

RESSALVA

Atendendo solicitação do autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/02/2027.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Karoline Bernardes do Nascimento

**Avaliação proteômica da osseointegração de implantes com superfície
hidrofílica em ratos com comprometimento sistêmico envolvendo a
diabetes e a nicotina**

**Araraquara
2024**



UNESP - Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Karoline Bernardes do Nascimento

Avaliação proteômica da osseointegração de implantes com superfície hidrofílica em ratos com comprometimento sistêmico envolvendo a diabetes e a nicotina

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia na área de concentração de Periodontia.

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio
Coorientadora: Dra. Camila Chierici Marcantonio

**Araraquara
2024**

N244a

Nascimento, Karoline Bernardes do

Avaliação proteômica da osseointegração de implantes com superfície hidrofílica em ratos com comprometimento sistêmico envolvendo a diabetes e a nicotina / Karoline Bernardes do Nascimento. -- Araraquara, 2024

216 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

Coorientadora: Camila Chierici Marcantonio

1. Diabetes Mellitus. 2. Nicotina. 3. Osseointegração. 4. Implantes Dentários. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Karoline Bernardes do Nascimento

Avaliação proteômica da osseointegração de implantes com superfície hidrofílica em ratos com comprometimento sistêmico envolvendo a diabetes e a nicotina

COMISSÃO JULGADORA

Presidente e Orientador: Prof^a. Dr^a. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio - FOAr/UNESP

2º Examinador (titular): Prof^a. Dr^a. Andreia Bufalino – FOAr/UNESP

3º Examinador (titular): Prof. Dr. Michel Reis Messoro –Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (Forp/USP)

4º Examinador (suplente): Prof^a. Dr^a. Déborah Laurindo Pereira Santos – UNINASSAU- Brasil

5º Examinador (suplente): Prof. Dr. José Maurício dos Santos Nunes Reis— FOAr-Unesp

Araraquara, 23 de fevereiro de 2024.

DADOS CURRICULARES

Karoline Bernardes do Nascimento

NASCIMENTO: 24/01/1999 – São José do Rio Pardo - São Paulo

FILIAÇÃO: Rafael Moussi Valentim do Nascimento

Aline de Andrade Bernardes Nascimento

2017 – 2022 Curso de Graduação em Odontologia

Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP

2022 – Atual Curso de Pós-graduação em Odontologia –

Área de Concentração: Periodontia

Nível: Mestrado

Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e ao meu irmão, que fizeram de tudo para que eu chegasse até aqui e por todo apoio na minha jornada. Por sempre estarem ao meu lado e me ajudarem com todos os recursos possíveis para que eu realizasse todos os meus sonhos e estarem presentes para me aconselhar em todos os momentos difíceis da vida.

Ao Rafael meu namorado que foi meu porto seguro e me ajudou de todas as formas possíveis, sem ele não conseguiria ter me mantido firme nessa jornada acadêmica. Por sempre estar ao meu lado em todos os momentos e por ser meu companheiro no dia a dia.

À minha orientadora Profa. Dra. Rosemary Adriana Chierici Marcantonio, a qual sempre tive e tenho muita admiração e por ser um exemplo tanto para minha vida profissional quanto para minha vida pessoal e por todas as oportunidades que me deu e por ser a pessoa que me ajudou a realizar meus sonhos

Aos meus amigos e orientados da Professora Adriana: Julio e Bruno que são mais do que meus amigos somente na pesquisa e são também meus amigos de vida e que sem eles nada disso seria possível. Sou muito grata por sempre me ajudarem e por todos os conhecimentos e histórias que compartilhamos.

A minha coorientadora Camila que é uma inspiração na minha vida e ser um exemplo que quero seguir na minha carreira. Por ser uma amiga e professora tão paciente e que compartilhei muitos momentos bons ao lado.

A Professora Morgana por toda ajuda e disponibilidade em auxiliar com os experimentos e por toda os conhecimentos compartilhados, este trabalho foi possível graças a sua colaboração e de sua aluna de doutorado Vitória Bonan que foi de extrema importância para execução dos experimentos e procedimentos laboratoriais.

Ao Prof. Fábio e Nina da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) que nos receberam em seu laboratório e nos disponibilizaram toda atenção, ajuda e oportunidade em aprender mais sobre a proteômica.

Aos funcionários da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr/Unesp), que com muito respeito e paciência me acolheram desde a minha graduação: seção de graduação, pós-graduação, seções administrativas, biblioteca, esterilização, limpeza, segurança e manutenção. Em especial à funcionária Suleima, que teve grande contribuição neste trabalho, por toda amizade e disposição em ajudar.

Aos professores que constituem o Programa de Pós-Graduação em Odontologia, dos quais eu pude obter grande aprendizado. Em especial, aos demais professores que compõem a disciplina de Periodontia, os quais sempre tive muito respeito e admiração.

Aos demais colegas de pós-graduação Gabriel Nogueira, Guilherme e Álvaro, os quais foram fundamentais durante este período de pós-graduação, tornando a convivência agradável, me auxiliando em tarefas decorrentes do mestrado e por estarem presentes quando precisei.

À toda minha família, a qual sempre esteve presente em minha vida me oferecendo auxílio, aconselhamento e acolhimento, e depositando em mim grande confiança.

À CAPES: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Agradeço ainda pelo financiamento processo 88887.676656/2022- 00.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2022/11630-4) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

“A única forma de alcançar o impossível é acreditar que é possível”
Lewis Carroll*

*Lewis C. Alice no país das maravilhas. London: Macmillan; 1865.

Nascimento KB. Avaliação proteômica da osseointegração de implantes com superfície hidrofílica em ratos com comprometimento sistêmico envolvendo a diabetes e nicotina [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

O uso de implantes para a substituição de dentes perdidos e para devolver qualidade de vida aos pacientes é cada vez mais comum no dia a dia clínico, logo para se obter sucesso nesse tratamento devemos considerar entre muitos outros fatores o processo de osseointegração dos implantes e a condição sistêmica dos pacientes. Estudos demonstram que a modificação da superfície do implante, quimicamente ou fisicamente, pode melhorar a osseointegração. Porém poucos estudos têm demonstrado em níveis moleculares como ocorre a osseointegração nas diferentes superfícies de implantes. A literatura tem indicado que pacientes fumantes e com diabetes podem ter alterações na cicatrização tecidual o que pode gerar problemas para reabilitação com implantes. Dessa forma o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da diabetes mellitus e da nicotina no perfil proteico do tecido ósseo ao redor de implantes hidrofílicos durante a osseointegração. As amostras previamente coletadas seguindo a metodologia descrita por Pinotti et al., 2022 e Pinotti et al., 2023 passaram por extração proteica, liofilização, digestão trípica, análise no espectrômetro de massas e análise bioinformática. As proteínas foram identificadas do banco de dados através do software Proteome Discoverer 2.1 utilizando o algoritmo SEQUEST contra uma base de dados de proteínas de *Rattus norvegicus* obtida do UniProt. Os resultados obtidos demonstraram uma correlação de 150 proteínas que foram observadas tanto no grupo nicotina, diabetes e controle. Destas proteínas foram selecionadas para este estudo as proteínas creatina kinase e Histone H4, levando em consideração elas apresentarem grande expressão no grupo controle com ou sem implante e pouca/nenhuma expressão nos grupos testes. Pode-se concluir que a nicotina e a diabetes mellitus alteraram o perfil proteico do tecido ósseo ao redor de implantes com superfície modificada por jateamento e ataque ácido e mantida em solução isotônica (Superfície Hidrofílica).

Palavras-Chave: Diabetes Mellitus. Nicotina. Osseointegração. Implantes dentários.

Nascimento KB. Proteomic evaluation of the osseointegration of implants with a hydrophilic surface in rats with systemic impairment involving diabetes and smoking [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

The use of implants to replace missing teeth and restore quality of life to patients is becoming increasingly common in everyday clinical practice, so in order to achieve success in this treatment we must consider, among many other factors, the process of osseointegration of the implants and the systemic condition of the patients. Studies have shown that modifying the implant surface, either chemically or physically, can improve osseointegration. However, few studies have shown at the molecular level how osseointegration occurs on different implant surfaces. The literature has indicated that smokers and patients with diabetes may have alterations in tissue healing, which can lead to problems with implant rehabilitation. The aim of this study was to evaluate the influence of diabetes mellitus and nicotine on the protein profile of bone tissue around hydrophilic implants during osseointegration. The samples previously collected following the methodology described by Pinotii et al., 2022 and Pinotti et al., 2023 underwent protein extraction, lyophilization, tryptic digestion, mass spectrometer analysis and bioinformatic analysis. The proteins will be identified from the database using the Proteome Discoverer 2.1 software using the SEQUEST algorithm against a database of *Rattus norvegicus* proteins obtained from UniProt. The results obtained showed a correlation of 150 proteins that were observed in both the nicotine, diabetes and control groups. Of these proteins, the creatine kinase and Histone H4 proteins were selected for this study, taking into account that they were highly expressed in the control group with or without implants and had little or no expression in the test groups. It can be concluded that nicotine and diabetes mellitus altered the protein profile of bone tissue around implants with a surface modified by blasting and acid etching and kept in an isotonic solution (Hydrophilic Surface).

Keywords: Diabetes Mellitus. Nicotine. Osseointegration. Dental implants.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 Objetivos Específicos.....	15
2.2 Hipóteses.....	15
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
3.1 Nicotina e Sua Relação com a Osseointegração de Implantes.....	16
3.2 Diabetes e Sua Relação com a Osseointegração de Implantes....	21
4 MATERIAL E MÉTODO	27
4.1 Extração Proteica.....	28
4.2 Liofilização.....	29
4.3 Digestão Triptica	30
4.4 Limpeza das Amostras e Análise no Espectrômetro de Massas	30
4.4.1 Preparo da coluna e limpeza das amostras	30
4.4.2 Quantificação dos pepídeos	31
4.5 Análise Bioinformática.....	32
5 RESULTADO	34
5.1 Análise Proteômica	34
5.2 Caracterização de Proteínas Diferencialmente Abundantes no Grupo Nicotina e Diabetes	34
5.3 Caracterização Biológica das Proteínas Diferencialmente Abundantes do Grupo Nicotina e Diabetes	35
6 DISCUSSÃO	191
7 CONCLUSÃO	195
REFERÊNCIAS	196
ANEXO A- PROTOCOLO CEUA	201
ANEXO B- METODOLOGIA	202

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, de acordo com dados da Pesquisa Nacional de Saúde realizada pelo IBGE de 2019, cerca de 8,9% da população brasileira são desdentados totais, sendo 49,2% das pessoas com mais de 60 anos edêntulos (já não possuem nenhum elemento dental na cavidade oral)¹. Visando a melhor qualidade de vida, a substituição dos dentes perdidos pode ser feita através da instalação de implantes osseointegrados, que apresentam uma alta taxa de sobrevida no tratamento de reabilitação oral². Além disso próteses fixas implanto suportadas podem ser consideradas uma solução para reabilitação de pacientes geriátricos por ser uma opção de tratamento previsível, com alta taxa de sobrevivência, que melhora a função mastigatória e estética desses indivíduos³.

A osseointegração é definida por Branemark como sendo o contato direto entre o osso vivo e a superfície do implante e é um processo indispensável para obter o sucesso no tratamento reabilitador com implantes dentais, e para que isso ocorra, durante os procedimentos clínicos devemos tomar alguns cuidados, tais como, remover o mínimo possível de osso remanescente e a topografia básica da região não deve ser alterada⁴. Além disso, alguns fatores como a técnica utilizada para instalação dos implantes, o tecido ósseo na região, a aptidão do operador, características das superfícies dos implantes e fatores intrínsecos ao paciente como, por exemplo, condições sistêmicas e hábitos que podem levar ao sucesso ou não da osseointegração do implante, como por exemplo a diabetes mellitus e o uso do tabaco estão relacionadas a alterações na osseointegração⁵.

A classificação atual das doenças periodontais e peri-implantares⁶ considera a diabetes mellitus e o fumo como condições sistêmicas que podem interferir negativamente na osseointegração. A diabetes mellitus afeta diretamente a qualidade de vida dos pacientes e sua saúde bucal, sendo uma das suas complicações a periodontite^{7,8}. A ação da diabetes mellitus está no aumento na resposta inflamatória, tendo assim um aumento de citocinas pró-inflamatórias⁹, pacientes com essa condição sistêmica e com periodontite possuem uma maior expressão de AGEs (do inglês, Advanced Glycation End-products) e dos seus respectivos receptores RAGEs (do inglês, receptor for advanced glycation end products)¹⁰ e essa expressão está associada a perda de osso alveolar¹¹.

De acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde) cerca de 8 milhões de

peças morrem todos os anos por fazer uso do tabaco, além de ser um fator de risco para diversas doenças respiratórias, cardíacas e pelo menos 20 tipos de câncer¹². O estudo de Ghanem et al. de 2017 demonstrou que o contato osso/implante de implantes colocados em animais que receberam nicotina comparados com animais saudáveis tiveram comprometimento da osseointegração dos implantes¹³.

Os implantes se diferenciam por suas características macroestruturais, microestruturais e nanoestruturais e podem variar de acordo com as especificações do fabricante. Quanto aos tratamentos de superfície a literatura traz que os processamentos divergem na metodologia como, por exemplo, métodos químicos (condicionamento ácido), eletroquímicos (oxidação anódica) e de deposição¹⁴. Apesar de apresentarem diferentes processamentos, os tratamentos superficiais buscam melhorar a osseointegração através da promoção de rugosidades que facilitam a deposição de matriz óssea quando comparamos com implantes usinados e nos métodos de deposição pode haver estímulo da osteogênese¹⁵⁻¹⁷.

As alterações químicas começaram a ser mais fortemente estudadas nos anos 1990s e estão ligadas ao aumento na bioatividade das superfícies, buscando maior rapidez no processo de cicatrização pós-implantação¹⁸. Dentre as diferentes superfícies como as usinadas, hidrofóbicas e hidrofílicas, pode-se destacar no tratamento das superfícies dos implantes osseointegráveis as superfícies hidrofílicas e hidrofóbicas¹⁹⁻²².

As superfícies hidrofóbicas se caracterizam por ter um aumento da adesividade celular, aumento de estruturas vasculares e migração de fibroblastos e células osteóides que formam uma camada inicial de matriz óssea na superfície do implante²³. Já as superfícies hidrofílicas apresentam um padrão de cicatrização óssea semelhante a superfície hidrofóbica²³, porém como vantagem está superfície apresenta uma melhora na aceleração da osseointegração^{17,22,24}. Estudo em humanos mostrou uma vantagem principalmente nos primeiros meses de cicatrização sendo que teve maior osseointegração quando comparada com a superfície hidrofóbica²³. Também há relatos na literatura que ocorre uma menor perda de osso marginal para implantes com superfície hidrofílica comparando com superfícies hidrofóbicas²⁵. Portanto, implantes com características superficiais hidrofóbicas e hidrofílicas têm sido cada vez mais estudados na literatura para alcançar melhores resultados na osseointegração^{17,22,20,21}. Sartoretto et al.²² (2015), em um estudo com tibia de coelhos observaram que os implantes com superfície

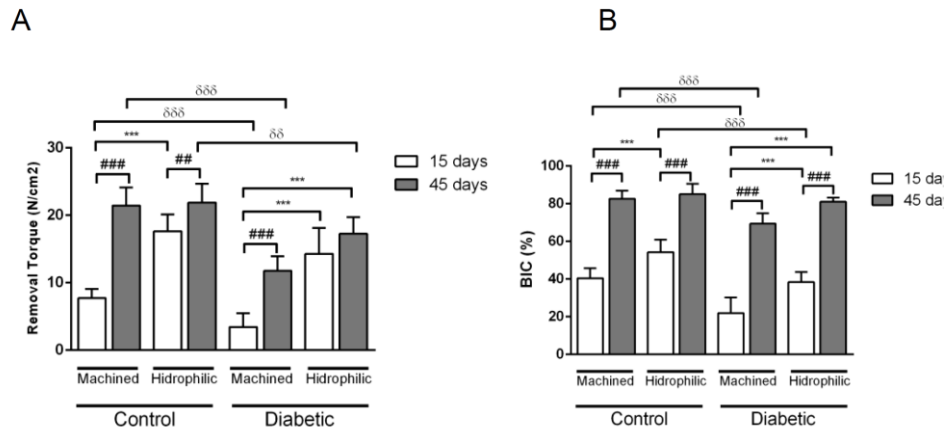
hidrofílica demonstraram uma maior rapidez na osseointegração e aumento na interface osso-implante em comparação aos implantes hidrofóbicos²².

O estudo de Pinotti et al.¹⁷ (2018), demonstrou que implantes hidrofílicos apresentam melhor padrão de osseointegração quando comparados com implantes usinados. Os resultados indicaram que a superfície hidrofílica possui uma melhora na osseointegração com maiores valores de contato osso implante aos 15 e 45 dias, de osso entre as roscas dos implantes aos 45 dias, e de expressão de BMP2 (45 dias) e ALP (15 dias). Estas proteínas estão diretamente ligadas a diferenciação de osteoblastos e formação de tecido ósseo^{26,27,28}. Quando comparado com implantes hidrofóbicos os implantes hidrofílicos demonstram ter uma vantagem na cicatrização principalmente nos primeiros meses de integração tecidual e o grau de osseointegração depois de 4 semanas é maior na superfície hidrofílica.²³ Dessa forma implantes hidrofílicos são indicados por demonstrarem aceleração na cicatrização e na osseointegração^{29,30}.

Os estudos de Pinotti et al.³¹ (2022) e Pinotti et al.³²(2023) avaliaram o efeito de uma superfície hidrofílica em comparação a uma superfície usinada sobre a osseointegração de implantes em animais diabéticos e que receberam administração de nicotina. Os resultados demonstraram que a superfície hidrofílica apresentou maiores torques de remoção, quantidade de osso ao redor dos implantes e maiores valores de %BIC e %BBT em animais normo e hiperglicêmicos. Os animais submetidos a administração de nicotina apresentaram melhores níveis de osseointegração quando os implantes utilizados apresentaram superfície hidrofílica do que superfície usinada. Os resultados levaram o autor a concluir que implantes com superfície hidrofílica aceleram a osseointegração em animais com comprometimento sistêmico^{31,32}. (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - A) Dados de média e desvio padrão da análise do torque de remoção (Ncm²) dos implantes lisos e hidrofílicos instalados no grupo diabético e controle. B) Dados de média e desvio padrão da análise de BIC (%) dos implantes lisos e hidrofílicos instalados no grupo diabético e controle

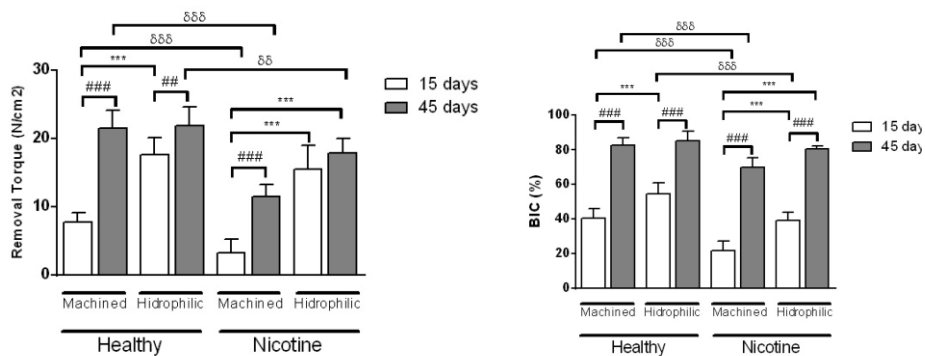
A B



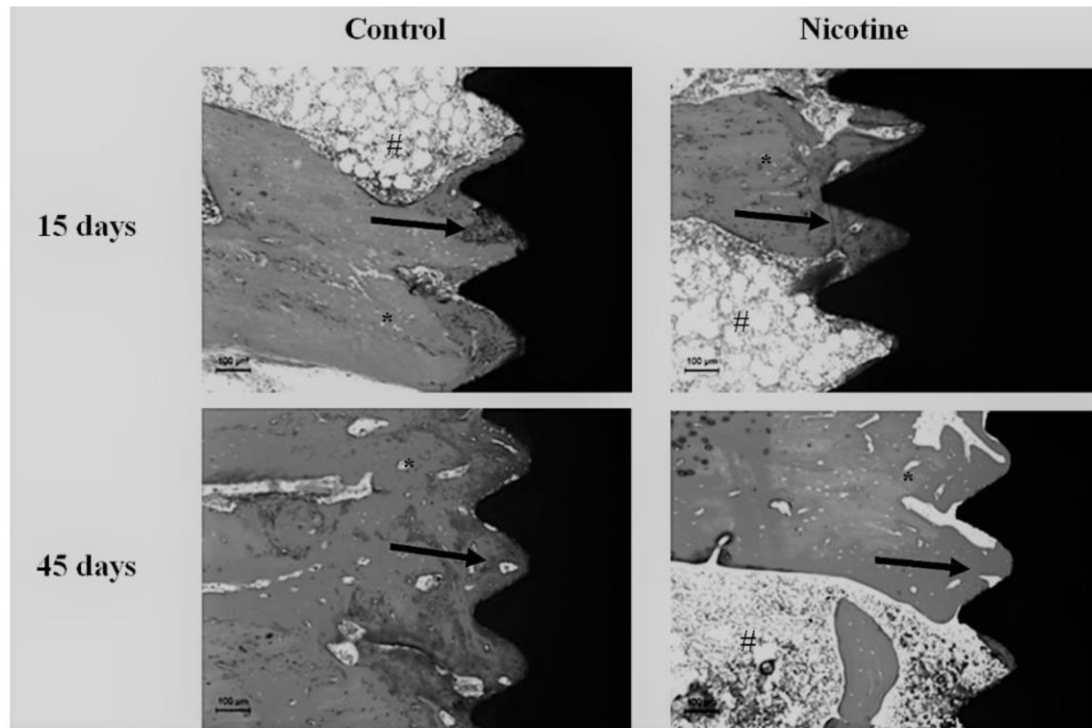
Fonte: Pinotti et al.³¹

Figura 2- A) Dados de média e desvio padrão da análise do torque de remoção (Ncm²) dos implantes lisos e hidrofílicos instalados no grupo nicotina e controle. B) Dados de média e desvio padrão da análise de BIC (%) dos implantes lisos e hidrofílicos instalados no grupo nicotina e controle C) Imagens representativas provenientes da análise histométrica dos cortes não descalcificados

A B



C



Fonte: Pinotti et al.^{32, p.109)}

Com objetivo de compreender os mecanismos celulares que interferem com a osseointegração dos implantes hidrofílicos em condições de diabetes mellitus e uso de nicotina, o objetivo proposto deste estudo será a realização de uma análise molecular mais específica para elucidar melhor os mecanismos envolvidos quanto às proteínas que participam do processo de osseointegração.

7 CONCLUSÃO

Ao analisar as proteínas creatina kinase e histone H4 e seu papel na osseointegração de implantes, pode-se concluir que nicotina e a diabetes mellitus alteraram o perfil proteico do tecido ósseo ao redor de implantes com superfície modificada por jateamento e ataque ácido e mantida em solução isotônica (Superfície Hidrofílica).

Referências*

1. Brasil. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Saúde. Brasília: 2021[acesso em 2024 de janeiro 8]. Disponível em: <https://www.pns.icict.fiocruz.br>.
2. Papaspyridakos P, Mokti M, Chen CJ, Benic GI, Gallucci GO, Chronopoulos V. Implant and prosthodontic survival rates with implant fixed complete dental prostheses in the edentulous mandible after at least 5 years: a systematic review. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014; 16(5): 705-17.
3. Tetè G, Polizzi E, D'orto B, Carinci G, Capparè P. How to consider implant-prosthetic rehabilitation in elderly patients: a narrative review. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2021; 35(4 Suppl. 1): 119-26.
4. Brånemark PI. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*. 1983; 50(3):399-410.
5. Pandey C, Rokaya D, Bhattarai BP. Contemporary concepts in osseointegration of dental implants: a review. *Biomed Res Int*. 2022; 2022: 6170452.
6. Albandar JM, Susin C, Hughes FJ. Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: case definitions and diagnostic considerations. *J Periodontol*. 2018; 89 Suppl 1: S183-S203.
7. Llambes F, Arias-Herrera S, Caffesse R. Relationship between diabetes and periodontal infection. *World J Diabetes*. 2015; 6(7): 927-35.
8. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease: a review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2014; 158(1): 35-8.
9. Taylor JJ, Preshaw PM, Lalla E. A review of the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Periodontol*. 2013; 84(4 Suppl.): S113 S134.
10. Lalla E, Papapanou PN. Diabetes mellitus and periodontitis: a tale of two common interrelated diseases. *Nat Rev Endocrinol*. 2011; 7: 738–48.
11. Lalla E, Lamster IB, Feit M, Huang L, Schmidt AM. A murine model of accelerated periodontal disease in diabetes. *J Periodontal Res*. 1998; 33: 387–99.
12. WHO. Tobacco, 2021 [acesso em 2022 março 22]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/tobacco#tab=tab_1.
13. Ghanem A, Abduljabbar T, Akram Z, Vohra F, Kellesarian SV, Javed F. A systematic review and meta-analysis of pre-clinical studies assessing the effect of nicotine on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2017; 46(4): 496-502.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

14. Pellegrini G, Francetti L, Barbaro B, Del Fabbro M. Novel surfaces and osseointegration in implant dentistry. *J Investig Clin Dent*. 2018; 9(4): e12349.
15. Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH, Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants: a histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res*. 1991; 25(7): 889-902.
16. Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, Higginbottom FL, Buser D. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res*. 1998; 40(1): 1-11.
17. Pinotti FE, de Oliveira GJPL, Aroni MAT, Marcantonio RAC, Marcantonio Jr E. Analysis of osseointegration of implants with hydrophilic surfaces in grafted areas: a Preclinical study. *Clin Oral Implants Res*. 2018; 29(10): 963-72.
18. Albrektsson T, Wennerberg A. On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2019; 21 Suppl 1: 4-7.
19. Bosshardt DD, Chappuis V, Buser D. Osseointegration of titanium, titanium alloy and zirconia dental implants: current knowledge and open questions. *Periodontology 2000*. 2017; 73(1): 22-40.
20. Buser D, Broggini N, Wieland M. Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J Dent Res*. 2004; 83(7): 529-33.
21. Hinkle RM, Rimer SR, Morgan MH. Loading of titanium implants with hydrophilic endosteal surface 3 weeks after insertion: clinical and radiological outcome of a 12-month prospective clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014; 72(8): 1495-502.
22. Sartoretto SC, Alves AT, Resende RF, Calasans-Maia J, Granjeiro JM, Calasans-Maia MD. Early osseointegration driven by the surface chemistry and wettability of dental implants. *J Appl Oral Sci*. 2015; 23(3): 279-87.
23. Lang NP, Salvi GE, Huynh-Ba G, Ivanovski S, Donos N, Bosshardt DD. Early osseointegration to hydrophilic and hydrophobic implant surfaces in humans. *Clin Oral Implants Res*. 2011; 22(4): 349-56.
24. Almassri HNS, Ma Y, Dan Z, Ting Z, Cheng Y, Wu X. Implant stability and survival rates of a hydrophilic versus a conventional sandblasted, acid-etched implant surface: systematic review and meta-analysis. *J Am Dent Assoc*. 2020; 151(6): 444-53.
25. Sener-Yamaner ID, Yamaner G, Sertgoz A, Canakci CF, Ozcan M. Marginal bone loss around early-loaded SLA and SLActive implants: radiological follow-up evaluation up to 6.5 years. *Implant Dent*. 2017; 26(4): 592-9.
26. Cheng H, Jiang W, Phillips FM, Haydon RC, Peng Y, Zhou L et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85(8): 1544-52.
27. Fahmy-Garcia S, van Driel M, Witte-Buoma J, Walles H, van Farrell E. Nell-1, HMGB1 and CCN2 enhance migration and vasculogenesis, but not osteogenic differentiation compared to BMP2. *Tissue Eng Part A*. 2017; 24(3-4): 207-18.

28. Mansell JP, Shiel AI, Harwood, C, Stephens D. Alkaline phosphatase binds tenaciously to titanium; implications for biological surface evaluation following bone implant retrieval. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017; 76: 472–76.
29. Rupp F, Axmann D, Jacobi A, Groten M, Geis-Gerstorfer J. Hydrophilicity of elastomeric non-aqueous impression materials during setting. *Dent Mater*. 2005; 21(2): 94-102.
30. Araújo-Gomes N, Romero-Gavilán F, García-Arnáez I, Martínez-Ramos C, Sánchez-Pérez AM, Azkargorta M et al. Osseointegration mechanisms: a proteomic approach. *J Biol Inorg Chem*. 2018; 23(3): 459-70.
31. Pinotti FE, Aron MAT, Oliveira GJPL, Marcantonio Junior E, Marcantonio RAC. Implants with hydrophilic surfaces equalize the osseointegration of implants in normo- and hyperglycaemic rats. *Braz Dent J*. 2022; 33(6): 71-77.
32. Pinotti FE, Aroni MAT, Oliveira GJPL, Silva BLG, Marcantonio Junior E, Marcantonio RAC. Osseointegration of implants with superhydrophilic surfaces in rats with high serum levels of nicotine. *Braz Dent J*. 2023; 34(2): 105-12.
33. Stefani CM, Nogueira F, Sallum EA, de TS, Sallum AW, Nociti FH Jr. Influence of nicotine administration on different implant surfaces: a histometric study in rabbits. *J Periodontol*. 2002; 73(2): 206-12.
34. Cesar-Neto JB, Duarte PM, Sallum EA, Barbieri D, Moreno H, Nociti FH. A comparative study on the effect of nicotine administration and cigarette smoke inhalation on bone healing around titanium implants. *J Periodontol*. 2003;74: 1454–459.
35. Balatsouka D, Gotfredsen K, Lindh CH, Berglundh T. The impact of nicotine on osseointegration. An experimental study in the femur and tibia of rabbits. *Clin Oral Implants Res*. 2005; 16(4): 389-95.
36. Balatsouka D, Gotfredsen K, Lindh CH, Berglundh T. The impact of nicotine on bone healing and osseointegration. *Clin Oral Implants Res*. 2005; 16(3): 268-76.
37. Gotfredsen K, Lindh CH, Berglundh T. Does longstanding nicotine exposure impair bone healing and osseointegration? An experimental study in rabbits. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 91(2): 918-23.
38. Yamano S, Berley JA, Kuo WP, Gallucci GO, Weber HP, Sukotjo C. Effects of nicotine on gene expression and osseointegration in rats. *Clin Oral Implants Res*. 2010; 21(12): 1353-9.
39. Berley J, Yamano S, Sukotjo C. The effect of systemic nicotine on osseointegration of titanium implants in the rat femur. *J Oral Implantol*. 2010; 36(3): 185-93.
40. Ghanem A, Abduljabbar T, Akram Z, Vohra F, Kellesarian SV, Javed F. A systematic review and meta-analysis of pre-clinical studies assessing the effect of nicotine on osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2017; 46(4): 496-502.
41. Linden MSS, Bittencourt ME, Carli JP, Miyagaki DC, Santos PLD, Paranhos LR et al. The effects of subcutaneous injection of nicotine on osseointegration of machined and anodized implants in rabbits. *Acta Cir Bras*. 2018; 33(1): 31-9.

42. Zhao X, Zhu B, Duan Y, Wang X, Li D. The effect of smoking behavior on alveolar bone marrow mesenchymal stem cells of clinical implant patient. *Biomed Res Int*. 2018; 21: 7672695.
43. Javed F, Rahman I, Romanos GE. Tobacco-product usage as a risk factor for dental implants. *Periodontol 2000*. 2019; 81(1): 48-56.
44. de Almeida JM, Ervolino E, Gusman DJR, Fiorin LG, Alves BES, Guastaldi FPS et al. Antineoplastic agents aggravate the damages caused by nicotine on the peri-implant bone: an in vivo histomorphometric and immunohistochemical study in rats. *Clin Oral Investig*. 2022; 26(2): 1477-89.
45. Takeshita F, Murai K, Iyama S, Ayukawa Y, Suetsugu T. Uncontrolled diabetes hinders bone formation around titanium implants in rat tibiae. A light and fluorescence microscopy, and image processing study. *J Periodontol*. 1998; 69(3): 314-20.
46. Margonar R, Sakakura CE, Holzhausen M, Pepato MT, Alba JR, Marcantonio JE. The influence of diabetes mellitus and insulin therapy on biomechanical retention around dental implants: a study in rabbits. *Implant Dent*. 2003;12(4): 333-9.
47. Kotsovilis S, Karoussis IK, Fourmoussis I. A comprehensive and critical review of dental implant placement in diabetic animals and patients. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17(5): 587-99.
48. Javed F, Romanos GE. Impact of diabetes mellitus and glycemic control on the osseointegration of dental implants: a systematic literature review. *J Periodontol*. 2009; 80(11): 1719-30.
49. de Molon RS, Morais-Camilo JA, Verzola MH, Faeda RS, Pepato MT, Marcantonio E Jr. Impact of diabetes mellitus and metabolic control on bone healing around osseointegrated implants: removal torque and histomorphometric analysis in rats. *Clin Oral Implants Res*. 2013; 24(7): 831-7.
50. Nemţoi A, Trandafir V, Paşca AS, Şindilar EV, Drăgan E, Odri GA et al. Osseointegration of chemically modified sandblasted and acid-etched titanium implant surface in diabetic rats: a histological and scanning electron microscopy study. *Rom J Morphol Embryol*. 2017;58(3): 881-6.
51. Souza ACR, Tedesco BAN, Lourenção PLTA, Terra SA, Araújo CDRP, Spadella CT et al. Ultrastructural analysis of bone formation around dental implants in nondiabetic rats, severe diabetics not controlled and controlled with insulin. *Acta Cir Bras*. 2020; 18; 35(11): e351101.
52. Schuster AJ, de Abreu JLB, Pola NM, Witek L, Coelho PG, Faot F. Histomorphometric analysis of implant osseointegration using hydrophilic implants in diabetic rats. *Clin Oral Investig*. 2021; 25(10): 5867-78.
53. Xiao L, Zhou YJ, Jiang YB, Tam MS, Cheang LH, Wang HJ et al. Effect of diabetes mellitus on implant osseointegration of titanium screws: an animal experimental study. *Orthop Surg*. 2022; 14(6): 1217-28.
54. Saito N, Mikami R, Mizutani K, Takeda K, Kominato H, Kido D et al. Impaired dental implant osseointegration in rat with streptozotocin-induced diabetes. *J Periodontal Res*. 2022; 57(2): 412-24.

55. Jiang X, Ye M, Jiang X, Liu G, Feng S, Cui L et al. Method development of efficient protein extraction in bone tissue for proteome analysis. *J Proteome Res.* 2007; 6(6): 2287-94.
56. Junqueira M, Carvalho PC. Tools and challenges for diversity-driven proteomics in Brazil. *Proteomics.* 2012; 12(17): 2601-6.
57. Matsuura K, Otani M, Takano M, Kadoyama K, Matsuyama S. The influence of chronic nicotine treatment on proteins expressed in the mouse hippocampus and cortex. *Eur J Pharmacol.* 2016; 780: 16-25.
58. Michael OS, Dibia CL, Soetan OA, Adeyanju OA, Oyewole AL, Badmus OO et al. Sodium acetate prevents nicotine-induced cardiorenal dysmetabolism through uric acid/creatine kinase-dependent pathway. *Life Sci.* 2020; 257: 118127.
59. Bab I, Gazit D, Chorev M, Muhlrud A, Shteyer A, Greenberg Z et al. Histone H4-related osteogenic growth peptide (OGP): a novel circulating stimulator of osteoblastic activity. *EMBO J.* 1992; 11(5): 1867-73.
60. Bighetti-Trevisan RL, Almeida LO, Castro-Raucci LMS, Gordon JAR, Tye CE, Stein GS et al. Titanium with nanotopography attenuates the osteoclast-induced disruption of osteoblast differentiation by regulating histone methylation. *Biomater Adv.* 2022; 134: 112548.
61. Chang EJ, Ha J, Oerlemans F, Lee YJ, Lee SW, Ryu J et al. Brain-type creatine kinase has a crucial role in osteoclast-mediated bone resorption. *Nat Med.* 2008; 14(9): 966-72.
62. Chen J, Sun Y, Mao X, Liu Q, Wu H, Chen Y. RANKL up-regulates brain-type creatine kinase via poly (ADP-ribose) polymerase-1 during osteoclastogenesis. *J Biol Chem.* 2010 Nov 19; 285(47): 36315-21
63. Jevrić-Causević A, Malenica M, Đujić T. Creatine kinase activity in patients with diabetes mellitus type I and type II. *Bosn J Basic Med Sci.* 2006; 6(3): 5-9.
64. Adithya SP, Balagangadharan K, Selvamurugan N. Epigenetic modifications of histones during osteoblast differentiation. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech.* 2022; 1865(1): 194780.
65. Mourão CF, Shibli JA. What is the impact of e-cigarettes on periodontal stem cells as revealed by transcriptomic analyses? *Evid Based Dent.* 2023; 24(4): 168-9.
66. Li D, Zhang L, He Y, Zhou T, Cheng X, Huang W et al. Novel histone post-translational modifications in diabetes and complications of diabetes: The underlying mechanisms and implications. *Biomed Pharmacother.* 2022; 156: 113984.
67. Mir AR, Habib S, Uddin M. Recent advances in histone glycation: emerging role in diabetes and cancer. *Glycobiology.* 2021; 31(9): 1072-79.