.898658>
- Pacia, M. Z., Majzner, K., Czamara, K., Sternak, M., Chlopicki, S., & Baranska, M. (2020). Estimation of the content of lipids composing endothelial lipid droplets based on Raman imaging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(9), 158758. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158758>
- Palacios-Ortega, S., Varela-Guruceaga, M., Martínez, J. A., de Miguel, C., & Milagro, F. I. (2016). Effects of high glucose on caveolin-1 and insulin signaling in 3T3-L1 adipocytes. *Adipocyte*, 5(1), 65–80. <https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1122856>
- Paschos, P., & Paletas, K. (2009). Non alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome. *Hippokratia*, 13(1), 9–19.
- Pellegrinelli, V., Rouault, C., Veyrie, N., Clément, K., & Lacasa, D. (2014). Endothelial cells from visceral adipose tissue disrupt adipocyte functions in a three-dimensional setting: partial rescue by angiopoietin-1. *Diabetes*, 63(2), 535–549. <https://doi.org/10.2337/db13-0537>
- Perera, N., Ritchie, R. H., & Tate, M. (2020). The Role of Bone Morphogenetic Proteins in Diabetic Complications. *ACS Pharmacology & Translational Science*, 3(1), 11–20. <https://doi.org/10.1021/acsptsci.9b00064>
- Perez-Ternero, C., Macià, A., de Sotomayor, M. A., Parrado, J., Motilva, M.-J., & Herrera, M.-D. (2017). Bioavailability of the ferulic acid-derived phenolic compounds of a rice bran enzymatic extract and their activity against superoxide production. *Food & Function*, 8(6), 2165–2174. <https://doi.org/10.1039/c7fo00243b>
- Perseghin, G., Ghosh, S., Gerow, K., & Shulman, G. I. (1997). Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes*, 46(6), 1001–1009. <https://doi.org/10.2337/diab.46.6.1001>
- Pinto, T. S., Fernandes, C. J. da C., da Silva, R. A., Gomes, A. M., Vieira, J. C. S., Padilha, P. de M., & Zambuzzi, W. F. (2019). c-Src kinase contributes on endothelial cells mechanotransduction in a heat shock protein 70-dependent turnover manner. *Journal of Cellular Physiology*, 234(7), 11287–11303. <https://doi.org/10.1002/jcp.27787>
- Pinto, T. S., Gomes, A. M., de Moraes, P. B., & Zambuzzi, W. F. (2023). Adipogenesis-Related Metabolic Condition Affects Shear-Stressed Endothelial Cells Activity Responding to Titanium. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/jfb14030162>
- Pouwels, S., Sakran, N., Graham, Y., Leal, A., Pintar, T., Yang, W., ... Ramnarain, D. (2022). Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss. *BMC Endocrine Disorders*, 22(1), 63. <https://doi.org/10.1186/s12902-022-00980-1>
- Raines, A. L., Berger, M. B., Patel, N., Hyzy, S. L., Boyan, B. D., & Schwartz, Z. (2019).

- VEGF-A regulates angiogenesis during osseointegration of Ti implants via paracrine/autocrine regulation of osteoblast response to hierarchical microstructure of the surface. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 107(2), 423–433. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36559>
- Ramasamy, S. K., Kusumbe, A. P., Schiller, M., Zeuschner, D., Bixel, M. G., Milia, C., ... Adams, R. H. (2016). Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. *Nature Communications*, 7, 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms13601>
- Ranjan, S., Dasgupta, N., Sudandiradoss, C., Ramalingam, C., & Kumar, A. (2018). Titanium dioxide nanoparticle-protein interaction explained by docking approach. *International Journal of Nanomedicine*, 13(T-NANO 2014 Abstracts), 47–50. <https://doi.org/10.2147/IJN.S125008>
- Rossi, M. C., Bezerra, F. J. B., Silva, R. A., Crulhas, B. P., Fernandes, C. J. C., Nascimento, A. S., ... Zambuzzi, W. F. (2017). Titanium-released from dental implant enhances pre-osteoblast adhesion by ROS modulating crucial intracellular pathways. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, 105(11), 2968–2976. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36150>
- Ruiz-Ojeda, F. J., Méndez-Gutiérrez, A., Aguilera, C. M., & Plaza-Díaz, J. (2019). Extracellular Matrix Remodeling of Adipose Tissue in Obesity and Metabolic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19). <https://doi.org/10.3390/ijms20194888>
- Saini, S., Duraisamy, A. J., Bayen, S., Vats, P., & Singh, S. B. (2015). Role of BMP7 in appetite regulation, adipogenesis, and energy expenditure. *Endocrine*, 48(2), 405–409. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0406-8>
- Sangro, P., de la Torre Aláez, M., Sangro, B., & D'Avola, D. (2023). Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD): an update of the recent advances in pharmacological treatment. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 79(4), 869–879. <https://doi.org/10.1007/s13105-023-00954-4>
- Sansone, V., Pagani, D., & Melato, M. (2013). The effects on bone cells of metal ions released from orthopaedic implants. A review. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism : The Official Journal of the Italian Society of Osteoporosis, Mineral Metabolism, and Skeletal Diseases*, 10(1), 34–40. <https://doi.org/10.11138/ccmbm/2013.10.1.034>
- Sartoretto, S. C., Calasans-Maia, J., Resende, R., Câmara, E., Ghiraldini, B., Barbosa Bezerra, F. J., ... Calasans-Maia, M. D. (2020). The Influence of Nanostructured Hydroxyapatite Surface in the Early Stages of Osseointegration: A Multiparameter Animal Study in Low-Density Bone. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 8803–8817. <https://doi.org/10.2147/IJN.S280957>
- Sawada, K., Rahmania, H., Matsuki, M., Hashimoto, H., Ito, J., Miyazawa, T., & Nakagawa, K. (2019). Absorption and Metabolism of γ -Oryzanol, a Characteristic Functional Ingredient in Rice Bran. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 65(Supplement), S180–S184. <https://doi.org/10.3177/jnsv.65.S180>
- Schreiber, I., Dörpholz, G., Ott, C.-E., Kragesteen, B., Schanze, N., Lee, C. T., ... Knaus, P. (2017). BMPs as new insulin sensitizers: enhanced glucose uptake in mature 3T3-

- L1 adipocytes via PPAR γ and GLUT4 upregulation. *Scientific Reports*, 7(1), 17192. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17595-5>
- Shaikh, A., Wesner, A. A., Abuhattab, M., Kutty, R. G., & Premnath, P. (2023). Cell cycle regulators and bone: development and regeneration. *Cell & Bioscience*, 13(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-00988-7>
- Shibuya, M. (2011). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes & Cancer*, 2(12), 1097–1105. <https://doi.org/10.1177/1947601911423031>
- Sidambe, A. T. (2014). Biocompatibility of Advanced Manufactured Titanium Implants- A Review. *Materials (Basel, Switzerland)*, 7(12), 8168–8188. <https://doi.org/10.3390/ma7128168>
- Somanath, P. R., Razorenova, O. V, Chen, J., & Byzova, T. V. (2006). Akt1 in endothelial cell and angiogenesis. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 5(5), 512–518. <https://doi.org/10.4161/cc.5.5.2538>
- Stahl, A. (2004). A current review of fatty acid transport proteins (SLC27). *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 447(5), 722–727. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1106-z>
- Suzuki, Y. J., Carini, M., & Butterfield, D. A. (2010, March). Protein carbonylation. *Antioxidants & Redox Signaling*, Vol. 12, pp. 323–325. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2887>
- Thiriet, M. (2018). Hyperlipidemias and Obesity. *Vasculopathies: Behavioral, Chemical, Environmental, and Genetic Factors*, Vol. 8, pp. 331–548. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89315-0_5
- Tran, V., Brettle, H., Diep, H., Dinh, Q. N., O’Keeffe, M., Fanson, K. V, ... Jelinic, M. (2023). Sex-specific effects of a high fat diet on aortic inflammation and dysfunction. *Scientific Reports*, 13(1), 21644. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47903-1>
- Tükel, H. C., & Delilbaşı, E. (2019). Effects of metabolic syndrome on jawbones and bone metabolic markers in sucrose-fed rats. *Odontology*, 107(4), 457–464. <https://doi.org/10.1007/s10266-019-00422-w>
- van der Vusse, G. J., van Bilsen, M., Glatz, J. F. C., Hasselbaink, D. M., & Luiken, J. J. F. P. (2002). Critical steps in cellular fatty acid uptake and utilization. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 239(1–2), 9–15. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9270-3_2
- Verma, S. K., Jha, E., Panda, P. K., Thirumurugan, A., Parashar, S. K. S., Patro, S., & Suar, M. (2018). Mechanistic Insight into Size-Dependent Enhanced Cytotoxicity of Industrial Antibacterial Titanium Oxide Nanoparticles on Colon Cells Because of Reactive Oxygen Species Quenching and Neutral Lipid Alteration. *ACS Omega*, 3(1), 1244–1262. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01522>
- Wang, T., He, C., & Yu, X. (2017). Pro-Inflammatory Cytokines: New Potential Therapeutic Targets for Obesity-Related Bone Disorders. *Current Drug Targets*, 18(14), 1664–1675. <https://doi.org/10.2174/1389450118666170104153512>
- Wawrzyniak, A., & Balawender, K. (2022). Structural and Metabolic Changes in Bone.

- Animals* : *An Open Access Journal from MDPI*, 12(15).
<https://doi.org/10.3390/ani12151946>
- Wei, J., & Karsenty, G. (2015). An overview of the metabolic functions of osteocalcin. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 16(2), 93–98.
<https://doi.org/10.1007/s11154-014-9307-7>
- Yue, J., & López, J. M. (2020). Understanding MAPK Signaling Pathways in Apoptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(7).
<https://doi.org/10.3390/ijms21072346>
- Zhao, Z., Chen, X., Dowbaj, A. M., Sljukic, A., Bratlie, K., Lin, L., ... Yu, H. (2022). Organoids. *Nature Reviews. Methods Primers*, 2. <https://doi.org/10.1038/s43586-022-00174-y>
- Zhu, G., Wang, G., & Li, J. J. (2021). Advances in implant surface modifications to improve osseointegration. *Mater. Adv.*, 2(21), 6901–6927.
<https://doi.org/10.1039/D1MA00675D>