

RESSALVA

Atendendo a solicitação
da autora, o texto
completo desta
dissertação será
disponibilizado a partir de
16/03/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

SARAH DE OLIVEIRA MARCO AVELINO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO RECOBRIMENTO DOS BIOVIDROS
BIOK E 45S5 NA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DE ZIRCÔNIA:
*estudo in vitro e in vivo***

2022

SARAH DE OLIVEIRA MARCO AVELINO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO RECOBRIMENTO DOS BIOVIDROS BIOK E 45S5
NA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DE ZIRCÔNIA: estudo *in vitro* e *in vivo***

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRA pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Biomateriais. Linha de pesquisa: Estudo da biocompatibilidade de novos materiais de uso médico-odontológico.

Orientadora: Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Coorientador: Prof. Dr. Tiago Moreira Bastos Campos

São José dos Campos

2022

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Avelino, Sarah de Oliveira Marco

Avaliação do efeito do recobrimento dos biovidros biok e 45S5 na superfície de implantes de zircônia: estudo in vivo e in vitro / Sarah de Oliveira Marco Avelino. - São José dos Campos : [s.n.], 2022.
60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2022.

Orientador: Luana Marotta Reis De Vasconcellos

Coorientador: Tiago Moreira Bastos Campos

1. Osteogênese. 2. Osseointegração. 3. Zircônia. 4. Biovidro. I. De Vasconcellos, Luana Marotta Reis, orient. II. Campos, Tiago Moreira Bastos, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Luana Marotta Reis de Vasconcellos (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardim

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

São José dos Campos

Prof. Dr. Felipe Eduardo de Oliveira

Universidade Braz Cubas

Faculdade de Odontologia

Mogi das Cruzes

São José dos Campos, 17 de novembro de 2022.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, por terem me concedido o privilégio de estudar nas melhores condições possíveis do Maternal à Pós-Graduação. Mais do que a possibilitar tantos acessos, a educação tem um papel transformador único que nos concede autonomia, possibilidades de escolhas e de mudanças na vida, muito obrigada por essa herança preciosa. Todas as minhas conquistas (pessoais e profissionais) sempre serão nossas, nunca conseguirei retribuir à altura tudo que fizeram e fazem por mim. Amo vocês incondicionalmente.

Ao Léo, que me acompanhou desde o início e foi peça fundamental para que esse trabalho acontecesse de uma forma menos pesada. Sem dúvidas, essa dissertação é nossa, sou eternamente grata pela parceria e disponibilidade que teve em me ajudar em todos os momentos que precisei, ser sua co-orientadora foi um presente pra mim. Tenho certeza que sua dedicação em tudo que faz te conduzirá à caminhos brilhantes. Conte sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser meu sustento em todos os momentos, por tantas bênçãos a mim concedidas e por sempre guiar meu caminho.

À minha família, pelo amor e apoio incondicionais em todos os momentos da minha vida. Mãe, pai, Felipe, amo vocês infinitamente, não consigo colocar em palavras tanto amor e gratidão. Estendo meus agradecimentos aos meus avôs e avós por serem bons exemplos e por me amarem tanto. Agradeço também as minhas tias e tios, por tudo que fizeram por mim, e por me darem meus primos que tanto amo. Minha família é a maior benção da minha vida.

À minha orientadora, profa. Luana, sou extremamente grata pela oportunidade de aprender e trabalhar com alguém tão competente. Muito obrigada pela parceira que, por muitas vezes, foi além do profissional. Tenho imensa admiração e respeito por sua trajetória. Obrigada por tudo ao longo desses 6 anos trabalhando juntas, sempre me lembrarei de você com carinho.

Ao Léo, meu querido aluno co-orientado, a quem também dedico esse trabalho e sou imensamente grata. Muito obrigada por me ajudar em todos os momentos que precisei. É um privilégio poder trabalhar com pessoas comprometidas, competentes e determinadas como você. Te desejo a colheita de tantos bons frutos que vem plantando em sua jornada. Mais do que um bom profissional, você já é uma excelente pessoa, e isso é o que mais importa.

Ao meu co-orientador, Tiago, pela parceria importante ao desenvolvimento desse trabalho. Obrigada pelo o que me ensinou nesse período de convivência e por ter me permitido enxergar outras possibilidades.

Às minhas amigas da vida: Luana, Lenira, Gabriela Trindade, Júlia, Gabriella Azevedo, Ana Gabriele, Bia Mendes, Bia Carreira, Giovanna Lotto, Giovanna Saroli,

Thamires, Thayná Brito, Thayná Lemos e Larissa, por terem incansavelmente me ouvido e apoiado durante essa fase (e em tantas outras). Não sei o que seria de mim sem vocês, sou infinitamente grata por nosso encontro. Obrigada pela paciência e por tanto amor. Desejo de todo o coração que possamos estar sempre juntas.

Às pessoas especiais que entraram em minha vida nesse período difícil, e que indiretamente me ajudaram muito, tornando essa fase mais leve, dividindo bons momentos, boas conversas, e me fazendo mais feliz: Ricardo, Stephanie, Vitória, Flávia, Verônica, Raíssa, muito obrigada. Ter vocês comigo me deu ânimo e alegria para fazer o que precisava ser feito.

Às amigas que o mestrado me deu, em especial à Marina, que foi meu braço direito em muitos dias de laboratório e biotério, sempre pronta para me ajudar, ouvir e compartilhar bons momentos. Obrigada Ma, teria sido muito mais difícil sem você. Estendo os agradecimentos à Bia e Tainá, que dividiram a graduação e o mestrado comigo. Foi uma alegria enorme ter me aproximado ainda mais de vocês.

À todos os orientados da professora Luana, pela ótima convivência que tivemos e por toda ajuda e suporte no desenvolvimento dessa pesquisa. Trabalhar com um grupo comprometido, responsável e leve faz toda diferença. Juliani, Mari, Ju Lupp, Thays, Bia, Júlia, Vini, Hugo, Léo: muito obrigada por tudo que compartilhamos, vou sempre me lembrar com muito carinho de cada um de vocês.

Ao ICT-UNESP São José dos Campos, por ter sido minha casa por quase 7 anos, me oportunizando ter uma profissão e acesso à educação pública e de extrema qualidade. Sou muito feliz por ter escolhido essa instituição e me orgulho muito de minha formação.

Ao programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB) e todos os seus funcionários técnico-administrativos e docentes que me acompanharam ao longo do mestrado. Todos vocês foram essenciais para que essa

dissertação acontecesse. Agradeço em especial à Carla, ao Sérgio e ao André pelo suporte em todos os momentos que precisei.

Ao Instituto de Ciência e Tecnológica (ITA) pela parceria que firmamos, disponibilidade de utilização dos laboratórios e equipamentos, fundamentais para realização desse trabalho. Estendo o agradecimento ao professor Gilmar Tim, que gentilmente me acolheu e cedeu todos esses espaços.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa no período de Agosto de 2021 à Agosto de 2022.

À todos os animais utilizados nessa pesquisa, minha sincera gratidão.

"Faça o melhor que você pode, nas condições que você tem, enquanto não tiver condições de fazer melhor ainda". Mario Sérgio Cortella

RESUMO

Avelino SOM. Avaliação do efeito do recobrimento dos biovidros biok e 45s5 na superfície de implantes de zircônia: estudo *in vitro* e *in vivo* [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2022.

O estudo avaliou o efeito do recobrimento de biovidros 45S5 e bioK na superfície de implantes de zircônia na osteogênese *in vitro* e na osseointegração *in vivo*. Para isso, foram confeccionadas amostras de zircônia T (Tosho, Japão) que foram divididas em 3 grupos: zircônia polida (Z); zircônia recoberta com biovidro 45S5 (45); zircônia recoberta com biovidro biok (bk). As amostras produzidas para os testes de caracterização e etapa *in vitro* mediram 6,0 x 4,0 mm, enquanto que para a etapa *in vivo* apresentaram 2,5x 2,5mm de altura. Após a produção, a morfologia das superfícies das amostras foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e estas foram submetidas ao teste de rugosidade média (Ra). Posteriormente à caracterização, as amostras foram submetidas aos testes biológicos *in vitro* e *in vivo*. Na etapa *in vitro* células mesenquimais obtidas de fêmures de ratos foram isoladas e plaqueadas com as amostras visando avaliar a influência destas na morfologia, atividade e diferenciação celular de osteoblastos, utilizando os testes biológicos de citotoxicidade, avaliação do conteúdo de proteína total, atividade da fosfatase alcalina e formação de nódulos de mineralização. Na etapa *in vivo* 18 ratos foram submetidos à cirurgia para colocação dos implantes nas tíbias direitas e esquerdas, os quais receberam implantes do mesmo material, conforme os grupos descritos acima. Os animais foram eutanasiados após 4 semanas do procedimento cirúrgico. As tíbias direitas foram submetidas à análise histológica e histomorfométrica, enquanto as tíbias esquerdas foram submetidas ao teste de *push out*. Com os resultados *in vitro* pudemos observar que os grupos experimentais não foram citotóxicos, propiciaram um ambiente adequado à atividade e diferenciação celular, e ainda permitiram o espreado celular sobre as amostras. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos experimentais nas análises *in vivo*. Concluiu-se que os recobrimentos nos implantes de zircônia com os biovidros 45S5 e biok foram produzidos adequadamente e permitiram a atividade e diferenciação celular, bem como neoformação óssea ao redor dos implantes. Novos estudos devem ser realizados para fornecer informações adicionais sobre o comportamento do recobrimento dos biovidros na superfície de implantes de zircônia.

Palavras-chave: osteogênese; osseointegração; zircônia; biovidro.

ABSTRACT

Avelino SOM. Evaluation of the effect of coating biok and 45S5 bioglasses on the surface of zirconia implants: in vitro an in vivo study. [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2022.

The study evaluated the effect of bio-glass 45S5 and bioK coating on zirconia implant surfaces on in vitro osteogenesis and in vivo osseointegration. For this purpose, zirconia T (Tosho, Japan) samples were made and divided into 3 groups: polished zirconia (Z); zirconia coated with bioglass 45S5 (45); zirconia coated with biok (bk). The samples produced for the characterization tests and in vitro stage measured 6.0 x 4.0 mm, while for the in vivo stage they were 2.5x 2.5 mm in height. After production, the surface morphology of the samples was analyzed by scanning electron microscopy (SEM) and they were submitted to the average roughness test (Ra). After characterization, the samples were submitted to in vitro and in vivo biological tests. In the in vitro stage mesenchymal cells obtained from rat femurs were isolated and plated with the samples to evaluate their influence on osteoblast morphology, activity and cell differentiation, using the biological tests of cytotoxicity, total protein content, alkaline phosphatase activity and mineralization nodule formation. In the in vivo stage 18 rats underwent surgery to place the implants in the right and left tibiae, which received implants of the same material, according to the groups described above. The animals were euthanized 4 weeks after the surgical procedure. The right tibiae were subjected to histological and histomorphometric analysis, while the left tibiae were subjected to the push out test. With the in vitro results we could observe that the experimental groups were not cytotoxic, provided an adequate environment for cell activity and differentiation, and also allowed cell spreading over the samples. No statistically significant differences were observed between the experimental groups in the in vivo analyses. It was concluded that the coatings on zirconia implants with 45S5 and biok bioglass were adequately produced and allowed cell activity and differentiation, as well as bone neoformation around the implants. Further studies should be carried out to provide additional information on the coating behavior of bio glasses on the surface of zirconia implants.

Keywords: osteogenesis; osseointegration; zirconia; bioglass.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
3 PROPOSIÇÃO	18
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 Confecção das amostras e dos implantes	19
4.2 Caracterização das amostras	21
4.3 Experimentos <i>in vitro</i>	22
4.3.1 Isolamento e cultura de células mesequimais	22
4.3.2 Determinação da viabilidade celular	22
4.3.3 Análise do conteúdo de proteína total	22
4.3.4 Atividade de fosfatase alcalina	22
4.3.5 Análise de formação de nódulos de mineralização	22
4.4 Experimentos <i>in vivo</i> com modelo experimental proposto	22
4.4.1 Animais.....	27
4.4.2 Cirurgia de confecção dos defeitos ósseos.....	27
4.5 Metodologia de análises	27
4.5.1 Teste de <i>push out</i>	27
4.5.2 Análise histológica e histomorfométrica.....	31
4.5.3 Análise estatística	32
5 RESULTADO	33
5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	33
5.2 Análise de rugosidade superficial.....	36
5.3 Ensaio biológicos <i>in vitro</i>	37
5.3.1 Determinação da viabilidade celular.....	37
5.3.2 Conteúdo de proteína total	38
5.3.3 Análise de fosfatase alcalina.....	39
5.3.4 Formação de nódulos de mineralização.....	40
5.4 Análise histológica.....	41
5.5 Análise histomorfométrica	43
5.6 Teste de <i>push out</i>	44

6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
ANEXO.....	59

7 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados acima descritos pôde-se concluir que os recobrimentos de implantes de zircônia com os biovidros 45S5 e biok foram produzidos adequadamente. Nas etapas biológicas *in vitro* e *in vivo* observou-se que todas as amostras permitiram a atividade e diferenciação celular, bem como neoformação óssea ao redor dos implantes. Contudo, novos estudos com ênfase na propriedade mecânica e diferentes períodos de análise de neoformação óssea podem fornecer informações adicionais sobre o comportamento do recobrimento dos biovidros na superfície de implantes de zircônia.

REFERÊNCIAS

- Aguilar-Reyes EA, León-Patiño CA, Jacinto-Díaz B, Lefebvre L-P. Structural Characterization and Mechanical Evaluation of Bioactive Glass 45S5 Foams Obtained by a Powder Technology Approach. *J Am Ceram Soc.* 2012;95(12):3776–80. doi:10.1111/j.1551-2916.2012.05465.x.
- Albulescu R, Popa AC, Enciu AM, Albulescu L, Dudau M, Popescu ID, et al. Comprehensive In Vitro Testing of Calcium Phosphate-Based Bioceramics with Orthopedic and Dentistry Applications. *Materials (Basel).* 2019 Nov 10;12(22):3704. doi: 10.3390/ma12223704. PMID: 31717621; PMCID: PMC6888321.
- Andrade DP, de Vasconcellos LM, Carvalho IC, Forte LF, de Souza Santos EL, Prado RF, et al. Titanium-35niobium alloy as a potential material for biomedical implants: In vitro study. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2015 Nov 1;56:538-44. doi: 10.1016/j.msec.2015.07.026. Epub 2015 Jul 16. PMID: 26249625.
- Arlucea N, Brizuela-Velasco A, Dieguez-Pereira M, Punset M, Molmeneu M, Sánchez Lasheras F, et al. Zirconia vs. Titanium Dental Implants: Primary Stability In-Vitro Analysis. *Materials (Basel).* 2021 Dec 20;14(24):7886. doi: 10.3390/ma14247886. PMID: 34947480; PMCID: PMC8705369.
- Bacchelli B, Giavaresi G, Franchi M, Martini D, De Pasquale V, Trirè A, et al. Influence of a zirconia sandblasting treated surface on peri-implant bone healing: An experimental study in sheep. *Acta Biomater.* 2009 Jul;5(6):2246-57. doi: 10.1016/j.actbio.2009.01.024. Epub 2009 Jan 31. PMID: 19233751.
- Bautista CRG, Santos IVD, Moraes RM, Chiba FY, Sumida DH, Moraes MB, et al. Sitagliptin's effects on bone tissue and osseointegration in diabetic rats. *Arch Oral Biol.* 2019 Jun;102:238-243. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.04.018. Epub 2019 May 2. PMID: 31082700.
- Bellucci D, Cannillo V, Ciardelli G, Gentile P, Sola A. Potassium based bioactive glass for bone tissue engineering. *Ceramics International.* 2010;36(8):2449-53. doi:10.1016/j.ceramint.2010.07.009
- Bellucci D, Cannillo V, Sola A. A new potassium based bioactive glass: sintering behaviour and possible applications for bioceramic scaffolds. *Ceram Int.* 2011;37(1): 145-57. doi:10.1016/j.ceramint.2010.08.020.
- Bhattacharjee P, Kundu B, Naskar D, Kim HW, Maiti TK, Bhattacharya D, et al. Silk scaffolds in bone tissue engineering: An overview. *Acta Biomater.* 2017 Nov;63:1-17. doi: 10.1016/j.actbio.2017.09.027. Epub 2017 Sep 20. PMID: 28941652.
- Campos TM, Ramos NC, Machado JP, Bottino MA, Souza RO, Melo RM. A new silica-infiltrated Y-TZP obtained by the sol-gel method. *J Dent.* 2016 May;48:55-61. doi: 10.1016/j.jdent.2016.03.004. Epub 2016 Mar 21. PMID: 27012859.

Cannillo V, Sola A. Potassium-based composition for a bioactive glass. *Ceram Int*. 2009;35(8):3389-93. doi:10.1016/j.ceramint.2009.06.011.

Causa F, Netti PA, Ambrosio L, Ciapetti G, Baldini N, Pagani S, et al. Poly-epsilon-caprolactone/hydroxyapatite composites for bone regeneration: in vitro characterization and human osteoblast response. *J Biomed Mater Res A*. 2006 Jan;76(1):151-62. doi: 10.1002/jbm.a.30528. PMID: 16258959.

Charlotte SM, Meng D, Telle R, Boccaccini AR. Electrophoretic deposition of carbon nanotubes and bioactive glass particles for bioactive composite coatings. *Ceram Int*. 2010;36(1):307–312. doi: 10.1016/j.ceramint.2009.09.008

Chen QZ, Thompson ID, Boccaccini AR. 45S5 Bioglass-derived glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2006 Apr;27(11):2414-25. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.11.025. Epub 2005 Dec 5. PMID: 16336997.

Chevalier J, Gremillard L, Deville S. Low-temperature degradation of zirconia and implications for biomedical implants. *Rev Mater Res*. 2007 Aug; 37: 1. ©32. doi: 10.1146/annurev.matsci.37.052506.084250.

Costa RC, Souza JGS, Cordeiro JM, Bertolini M, de Avila ED, Landers R, et al. Synthesis of bioactive glass-based coating by plasma electrolytic oxidation: Untangling a new deposition pathway toward titanium implant surfaces. *J Colloid Interface Sci*. 2020 Nov 1;579:680-698. doi: 10.1016/j.jcis.2020.06.102. Epub 2020 Jun 29. PMID: 32652323.

Da Cruz Vegian MR, Costa BCA, de Fátima Santana-Melo G, Godoi FHC, Kaminagakura E, Tango RN, et al. Systemic and local effects of radiotherapy: an experimental study on implants placed in rats. *Clin Oral Investig*. 2020 Feb;24(2):785-797. doi: 10.1007/s00784-019-02946-5. Epub 2019 Jun 1. PMID: 31154539.

Day RM, Boccaccini AR, Shurey S, Roether JA, Forbes A, Hench LL, et al. Assessment of polyglycolic acid mesh and bioactive glass for soft-tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*. 2004 Dec;25(27):5857-66. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.043. PMID: 15172498.

De Araújo-Júnior ENS, Bergamo ETP, Campos TMB, Benalcázar Jalkh EB, Lopes ACO, Monteiro KN, et al. Hydrothermal degradation methods affect the properties and phase transformation depth of translucent zirconia. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2020 Dec;112:104021. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104021. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32882676.

Degidi M, Artese L, Scarano A, Perrotti V, Gehrke P, Piattelli A. Inflammatory infiltrate, microvessel density, nitric oxide synthase expression, vascular endothelial growth factor expression, and proliferative activity in peri-implant soft tissues around titanium and zirconium oxide healing caps. *J Periodontol*. 2006 Jan;77(1):73-80. doi: 10.1902/jop.2006.77.1.73. PMID: 16579706.

Denry I, Kelly JR. State of the art of zirconia for dental applications. *Dent Mater*. 2008 Mar;24(3):299-307. doi: 10.1016/j.dental.2007.05.007. Epub 2007 Jul 19. PMID: 17659331.

Depprich R, Zipprich H, Ommerborn M, Naujoks C, Wiesmann HP, Kiattavorncharoen S, et al. Osseointegration of zirconia implants compared with titanium: an in vivo study. *Head Face Med*. 2008 Dec 11;4:30. doi: 10.1186/1746-160X-4-30. PMID: 19077228; PMCID: PMC2614983.

Ding Q, Zhang R, Zhang L, Sun Y, Xie Q. Effects of Different Microstructured Surfaces on the Osseointegration of CAD/CAM Zirconia Dental Implants: An Experimental Study in Rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2020 Nov/Dec;35(6):1113-1121. doi: 10.11607/jomi.8207. PMID: 33270051.

Dos Santos Trento G, Hassumi JS, Buzo Frigério P, Farnezi Bassi AP, Okamoto R, Gabrielli MAC, et al. Gene expression, immunohistochemical and microarchitectural evaluation of bone formation around two implant surfaces placed in bone defects filled or not with bone substitute material. *Int J Implant Dent*. 2020 Dec 1;6(1):80. doi: 10.1186/s40729-020-00279-7. PMID: 33258065; PMCID: PMC7704835.

El-Wassefy NAM, Özcan M, Abo El-Farag SA. Effect of Simultaneous Sintering of Bioglass to a Zirconia Core on Properties and Bond Strength. *Materials (Basel)*. 2021 Nov 23;14(23):7107. doi: 10.3390/ma14237107. PMID: 34885262; PMCID: PMC8658472.

Fang W, Zhao S, He F, Liu L, Yang G. Influence of simvastatin-loaded implants on osseointegration in an ovariectomized animal model. *Biomed Res Int*. 2015;2015:831504. doi: 10.1155/2015/831504. Epub 2015 Mar 29. PMID: 25893198; PMCID: PMC4393925.

Gabbai-Armelin PR, Caliarì HM, Silva DF, Cruz MA, Magri AMP, Fernandes K R, et al. Association of Bioglass/Collagen/Magnesium composites and low level irradiation: effects on bone healing in a model of tibial defect in rats. *Laser Ther*. 2018 Dec 31;27(4):271-282. doi: 10.5978/islsm.27_18-OR-25. PMID: 31182902; PMCID: PMC6513765.

Gautam C, Joyner J, Gautam A, Rao J, Vajtai R. Zirconia based dental ceramics: structure, mechanical properties, biocompatibility and applications. *Dalton Trans*. 2016 Dec 6;45(48):19194-19215. doi: 10.1039/c6dt03484e. PMID: 27892564.

Gouveia PF, Mesquita-Guimarães J, Galárraga-Vinueza ME, Souza JCM, Silva FS, Fredel MC, et al. In-vitro mechanical and biological evaluation of novel zirconia reinforced bioglass scaffolds for bone repair. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2021 Feb;114:104164. doi: 10.1016/j.jmbbm.2020.104164. Epub 2020 Nov 6. PMID: 33243695.

Gouveia, P, Schabbach LM, Souza B, Henriques JÁ, Labrincha JA, Silva FS, et al. New perspectives for recycling dental zirconia waste resulting from CAD/CAM manufacturing process. *J Cleaner Prod.* 2017; 152:454-63. doi: 10.1016/j.jclepro.2017.03.117.

Granito RN, Rennó AC, Ravagnani C, Bossini PS, Mochiuti D, Jorgetti V, et al. In vivo biological performance of a novel highly bioactive glass-ceramic (Biosilicate®): A biomechanical and histomorphometric study in rat tibial defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011 Apr;97(1):139-47. doi: 10.1002/jbm.b.31795. Epub 2011 Feb 2. PMID: 21290592.

Guess PC, Schultheis S, Bonfante EA, Coelho PG, Ferencz JL, Silva NR. All-ceramic systems: laboratory and clinical performance. *Dent Clin North Am.* 2011 Apr;55(2):333-52, ix. doi: 10.1016/j.cden.2011.01.005. Epub 2011 Mar 3. PMID: 21473997.

Gutierrez M, Lopes MA, Hussain NS, Cabral AT, Almeida L, Santos JD. Substitutos ósseos: conceitos gerais e estado atual. *Arq Med.* 2006;19 (4):153-62.

Havener MB, Brown LS, Darmoc MM, Owsiany RS, Clineff TD. Improvements in healing with a bioactive bone graft substitute in a canine metaphyseal defect. In 55th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. Feb 2009.

Hench LL. Bioceramics. *J Am Ceram Soc.* 1998;81(7):1705-28. doi:10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x

Hench LL, Wilson J. An Introduction to Bioceramics. 2 ed. London: World Scientific. 1999.

Hench L, Polak J, Xynos I, Buttery LD. Bioactive materials to control cell cycle. *Mat Res Innovat.* 2000;3;313-23. doi: 10.1007/s100190000055.

Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006 Nov;17(11):967-78. doi: 10.1007/s10856-006-0432-z. Epub 2006 Nov 22. PMID: 17122907.

Ioannou AL, Kotsakis GA, Kumar T, Hinrichs JE, Romanos G. Evaluation of the bone regeneration potential of bioactive glass in implant site development surgeries: a systematic review of the literature. *Clin Oral Investig.* 2015 Mar;19(2):181-91. doi: 10.1007/s00784-014-1376-1. Epub 2014 Dec 5. PMID: 25471690.

Jia Z, Zhang J, Jia C, Nie J, Chu K. Preparation and characterization of mechanical properties of carbon nanotube/45S5Bioglass composites for biologic applications. *Materials Science and Engineering A.* 2011;528(3):1553–1557. doi.org/10.1016/j.msea.2010.10.077.

Jones JR. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2015 Sep;23 Suppl:S53-82. doi: 10.1016/j.actbio.2015.07.019. PMID: 26235346.

Kaizer MR, Gierthmuehlen PC, Dos Santos MB, Cava SS, Zhang Y. Speed sintering translucent zirconia for chairside one-visit dental restorations: Optical, mechanical, and wear characteristics. *Ceram Int*. 2017 Oct 1;43(14):10999-11005. doi: 10.1016/j.ceramint.2017.05.141. Epub 2017 May 19. PMID: 29097830; PMCID: PMC5662116.

Kirsten A, Hausmann A, Weber M, Fischer J, Fischer H. Bioactive and thermally compatible glass coating on zirconia dental implants. *J Dent Res*. 2015 Feb;94(2):297-303. doi: 10.1177/0022034514559250. Epub 2014 Nov 24. PMID: 25421839; PMCID: PMC4438729.

Klokkevold PR, Han TJ. How do smoking, diabetes, and periodontitis affect outcomes of implant treatment? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22 Suppl:173-202. Erratum in: *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Jan-Feb;23(1):56. PMID: 18437796.

Kohal RJ, Schwindling FS, Bächle M, Spies BC. Peri-implant bone response to retrieved human zirconia oral implants after a 4-year loading period: A histologic and histomorphometric evaluation of 22 cases. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2016 Nov;104(8):1622-1631. doi: 10.1002/jbm.b.33512. Epub 2015 Aug 31. PMID: 26332678.

Kokubo T, Kushitani H, Sakka S, Kitsugi T, Yamamuro T. Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W. *J Biomed Mater Res*. 1990 Jun;24(6):721-34. doi: 10.1002/jbm.820240607. PMID: 2361964.

Kubasiewicz-Ross P, Hadzik J, Dominiak M. Osseointegration of zirconia implants with 3 varying surface textures and a titanium implant: A histological and micro-CT study. *Adv Clin Exp Med*. 2018 Sep;27(9):1173-1179. doi: 10.17219/acem/69246. PMID: 29912481.

Linkevicius T, Apse P. Influence of abutment material on stability of peri-implant tissues: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 May-Jun;23(3):449-56. PMID: 18700367.

Linkevicius T, Vaitelis J. The effect of zirconia or titanium as abutment material on soft peri-implant tissues: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res*. 2015 Sep;26 Suppl 11:139-47. doi: 10.1111/clr.12631. Epub 2015 Jun 13. PMID: 26073346.

Lisboa-Filho PN, Gomes-Ferreira PHS, Batista FRS, Momesso GAC, Faverani LP, Okamoto R. Bone repair with raloxifene and bioglass nanoceramic composite in animal experiment. *Connect Tissue Res*. 2018 Dec;59(sup1):97-101. doi: 10.1080/03008207.2018.1430143. PMID: 29745810.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265-75. PMID: 14907713.

Manicone PF, Rossi Iommetti P, Raffaelli L. An overview of zirconia ceramics: basic properties and clinical applications. *J Dent*. 2007 Nov;35(11):819-26. doi: 10.1016/j.jdent.2007.07.008. Epub 2007 Sep 6. PMID: 17825465.

Marin E, Horiguchi S, Zanooco M, Boschetto F, Rondinella A, Zhu W, et al. Bioglass functionalization of laser-patterned bioceramic surfaces and their enhanced bioactivity. *Heliyon*. 2018 Dec 8;4(12):e01016. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e01016. PMID: 30560211; PMCID: PMC6288463.

Minkiewicz-Zochniak A, Jarzynka S, Iwańska A, Strom K, Iwańczyk B, Bartel M, et al. Biofilm Formation on Dental Implant Biomaterials by *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Patients with Cystic Fibrosis. *Materials (Basel)*. 2021 Apr 17;14(8):2030. doi: 10.3390/ma14082030. PMID: 33920743; PMCID: PMC8073800.

Oh GJ, Yun KD, Lee KM, Lim HP, Park SW. Sintering behavior and mechanical properties of zirconia compacts fabricated by uniaxial press forming. *J Adv Prosthodont*. 2010 Sep;2(3):81-7. doi: 10.4047/jap.2010.2.3.81. Epub 2010 Sep 30. PMID: 21165274; PMCID: PMC2994699.

Özkurt Z, Kazazoğlu E. Zirconia dental implants: a literature review. *J Oral Implantol*. 2011 Jun;37(3):367-76. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-09-00079. Epub 2010 Jun 14. PMID: 20545529.

Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Br J Pharmacol*. 2020 Aug;177(16):3617-3624. doi: 10.1111/bph.15193. Epub 2020 Jul 14. PMID: 32662519; PMCID: PMC7393194.

Piconi C, Maccauro G. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. 1999 Jan;20(1):1-25. doi: 10.1016/s0142-9612(98)00010-6. PMID: 9916767.

Prado RF, Esteves GC, Santos ELS, Bueno DAG, Cairo CAA, Vasconcellos LGO, et al. In vitro and in vivo biological performance of porous Ti alloys prepared by powder metallurgy. *PLoS One*. 2018 May 17;13(5):e0196169. doi: 10.1371/journal.pone.0196169. PMID: 29771925; PMCID: PMC5957353.

Radice S, Kern P, Bürki G, Michler J, Textor M. Electrophoretic deposition of zirconia-Bioglass composite coatings for biomedical implants. *J Biomed Mater Res A*. 2007 Aug;82(2):436-44. doi: 10.1002/jbm.a.31162. PMID: 17295244.

Ramos NC, Kaizer MR, Campos TMB, Kim J, Zhang Y, Melo RM. Silica-Based Infiltrations for Enhanced Zirconia-Resin Interface Toughness. *J Dent Res*. 2019 Apr;98(4):423-429. doi: 10.1177/0022034518819477. Epub 2019 Feb 14. PMID: 30763138; PMCID: PMC6429668.

Rekow ED, Silva NR, Coelho PG, Zhang Y, Guess P, Thompson VP. Performance of dental ceramics: challenges for improvements. *J Dent Res*. 2011 Aug;90(8):937-52. doi: 10.1177/0022034510391795. Epub 2011 Jan 11. PMID: 21224408; PMCID: PMC3170166.

Rizwan M, Hamdi M, Basirun WJ. Bioglass® 45S5-based composites for bone tissue engineering and functional applications. *J Biomed Mater Res A*. 2017 Nov;105(11):3197-3223. doi: 10.1002/jbm.a.36156. Epub 2017 Aug 9. PMID: 28686004.

Roehling S, Astasov-Frauenhoffer M, Hauser-Gerspach I, Braissant O, Woelfler H, Waltimo T, et al. In Vitro Biofilm Formation on Titanium and Zirconia Implant Surfaces. *J Periodontol*. 2017 Mar;88(3):298-307. doi: 10.1902/jop.2016.160245. Epub 2016 Oct 7. PMID: 27712464.

Roy ME, Noel OF, Whiteside LA. Phase Transformation and Roughening in Artificially Aged and Retrieved Zirconia-Toughened Alumina Femoral Heads. *J Arthroplasty*. 2019 Apr;34(4):772-780. doi: 10.1016/j.arth.2018.12.025. Epub 2018 Dec 25. PMID: 30642707.

Sailer I, Zembic A, Jung RE, Hämmerle CH, Mattioli A. Single-tooth implant reconstructions: esthetic factors influencing the decision between titanium and zirconia abutments in anterior regions. *Eur J Esthet Dent*. 2007 Autumn;2(3):296-310. PMID: 19655552.

Scarano A, Di Carlo F, Quaranta M, Piattelli A. Bone response to zirconia ceramic implants: an experimental study in rabbits. *J Oral Implantol*. 2003;29(1):8-12. doi: 10.1563/1548-1336(2003)029<0008:BRTZCI>2.3.CO;2. PMID: 12614079.

Schriwer C, Skjold A, Gjerdet NR, Øilo M. Monolithic zirconia dental crowns. Internal fit, margin quality, fracture mode and load at fracture. *Dent Mater*. 2017 Sep;33(9):1012-1020. doi: 10.1016/j.dental.2017.06.009. Epub 2017 Jun 26. PMID: 28662859.

Schünemann FH, Galárraga-Vinueza ME, Magini R, Fredel M, Silva F, Souza JCM, et al. Zirconia surface modifications for implant dentistry. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019 May;98:1294-1305. doi: 10.1016/j.msec.2019.01.062. Epub 2019 Jan 16. PMID: 30813009; PMCID: PMC6402584.

Sharifi E, Ebrahimi-Barough S, Panahi M, Azami M, Ai A, Barabadi Z, et al. In vitro evaluation of human endometrial stem cell-derived osteoblast-like cells' behavior on gelatin/collagen/bioglass nanofibers' scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2016 Sep;104(9):2210-9. doi: 10.1002/jbm.a.35748. Epub 2016 May 5. PMID: 27087544.

Shin H, Jo S, Mikos AG. Biomimetic materials for tissue engineering. *Biomaterials*. 2003 Nov;24(24):4353-64. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00339-9. PMID: 12922148.

Sivaraman K, Chopra A, Narayan AI, Balakrishnan D. Is zirconia a viable alternative to titanium for oral implant? A critical review. *J Prosthodont Res*. 2018 Apr;62(2):121-133. doi: 10.1016/j.jpor.2017.07.003. Epub 2017 Aug 18. PMID: 28827030.

Vasconcellos L.M.R., de Oliveira M.V., de Alencastro Graca M.L., de Vasconcellos L.G.O., Carvalho Y.R., Cairo C.A.A. Porous titanium scaffolds produced by powder metallurgy for biomedical applications. *Materials Research*. 2008 Oct 11 (3): 275-280. doi.org/10.1590/S1516-14392008000300008.

Yan J, Kaizer MR, Zhang Y. Load-bearing capacity of lithium disilicate and ultra-translucent zirconias. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018 Dec;88:170-175. doi: 10.1016/j.jmbbm.2018.08.023. Epub 2018 Aug 21. PMID: 30173069; PMCID: PMC6179910.

Yin L, Nakanishi Y, Alao AR, Song XF, Abduo J, Zhang Y. A review of engineered zirconia surfaces in biomedical applications. *Procedia CIRP*. 2017;65:284-290. doi: 10.1016/j.procir.2017.04.057. Epub 2017 Jul 21. PMID: 29130030; PMCID: PMC5679078.

Yoshinari M. Future prospects of zirconia for oral implants -A review. *Dent Mater J*. 2020 Jan 31;39(1):37-45. doi: 10.4012/dmj.2019-151. Epub 2019 Oct 30. PMID: 31666487.

Zembic A, Sailer I, Jung RE, Hämmerle CH. Randomized-controlled clinical trial of customized zirconia and titanium implant abutments for single-tooth implants in canine and posterior regions: 3-year results. *Clin Oral Implants Res*. 2009 Aug;20(8):802-8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2009.01717.x. Epub 2009 May 26. PMID: 19486077.

Zhang Y, Chai H, Lee JJ, Lawn BR. Chipping resistance of graded zirconia ceramics for dental crowns. *J Dent Res*. 2012 Mar;91(3):311-5. doi: 10.1177/0022034511434356. Epub 2012 Jan 9. PMID: 22232142; PMCID: PMC3275336.

Zhang Y, Kelly JR. Dental Ceramics for Restoration and Metal Veneering. *Dent Clin North Am*. 2017 Oct;61(4):797-819. doi: 10.1016/j.cden.2017.06.005. PMID: 28886769; PMCID: PMC5657342.

Zhang Y, Kim JW. Graded structures for damage resistant and aesthetic all-ceramic restorations. *Dent Mater*. 2009 Jun;25(6):781-90. doi: 10.1016/j.dental.2009.01.002. Epub 2009 Feb 1. PMID: 19187955; PMCID: PMC2729131.

Zhang Y, Lawn BR. Novel Zirconia Materials in Dentistry. *J Dent Res*. 2018 Feb;97(2):140-147. doi: 10.1177/0022034517737483. Epub 2017 Oct 16. PMID: 29035694; PMCID: PMC5784474.

ANEXO A —Certificado do comitê de ética em pesquisa



CERTIFICADO
CEUA – Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICAMOS, que o protocolo registrado sob o nº 07/2021,

intitulado:- **AVALIAÇÃO DO EFEITO DO RECOBRIMENTO DO BIOVIDRO ASSOCIADO OU NÃO À PRATA NA SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DE ZIRCÔNIA: ESTUDO IN VIVO E IN VITRO**, sob a responsabilidade de **LUANA MAROTTA REIS DE VASCONCELLOS**, tendo como colaboradores alunas da Graduação Leonardo Alvares Sobral Silva e Sarah de Oliveira Marco Avelino, e que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009 e com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pela **COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS** (CEUA – ICT – CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS-UNESP), em reunião de 30/08/2021.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/09/2021 a 31/12/2022
Espécie/inagem/raça	Rato Wistar
Nº de Animais	39 (trinta e nove)
Procedimento	350 g / 90 dias
Sexo	Macho
Origem	Biotério Central – Campus de Botucatu-UNESP
Compromisso/Relatório(s)	Envio para a CEUA Parcial - 30/06/2022 Final - 31/01/2023

São José dos Campos, 30 de de 2021

Andrea Carvalho de Marco

Profa.Dra ANDREA CARVALHO DE MARCO
COORDENADORA/CEUA

Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Al. São Ottoni
CEP: 12240-970 – F: (12) 3947-9829 / 9676
Fax: (12) 3947-9826 e-mail: ceua@unesp.br, andrea.marco@unesp.br