

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 11/02/2023.



ANA CLÁUDIA ERVOLINO DA SILVA

**Avaliação do reparo ósseo após a instalação de implantes
funcionalizados com medicação anabólica associada à
administração sistêmica de antireabsortivo em ratas com
deficiência de estrógeno e síndrome metabólica**

ANA CLÁUDIA ERVOLINO DA SILVA

**Avaliação do reparo ósseo após a instalação de implantes
funcionalizados com medicação anabólica associada à
administração sistêmica de antireabsortivo em ratas com
deficiência de estrógeno e síndrome metabólica**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Implantodontia.

Orientadora: Prof^a Assoc. Roberta Okamoto

Coorientadora: Prof^a Assoc. Luana Marotta Reis Vasconcellos

Araçatuba

2021

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Silva, Ana Cláudia Ervolino da.
S586a Avaliação do reparo ósseo após a instalação de implantes funcionalizados com medicação anabólica associada à administração sistêmica de antireabsortivo em ratas com deficiência de estrógeno e síndrome metabólica / Ana Cláudia Ervolino da Silva. – Araçatuba, 2021
57 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Roberta Okamoto
Coorientadora: Profa. Luana Marotta Reis Vasconcellos

1. Osteoporose 2. Teriparatida 3. Ácido risedrônico
4. Implantes dentários I. T.

Black D7
CDD 617.64

Dedicatória

À minha mãe Edna e meu pai José Maria

Mãe, você é minha melhor amiga e maior fonte de inspiração. Com seu amor e dedicação, sempre me ajudou e me incentivou a perseguir os meus sonhos. Sempre acreditou no meu potencial, por muitas vezes mais do que eu mesma acreditava. Dedico a você tudo o que sou hoje e o que conquistei. Muito obrigado por sempre me apoiar e ser um porto seguro na minha vida. Saiba que amo você e me orgulho em ser tua filha.

Ao meu pai que sempre se esforçou para me dar o melhor. Sei que muitas vezes você e minha mãe deixaram suas necessidades de lado para dar prioridade às minhas e dos meus irmãos. Não tenho palavras suficientes para expressar minha gratidão por tudo o que fez e faz na minha vida. Espero um dia poder retribuir toda a sua dedicação e apoio. Sem vocês eu jamais chegaria até aqui.

Aos meus irmãos Paula e Rafael

Pela cumplicidade, apoio e companheirismo por toda a minha trajetória, pela proteção e cuidado que tiveram comigo. Eu sempre estarei aqui para o que precisarem. Obrigado por tornar mais fácil e feliz minha passagem por esta vida. Amo vocês.

Agradecimentos
especiais

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus

Agradeço por ter permitido que tudo isso acontecesse e por ter iluminado meu caminho durante esta jornada. Pela força, sabedoria e discernimento dados a mim, principalmente nos momentos mais difíceis. Agradeço também por ter colocado no meu caminho tantas pessoas que me ajudaram nessa caminhada.

À querida professora, orientadora e amiga, Professora Assoc. Roberta Okamoto

Sou profundamente grata pela oportunidade de poder realizar o mestrado com a sua orientação, que me norteou em todas as situações de dificuldade encontradas pelo caminho, sempre me dando apoio, com muita dedicação e paciência. A sua competência, e a forma como a senhora trabalha é um modelo de inspiração para mim. Sempre vou aprender com a senhora, me tornando a cada dia uma pessoa melhor.

Ao Professor Ass. Dr. Francisley Ávila Souza.

Tenho imensa admiração pelo senhor e pelo seu trabalho. Agradeço pelo auxílio, disponibilidade e ensinamentos compartilhados. Agradeço pela amizade e fácil convívio com o senhor, o qual faz as coisas serem muito mais agradáveis.

À Professora Dra. Thallita Pereira Queiroz.

Agradeço o aceite ao convite de participação como banca avaliadora deste trabalho. Sou uma admiradora do seu trabalho e agradeço por poder contar com as suas contribuições na avaliação deste estudo.

À Professora Assoc. Luana Marotta Reis Vasconcellos.

Agradeço pela coorientação e contribuição valiosa neste estudo. Sua disponibilidade e auxílio foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço pela oportunidade de poder acompanhar um pouco do seu admirável trabalho.

Aos professores da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Agradeço por todos os momentos de conhecimento que foram compartilhados durante o meu mestrado. Vocês têm a minha admiração.

Ao meu namorado Cássio

Pelo companheirismo e cumplicidade em tudo o que faço, pelo amor e amizade e por estar ao meu lado em todos os momentos. O seu apoio e incentivo foram essenciais

durante essa etapa. Muito obrigada por compartilhar sua vida e seus sonhos comigo. Te amo e te admiro muito.

À minha cunhada e amiga Letícia Pitol Palin

Que sempre esteve ao meu lado desde a graduação e iniciação científica. Agradeço por tornar a experiência do mestrado mais fácil e divertida com a sua amizade e apoio. Obrigada pelo auxílio que sempre pude contar nos momentos de dificuldade, e saiba que você pode contar com a minha amizade sempre.

Aos professores da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial e Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Agradeço por todos os momentos de conhecimento que foram compartilhados durante o meu mestrado. Vocês têm a minha admiração.

Aos amigos do Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Pelos momentos de aprendizado durante todo o meu mestrado, e pela amizade que construímos. Agradeço pela disponibilidade, auxílio e boa vontade de cada um de vocês, que tornaram todo o trabalho mais agradável.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, na pessoa do diretor da **Faculdade de Odontologia de Araçatuba Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara** e do vice-diretor **Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem**

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” na pessoa do **Prof. Assoc. André Luís Fraga Briso.**

Aos funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP pela disponibilidade e paciência em todas as etapas do mestrado. Pelo trabalho honesto e sempre ágil.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pela prontidão em nos atender e carinho.

Ao Departamento de Ciências Básicas, pelo acolhimento e por viabilizar a execução de todas as etapas deste estudo.

Aos colegas do programa de pós graduação em Odontologia, das áreas de Implantodontia; Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial; Prótese; Periodontia; Ortodontia; Clínica Integrada; Dentística; Estomatologia e Odontopediatria. Meu muito obrigada.

À Medens, pelo fornecimento dos discos de titânio e implantes osseointegráveis utilizados neste estudo.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

À FAPESP, processo nº 2019/09946-0 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

*“Um dia , quando olhares para trás, verás que os dias mais belos foram
aqueles em que lutaste.”*

Sigmund Freud

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar a ação da associação de medicação sistêmica (bifosfonato oral) e teriparatida como medicação local funcionalizando as superfícies dos implantes. Para a realização deste projeto, o mesmo foi dividido em 2 etapas. A primeira etapa consistiu na determinação do melhor protocolo para a funcionalização de implantes com teriparatida, a partir da técnica layer by layer. Ainda nesta etapa, foram realizados testes físicos e in vitro (culturas de células) a fim de avaliar as propriedades da superfície funcionalizada, quanto à melhora nas respostas osteogênicas. A segunda etapa consistiu na realização de experimentos in vivo para avaliar o efeito desta superfície funcionalizada durante o reparo periimplantar. Para isso, 96 ratas Wistar, adultas jovens foram divididas em seis grandes grupos: 1. Grupo SHAM (n=16), no qual os animais foram submetidos à ovariectomia fictícia e dieta balanceada. 2. Grupo SHAM/SM (n=16), no qual os animais receberam dieta de cafeteria. 3. Grupo OVX (n=16), no qual os animais foram submetidos a cirurgia de ovariectomia e não receberam tratamento medicamentoso. 4. Grupo OVX/SM (n=16), no qual os animais foram submetidos à cirurgia ovariectomia e receberam dieta de cafeteria. 5. Grupo OVX/RIS (n=16), no qual os animais foram submetidos à cirurgia de ovariectomia e tratados com risedronato de sódio. 6. Grupo OVX/SM/RIS (n=16), no qual os animais foram submetidos à cirurgia de ovariectomia e à dieta de cafeteria associada ao tratamento medicamentoso com risedronato de sódio. Em cada grande grupo há dois subgrupos: A- implantes convencionais e B- implantes funcionalizados com teriparatida. No dia 0 foi realizada a ovariectomia ou cirurgia fictícia. Passados 30 dias foi iniciado o tratamento medicamentoso com risedronato de sódio. Após 30 dias do início do tratamento medicamentoso, os animais foram submetidos à exodontia do primeiro molar superior direito, em seguida receberam os implantes na região onde foi realizada a exodontia. Aos 28 dias após a instalação dos implantes, os animais foram submetidos à eutanásia para mensuração do torque de remoção. Os dados foram submetidos ao teste de homocedasticidade (Shapiro Wilk). Houve a confirmação de distribuição normal dos dados amostrais e na sequência, foi realizado o teste paramétrico ANOVA One Way, seguido do pós teste de Tukey, com o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os implantes funcionalizados apresentaram os maiores valores de torque de remoção em todos os grupos experimentais. A associação sistêmica entre o risedronato de sódio e teriparatida de forma tópica fez com que o grupo

OVX/SM/RIS teriparatida obtivesse o maior torque de remoção quando comparado aos demais grupos. Com isso, conclui-se que o desempenho clínico dos implantes funcionalizados com teriparatida foi favorável, no entanto, quando associado à administração sistêmica de risedronato de sódio, os resultados se tornam mais promissores.

Palavras-chave: Osteoporose. Teriparatida. Ácido risedrônico. Implantes dentários.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the action of the association of systemic medication (oral biphosphonate) and teriparatide as local medication functionalized to the surfaces of implants. For the execution of this project, it was divided in 2 stages. The first stage consisted in determining the best protocol for the functionalization of implants with teriparatide, based on the layer by layer technique. Still in this stage, physical and in vitro tests (cell cultures) were performed in order to evaluate the properties of the functionalized surface, regarding the improvement in osteogenic responses. The second stage consisted in conducting in vivo experiments to evaluate the effect of this surface functionalized during the peri-implant repair. For this, 96 Wistar rats, young adults were divided into six large groups: 1. SHAM Group (n=16), where the animals underwent sham surgery and balanced diet. 2. SHAM/SM Group (n=16), in which the animals received a cafeteria diet. 3) Group OVX (n=16), in which the animals underwent ovariectomy without drug treatment. 4. Group OVX/SM (n=16), in which the animals underwent ovariectomy and received a cafeteria diet. 5. Group OVX/SM/RIS (n=16), in which the animals underwent ovariectomy surgery and cafeteria diet associated with drug treatment with sodium risedronate. 6. Group OVX/RIS (n=16), in which the animals underwent ovariectomy and were treated with sodium risedronate. In each large group there are two subgroups: A- conventional implants and B- implants functionalized with teriparatide. After 30 days of beginning the drug treatment, the animals were submitted to bilateral first molar exodontia, then received the implants in the region where the exodontia was performed. At 28 days after installation of the implants, the animals were euthanized to measure the removal torque. The data were submitted to the homoscedasticity test (Shapiro Wilk). There was confirmation of normal distribution of the sample data and in the sequence, the parametric test ANOVA One Way was performed, followed by Tukey's post-test, with the significance level of 5% ($p < 0.05$). The functionalized implants had the highest removal torque values in all experimental groups. The systemic association between sodium risedronate and teriparatide topically resulted in the OVX/SM/RIS teriparatide group obtaining the highest removal torque when compared to the other groups. Thus, it is concluded that the clinical performance of implants functionalized with teriparatida was favorable, however, when associated with systemic administration of sodium risedronate, the results become more promising.

Keywords: Osteoporosis. Teriparatide. Risedronic acid. Dental implants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tempos experimentais do grupo SHAM referentes à avaliação periimplantar.	29
Figura 2 - Tempos experimentais do grupo SHAM/SM referentes à avaliação periimplantar.	30
Figura 3 - Tempos experimentais do grupo OVX referentes à avaliação periimplantar.	30
Figura 4 - Tempos experimentais do grupo OVX/SM referentes à avaliação periimplantar.	30
Figura 5 - Tempos experimentais do grupo OVX/RIS referentes à avaliação periimplantar.	31
Figura 6 - Tempos experimentais do grupo OVX/SM/RIS referentes à avaliação periimplantar.	31
Figura 7 - Técnica cirúrgica para remoção bilateral dos ovários.	34
Figura 8 - Técnica cirúrgica para exodontia do primeiro molar superior direito dos animais experimentais.	35
Figura 9 - Imagem representativa das dimensões do implante instalado nas maxilas dos animais (1.4mmX2.7mm)	36
Figura 10 - Técnica para instalação de implante na região do primeiro molar superior dos animais experimentais.	37
Figura 11 - Gráfico referente à média dos resultados de viabilidade celular ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey)	39
Figura 12 - Gráfico referente à média dos resultados de formação de nódulos de mineralização frente à presença de teriparatida ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey)	40
Figura 13 - Gráfico referente à média dos resultados de genotoxicidade frente à presença de teriparatida ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey)	41
Figura 14 - Gráfico referente à média das medidas de peso (g) de todos os grupos experimentais. Interação entre condição sistêmica e tempo está representada por letras maiúsculas. Interação entre condições sistêmicas está representada por letras minúsculas. ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey)	42

Figura 15 - Gráfico referente à média das medidas de glicemia (mg/dl) de todos os grupos experimentais. Interação entre condição sistêmica e tempo está representada por letras maiúsculas. Interação entre condições sistêmicas está representada por letras minúsculas. ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey). 43

Figura 16 - Gráfico referente à média do Índice de Lee de todos os grupos experimentais. Interação entre condição sistêmica e tempo está representada por letras maiúsculas. Interação entre condições sistêmicas está representada por letras minúsculas. ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey). 44

Figura 17 - Avaliação biomecânica do torque de remoção dos grupos experimentais: SHAM, SHAM/SM, OVX, OVX/SM, OVX/RIS e OVX/SM/RIS. Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística ($p < 0,05$, ANOVA e pós teste de Tukey) 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos grupos experimentais referente à avaliação periimplantar 29

Tabela 2 - Quantidade diária de dieta de cafeteria 33

LISTA DE SIGLAS

BMU - Unidade básica multicelular

E2 - Estradiol

FDA - Food and drug administration

HDL - Lipoproteína de alta densidade

IL-1 - Interleucina 1

IL-6 - Interleucina 6

MSCF – Fator estimulador de colônias de macrófagos

OPG - Osteoprotegerina

PTH – Paratormônio

RANK - Receptor ativador do fator nuclear kappa B

RANKL - Ligante do recetor ativador do fator nuclear kappa B

SERMS – Modulador seletivo de receptor de estrógeno

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1 MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 FASE 1 – FUNCIONALIZAÇÃO DA SUPERFÍCIE DOS IMPLANTES E SUA CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA E BIOLÓGICA.....	25
2.1.1 Tratamento medicamentoso na superfície dos implantes.....	25
2.2 Experimentos de cultura de células, para validação biológica das superfícies a serem estudadas.....	26
2.2.1 Cultura de células mesenquimais e análise da diferenciação celular	26
2.2.2 Determinação da viabilidade celular	27
2.2.3 Análise da formação de nódulos de mineralização	27
2.2.4 Teste de micronúcleos	27
2.2 FASE 2 – EXPERIMENTOS IN VIVO COM O MODELO EXPERIMENTAL PROPOSTO.....	28
2.2.1 Delineamento experimental.....	28
2.2.2 Animais.....	32
2.2.3 Ciclo Estral	32
2.2.4 Síndrome metabólica – dieta de cafeteria.....	33
2.2.5 Ovariectomia	33
2.2.6 Técnica para extração dental	34
2.2.7 Cirurgia para instalação dos implantes osseointegráveis na maxila.....	35
2.2.8 Tratamento medicamentoso sistêmico com risedronato de sódio	37
2.2.9 Análise biomecânica – torque de remoção	37
2.2.10 Análise Estatística	38
3 RESULTADOS.....	39
3.1 DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR	39
3.2 ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE NÓDULOS DE MINERALIZAÇÃO	39
3.3 TESTE DE MICRONÚCLEOS.....	40
3.4 DADOS CLÍNICOS	41
3.4.1 Peso	41
3.4.2 Glicemia.....	42
3.4.3 Índice de Lee	43
3.5 ANÁLISE BIOMECÂNICA – TORQUE DE REMOÇÃO	44
4 DISCUSSÃO.....	46
5 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS.....	57
ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA	57

1 INTRODUÇÃO

A prevalência do uso de implantes osseointegráveis em pacientes com mais de 55 anos vem aumentando substancialmente desde 1999 e tem projeção de aumento em 23% para 2026.¹ O aumento da popularidade dos implantes osseointegráveis para substituir dentes perdidos está relacionado ao sucesso que esse tipo de reabilitação oferece. O desempenho clínico favorável dos implantes é atribuído ao fenômeno da osseointegração, conceituada por Branemark em 1965 como uma união direta, estrutural e funcional entre o implante e o tecido ósseo, sem que haja interposição de tecido fibroso na interface osso/implante.² Após a instalação do implante, forma-se uma rede de fibrina que atua como um suporte para a migração de células osteogênicas responsáveis por formar o tecido osteóide. Por sua vez, o tecido osteóide é progressivamente substituído por osso lamelar por meio da remodelação óssea, e este mantém contato direto com o implante, constituindo a osseointegração.³⁻⁵ O desequilíbrio entre os fatores locais anabólicos e catabólicos que atuam na formação e remodelação óssea podem comprometer a osseointegração, resultando em falha das reabilitações.

A osteoporose pós menopáusica, caracterizada por um desequilíbrio do ciclo de remodelação, em que a reabsorção se sobrepõe sobre a formação óssea, acomete grande parte da população que procura por reabilitação com implantes osseointegráveis, tornando o prognóstico dessas pacientes pouco favorável. Estima-se que aproximadamente 99 milhões de pessoas com mais de 50 anos foram diagnosticadas com osteoporose nos Estados Unidos em 2010.⁶ Uma série de fármacos são propostos para o tratamento da osteoporose pós menopáusica, objetivando a prevenção das fraturas esqueléticas dos indivíduos portadores dessa desordem osteometabólica. Os bifosfonatos são fármacos amplamente prescritos com o intuito de aumentar a densidade mineral óssea (DMO) e diminuir o risco de fraturas esqueléticas em pacientes portadores de osteoporose, promovendo bons resultados nesse aspecto. Porém, pouca atenção é dada ao impacto que o mecanismo de ação desse fármaco gera no processo de reparo ósseo. Os bisfosfonatos, que têm alta afinidade pela hidroxiapatita, são absorvidos pelos osteoclastos na superfície óssea quando estes reabsorvem o osso. Assim, os bifosfonatos induzem a apoptose de osteoclastos pela via do mevalonato.⁷ Como resultado, a renovação óssea é suprimida devido a diminuição das taxas de remodelação óssea.

Ao ocorrer uma injúria ao tecido ósseo, os osteócitos, células capazes de captar alterações na matriz óssea, coordenam uma sinalização para que os osteoclastos iniciem a reabsorção da matriz danificada. Após a reabsorção, os osteoclastos sofrem apoptose e precursores de osteoblastos são recrutados para que se inicie a formação óssea pelos osteoblastos da área reabsorvida. Dessa forma, a remodelação óssea ocorre de forma estreitamente coordenada para restauração e manutenção de um tecido ósseo saudável.⁸

A condição da menopausa aumenta significativamente a ocorrência de síndrome metabólica (SM), caracterizada por um conjunto de três ou mais desordens metabólicas como resistência à insulina, obesidade abdominal, dislipidemia e hipertensão, que contribuem para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.⁹ A deficiência de estrógeno, encontrada após a menopausa, promove acúmulo de gordura abdominal e inflamação do tecido adiposo, diminui a elasticidade vascular e aumenta o colesterol de lipoproteína de baixa densidade.¹⁰ Estudos sugerem que a SM em mulheres na menopausa pode promover a redução da DMO.¹¹⁻¹³ A redução do colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) reduz a atividade osteogênica nas células vasculares, e o tecido adiposo abdominal aumenta as citocinas inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Essas citocinas podem modular indiretamente a expressão do receptor do ligante NF-kappa B (RANKL) e da osteoprotegerina (OPG) que pode resultar em perda óssea.^{14,15} Estudos mostram uma relação entre osteoporose e síndrome metabólica¹⁶⁻¹⁸ estando ambas as condições presentes em grande parte da população. Entretanto, mais estudos se fazem necessários, para que esta correlação seja mais bem caracterizada.¹⁹

Ao ser submetido à ação do bifosfonato, o tecido ósseo tem sua capacidade de remodelação suprimida prejudicando o processo de osseointegração. Ainda, os bifosfonatos parecem ter uma ação antiangiogênica que contribui negativamente com a osseointegração, uma vez que a vascularização é de importância crítica para esse processo, já que a diferenciação das células osteogênicas depende estritamente da vascularização do tecido. Essa alteração no metabolismo ósseo pode contribuir para o desenvolvimento de osteonecrose dos maxilares (ONJ), como tem sido relatado na literatura.²⁰⁻²⁵

Considerando o número de pacientes que fazem uso de bifosfonato e estão suscetíveis a desenvolver complicações pós operatórias à instalação de implantes, torna-se necessário a utilização de métodos para promover melhores respostas de formação óssea ao redor dos implantes. A modificação das superfícies dos implantes à base de

titânio tem sido utilizadas como forma de estimular as vias de formação óssea. A utilização de moléculas bioativas, como fármacos que auxiliam no processo de formação óssea, parecem ter um efeito promissor para a osseointegração quando aderidas à superfície do implante.²⁶ Uma substância que poderia ser utilizada, em função do seu efeito anabólico sobre o tecido ósseo, e consequentemente estimulando a atividade osteoblástica seria a teriparatida. A teriparatida, um medicamento à base de PTH, 1-34, é um agente anabólico que foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos para o tratamento de osteoporoses graves por ser um agente anabolizante do tecido ósseo que aumenta a densidade mineral óssea.²⁷ A teriparatida estimula a formação e remodelação óssea, aumentando assim a DMO e melhorando a microarquitetura óssea. O tratamento com teriparatida é o único método comprovado e aprovado para aumentar a massa óssea e melhorar a arquitetura óssea. Várias vias celulares no osteoblasto são ativadas pelo PTH, e a ativação dessas vias resulta no recrutamento osteoblástico para a unidade de remodelação.²⁸ Alguns casos clínicos bem sucedidos de uso off-label de teriparatida para o tratamento de osteonecrose causada por bifosfonatos foram relatados, os quais mostraram que o PTH, 1-34 foi efetivo no tratamento da osteoporose e pode ser uma valiosa terapêutica no tratamento da osteonecrose de mandíbula ou maxila associada aos bifosfonatos.²⁹⁻³³

Além da utilização do PTH 1-34 sistêmico, sua ação tópica vem sendo estudada, a qual mostrou resultados promissores com injeções locais em alvéolos pós exodonticos de ratos, promovendo melhora nas características da cicatrização do osso alveolar³⁴. A incrementação do PTH, 1-34 foi testada também diretamente no titânio, mostrando resultados em que foi liberado PTH local suficiente para influenciar com eficácia a expressão do gene osteoblástico/osteocítico, o que sugere a potencial eficácia da liberação localizada do PTH³⁵

Tendo em vista que a utilização sistêmica de um bifosfonato como tratamento para osteoporose já foi descrita na literatura por nossa equipe (Ramalho-Ferreira, 2015)³⁶, no qual ratos tratados com alendronato de sódio apresentaram tecido ósseo de baixa qualidade e atraso no processo de reparo Peri-implantar, este estudo tem o intuito de avaliar a associação de um bifosfonato sistêmico ao efeito local de PTH, 1-34 funcionalizado na superfície de implantes.

Sendo assim, o presente estudo tem como proposta avaliar o comportamento reparacional do osso Peri-implantar de ratas submetidas à ovariectomia e portadoras de síndrome metabólica frente à ação sistêmica do risedronato (bifosfonato oral) associado

à teriparatida administrada localmente, incorporado à superfície dos implantes a serem instalados.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que a associação sistêmica do fármaco anti-reabsortivo ao anabólico ósseo de forma tópica mostrou-se bastante promissora. Mais estudos são necessários para que estas respostas sejam melhor caracterizadas do ponto de vista biológico e funcional.

Vale destacar que a superfície funcionalizada com o anabólico ósseo apresentou melhor desempenho clínico quando comparada à superfície convencional, mostrando-se mais eficiente em todos grupos experimentais avaliados neste estudo.

REFERÊNCIAS

ELANI, H. W.; STARR, J. R.; DA SILVA, J. D.; GALLUCCI, G. O. Trends in Dental Implant Use in the U.S., 1999-2016, and Projections to 2026. **Journal of dental research**, v. 97, n. 13, p 1424–1430, 2018.

BRÅNEMARK, R.; BRÅNEMARK, P. I.; RYDEVIK, B.; MYERS, R. R. Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: a review. **Journal of rehabilitation research and development**, v. 38, n. 2, p. 175–181, 2001.

DAVIES, J. E. Mechanisms of endosseous integration. **Int J Prosthodont**, v. 11, p. 391-401, 1998

BERGLUNDH, T.; ABRAHAMSSON, I.; LANG, NP.; LINDHE, J. *De novo* alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. **Clin Oral Implants Res**. v. 143, p. 251-62, 2003.

MEYER, U.; JOOS, U.; MYTHILI, J.; STAMM, T.; HOHOFF, A.; FILLIES, T.; STRATMANN, U.; WIESMANN, HP. Ultrastructural characterization of the implant/bone interface of immediately loaded dental implants. **Biomaterials**. V. 25, p. 1959-1967, 2004

WRIGHT, N. C.; LOOKER, A. C.; SAAG, K. G.; CURTIS, J. R.; DELZELL, E. S.; RANDALL, S.; DAWSON-HUGHES, B. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 29, n. 11, p. 2520–2526, 2014.

ROELOFS, K.; THOMPSON, S.; GORDON, S.; ROGERS, M. J. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates: current status. **Clin Cancer Res**, v. 12, p. 6222s-6230, 2006.

HENRIKSEN, K.; NEUTZSKY-WULFF, A. V.; BONEWALD, L. F.; KARSDAL, M. A. Local communication on and within bone controls bone remodeling. **Bone**, v. 44, n, 6, p. 1026-1033, 2009.

KHANAM, M. A.; QIU, C.; LINDEBOOM, W.; STREATFIELD, P. K.; KABIR, Z. N.; WAHLIN, Å. The metabolic syndrome: prevalence, associated factors, and impact on survival among older persons in rural Bangladesh. **PloS one**, v. 6, n. 6, e20259, 2011.

CARR, M. C.; KIM, K. H.; ZAMBON, A.; MITCHELL, E. S.; WOODS, N. F.; CASAZZA, C. P.; PURNELL, J. Q.; HOKANSON, J. E.; BRUNZELL, J. D.; SCHWARTZ, R. S. Changes in LDL density across the menopausal transition. **J Investig Med**, v. 48, p.245–250, 2000.

KIM, K. C.; SHIN, D. H.; LEE, S. Y.; IM, J. A.; LEE, D. C. Relation between obesity and bone mineral density and vertebral fractures in Korean postmenopausal women. **Yonsei medical journal**, v. 51, n.6, p. 857–863, 2010.

WONG, S. K.; CHIN, K. Y.; SUHAIMI, F. H.; AHMAD, F.; IMA-NIRWANA, S. The Relationship between Metabolic Syndrome and Osteoporosis: A Review. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 347, 2016.

DA SILVA, V. N.; FIORELLI, L. N.; DA SILVA, C. C.; KUROKAWA, C. S.; GOLDBERG, T. B. Do metabolic syndrome and its components have an impact on bone mineral density in adolescents?. **Nutrition & metabolism**, v. 14, p. 1, 2017.

KOPELMAN, PG. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, n. 6778, p. 635–643, 2000.

HOTAMISLIGIL, GS. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, v. 444, n.7121, p. 860– 867, 2006.

LEITE, F. R.; DE AQUINO, S. G.; GUIMARÃES, M. R.; CIRELLI, J. A.; ZAMBONI, D. S.; SILVA, J. S.; JUNIOR, C. R. Relevance of the myeloid differentiation factor 88 (MyD88) on RANKL, OPG, and nod expressions induced by TLR and IL-1R signaling in bone marrow stromal cells. **Inflammation**, v. 38, n. 1, p. 1–8, 2015.

WONG, S. K., CHIN, K. Y., SUHAIMI, F. H., AHMAD, F., & IMA-NIRWANA, S. The Relationship between Metabolic Syndrome and Osteoporosis: A Review. **Nutrients**, v. 8, n. 6, p. 347, 2016.

WONG, S. K.; CHIN, K. Y.; SUHAIMI, F. H.; AHMAD, F.; JAMIL, N. A.; IMA-NIRWANA, S. Osteoporosis is associated with metabolic syndrome induced by high-carbohydrate high-fat diet in a rat model. **Biomed Pharmacother**, v. 98, p. 191–200, 2018.

ZHOU, J.; ZHANG, Q.; YUAN, X.; WANG, J.; LI, C.; SHENG, H.; QU, S.; LI, H. Association between metabolic syndrome and osteoporosis: a meta-analysis. **Bone**, v. 57, n. 1, p. 30-35, 2013.

PABST, A. M.; ZIEBART, T.; ACKERMANN, M.; KONERDING, M. A.; WALTER, C. Bisphosphonates' antiangiogenic potency in the development of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: influence on microvessel sprouting in an in vivo 3D Matrigel assay. **Clinical oral investigations**, v. 18, n.3, p. 1015–1022, 2014.

PETCU, E. B.; IVANOVSKI, S.; WRIGHT, R. G.; SLEVIN, M.; MIROIU, R. I.; BRINZANIUC, K. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): an anti-angiogenic side-effect?. **Diagnostic pathology**, v. 7, p. 78, 2012.

SHARMA, D.; IVANOVSKI, S.; SLEVIN, M.; HAMLET, S.; POP, T. S.; BRINZANIUC, K.; PETCU, E. B.; MIROIU, R. I. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect. **Vascular cell**, v. 5, n.1, p. 1, 2013.

WEHRHAN, F.; STOCKMANN, P.; NKENKE, E.; SCHLEGEL, K. A.; GUENTSCH, A.; WEHRHAN, T.; NEUKAM, F. W.; AMANN, K. Differential impairment of vascularization and angiogenesis in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw-related mucoperiosteal tissue. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 112, n.2, p. 216–221, 2011

STRESING, V.; FOURNIER, P. G.; BELLAHCÈNE, A.; BENZAÏD, I.; MÖNKKÖNEN, H.; COLOMBEL, M.; EBETINO, F. H.; CASTRONOVO, V.; CLÉZARDIN, P. (2011). Nitrogen-containing bisphosphonates can inhibit angiogenesis in vivo without the involvement of farnesyl pyrophosphate synthase. **Bone**, v. 48, n.2, p. 259–266, 2011.

MARCO, F.; MILENA, F.; GIANLUCA, G.; VITTORIA, O. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. **Micron (Oxford, England : 1993)**, v. 36, n.7-8, p. 630–644, 2005.

TRINO, L. D.; BRONZE-UHLE, E. S.; RAMACHANDRAN, A.; LISBOA-FILHO, P. N.; MATHEW, M. T.; GEORGE, A. Titanium surface bio-functionalization using osteogenic peptides: Surface chemistry, biocompatibility, corrosion and tribocorrosion aspects. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 81, p. 26–38, 2018.

NIIMI, R.; KONO, T.; NISHIHARA, A.; HASEGAWA, M.; MATSUMINE, A.; KONO, T.; SUDO, A. Analysis of daily teriparatide treatment for osteoporosis in men. **Osteoporos Int**, v. 26, n. 4, p. 1303-1309, 2015.

TELLA, S. H.; GALLAGHER, J. C. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. **The Journal of steroid biochemistry and molecular biology**, v. 142, p. 155–170.

LEE, J. J.; CHENG, S. J.; JENG, J. H.; CHIANG, C. P.; LAU, H. P.; KOK, S. H. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. **Head & neck**, v. 33, n. 9, p. 1366–1371, 2011.

TSAI, K. Y.; HUANG, C. S.; HUANG, G. M.; YU, C. T. More on the resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. **The Journal of rheumatology**, v. 37, n. 3, p. 675–676, 2010.

CHEUNG, A.; SEEMAN, E. Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. **N Engl J Med**, v. 363, n. 25, p. 2473–2474, 2010.

HARPER, R. P.; FUNG, E. Resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the mandible: possible application for intermittent low-dose parathyroid hormone [rhPTH(1-34)]. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 65, n. 3, 573–580, 2007.

KWON, Y. D.; LEE, D. W.; CHOI, B. J.; LEE, J. W.; KIM, D. Y. Short-term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. **Osteoporosis international** : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA, v. 23, n. 11, p. 2721–2725, 2012.

KUROSHIMA, S.; KOVACIC, BL.; KOZLOFF, KM.; MCCAULEY, LK.; YAMASHITA, J. Intraoral PTH administration promotes tooth extraction socket healing. **J Dent Res**, v. 92, n. 6, p. 553-559, 2013.

GULATI, K.; KOGAWA, M.; PRIDEAUX, M.; FINDLAY, DM.; ATKINS, GJ.; LOSIC, D. Drugreleasing nano-engineered titanium implants: therapeutic efficacy in 3D cell culture model, controlled release and stability. **Mater Sci Eng C Mater Biol Appl**, v. 1, n. 69, p. 831-840, 2016.

RAMALHO-FERREIRA, G.; FAVERANI, LP.; PRADO, FB.; GARCIA, IR.; OKAMOTO, R. Raloxifene enhances peri-implant bone healing in osteoporotic rats. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 44, n. 6, p. 798-805, 2015.

.HERNANDEZ-MONTELONGO, J.; CORRALES UREÑA, Y. R.; MACHADO, D.; LANCELLOTTI, M.; PINHEIRO, M. P.; RISCHKA, K.; LISBOA-FILHO, P. N.; COTTA, M. A. Electrostatic immobilization of antimicrobial peptides on polyethylenimine and their antibacterial effect against Staphylococcus epidermidis. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 164, p. 370–378, 2018.

TRINO, LD.; DIAS, LFG.; ALBANO, LGS.; BRONZE-UHLE, ES.; RANGEL, EC.; GRAEFF, CFO.; LISBOA-FILHO, PN.; Zinc oxide surface functionalization and related effects on corrosion resistance of titanium implants. **Ceramics International**, v. 44, n. 4, p. 4000-4008, 2018.

ROSA, ML.; BELOTI, MM.; PRANDO, N.; QUEIROZ, RH.; DE OLIVEIRA, PT.; ROSA, AL. Chronic ethanol intake inhibits in vitro osteogenesis induced by osteoblasts differentiated from stem cells. **J Appl Toxicol**, v. 28, n. 2, p. 205-211, 2008.

PACZESNY, S.; HAKIM, F. T.; PIDALA, J.; COOKE, K. R.; LATHROP, J.; GRIFFITH, L. M.; HANSEN, J.; JAGASIA, M.; MIKLOS, D.; PAVLETIC, S.; PARKMAN, R.; RUSSEK-COHEN, E.; FLOWERS, M. E.; LEE, S.; MARTIN, P.; VOGELSANG, G.; WALTON, M.; SCHULTZ, K. R. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: III. The 2014 Biomarker Working Group Report. Biology of blood and marrow transplantation. **Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 21, n. 5, p. 780–792, 2015.

DE ANDRADE, D. P.; DE VASCONCELLOS, L. M.; CARVALHO, I. C.; FORTE, L. F.; DE SOUZA SANTOS, E. L.; PRADO, R. F.; SANTOS, D. R.; CAIRO, C. A.; CARVALHO, Y. R. Titanium-35niobium alloy as a potential material for biomedical implants: In vitro study. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, v. 56, p. 538–544, 2015.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

LONG, J.A.; EVANS, H.M. The oestrus cycle in the rat and its related phenomena. **Mem. Univer.Calif.**, v. 6, p. 1-148, 1922.

GOMEZ-SMITH, M.; KARTHIKEYAN, S.; JEFFERS, M. S.; JANIK, R.; THOMASON, L. A.; STEFANOVIC, B.; CORBETT, D. A physiological characterization of the Cafeteria diet model of metabolic syndrome in the rat. **Physiology & behavior**, v. 167, p. 382–391, 2016.

CARILLON, J.; ROMAIN, C.; BARDY, G.; FOURET, G.; FEILLET-COUDRAY, C.; GAILLET, S.; LACAN, D.; CRISTOL, JP.; ROUANET, JM. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. **Free Radic Biol Med**, v. 65, p. 254-261, 2013.

KHOSLA, S.; MONROE, D. G. Regulation of Bone Metabolism by Sex Steroids. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 8, n. 1, a031211, 2018.

WACTAWSKI-WENDE, J.; HAUSMANN, E.; HOVEY, K.; TREVISAN, M.; GROSSI, S.; GENCO, R. J. The Association Between Osteoporosis and Alveolar Crestal Height in Postmenopausal Women. **Journal of periodontology**, v. 76, Suppl 11S, p. 2116–2124, 2005.

KELLER, J. C.; STEWART, M.; ROEHM, M.; SCHNEIDER, G. B. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 19, n. 5, p. 687–694, 2004.

TSOLAKI, I. N.; MADIANOS, P. N.; VROTSOS, J. A. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review. **Journal of prosthodontics**, vol. 18, n. 4, p. 309-323, 2009.

KAUR, J. A comprehensive review on metabolic syndrome. **Cardiology research and practice**, v. 2014, 943162, 2014.

FODOR, D.; VESA, S.; ALBU, A.; SIMON, S.; CRACIUN, A.; MUNTEAN, L. The relationship between the metabolic syndrome and its components and bone status in postmenopausal women. **Acta physiologica Hungarica**, v. 101, n. 2, p. 216–227, 2014.

NGUYEN, T.V.; SAMBROOK, P.N.; EISMAN, J.A. Bone Loss, Physical Activity, and Weight Change in Elderly Women: The Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. **J Bone Miner Res**, v. 13, p. 1458-1467, 1998.

ROUX, C. Postmenopausal osteoporosis: current treatment. **Rev Med Interne**, v. 25 Suppl 5, S568-72, 2004.

FOURNIER, P.; BOISSIER, S.; FILLEUR, S.; GUGLIELMI, J.; CABON, F.; COLOMBEL, M.; CLÉZARDIN, P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. **Cancer research**, v. 62, n. 22, p. 6538–6544, 2002.

BROOKS, JK.; GILSON, AJ.; SINDLER, AJ.; ASHMAN, SG.; SCHWARTZ, KG.; NIKITAKIS, NG. Osteonecrosis of the jaws associated with use of risedronate: report of 2 new cases. **Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol and Endod**, v. 103, n. 6, p. 780-786, 2007.

NEER, R. M.; AND SWAN Investigators. Bone loss across the menopausal transition. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1192, p. 66-71, 2010.

ANAGNOSTIS, P.; GKEKAS, N. K.; POTOUPNIS, M.; KENANIDIS, E.; TSIRIDIS, E.; GOULIS, D. G. New therapeutic targets for osteoporosis. **Maturitas**, v. 120, p. 1–6, 2019.

DE OLIVEIRA, D.; DE OLIVEIRA PUTTINI, I.; SILVA GOMES-FERREIRA, P. H.; PALIN, L. P.; MATSUMOTO, M. A.; OKAMOTO, R. Effect of intermittent teriparatide (PTH 1-34) on the alveolar healing process in orchiectomized rats. **Clinical oral investigations**, v. 23, n.5, p. 2313–2322, 2019.

DE OLIVEIRA PUTTINI, I.; GOMES-FERREIRA, P.; DE OLIVEIRA, D.; HASSUMI, J. S.; GONÇALVES, P. Z.; OKAMOTO, R. Teriparatide improves alveolar bone modelling after tooth extraction in orchiectomized rats. **Archives of oral biology**, v. 102, p. 147–154, 2019.

GOMES-FERREIRA, P. H. S.; DE OLIVEIRA, D.; FRIGÉRIO, P. B.; DE SOUZA BATISTA, F. R.; GRANDFIELD, K.; OKAMOTO, R. Teriparatide improves microarchitectural characteristics of peri-implant bone in orchiectomized rats. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA**, v. 31, n.9, p. 1807–1815, 2020.

BASHUTSKI, J. D.; EBER, R. M.; KINNEY, J. S.; BENAVIDES, E.; MAITRA, S.; BRAUN, T. M.; GIANNOBILE, W. V.; MCCAULEY, L. K. Teriparatide and osseous regeneration in the oral cavity. **The New England journal of medicine**, v. 363, n. 25, p. 2396–2405, 2010.

ANEXOS

Anexo A – Comitê de ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
 CAMPUS ARAÇATUBA
 FACULDADE DE ODONTOLOGIA
 FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



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

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Avaliação do reparo ósseo após a instalação de implantes funcionalizados com medicação anabólica associada à administração sistêmica de antireabsortivo em ratas com deficiência de estrogênio e síndrome metabólica"**, Processo FOA nº 00434-2019, sob responsabilidade de Roberta Okamoto apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 30 de Julho de 2019.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Julho de 2021.

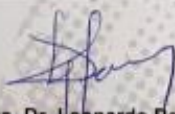
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Agosto de 2021.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Evaluation of bone repair after the installation of functionalized implants with anabolic medication associated with systemic administration of antiresorptive in estrogen deficient rats and metabolic syndrome"**, Protocol FOA nº 00434-2019, under the supervision of Roberta Okamoto presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on July 30, 2019.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: July 30, 2021.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: August 30, 2021.


Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani
 Coordenador da CEUA
 CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
 Faculdade de Odontologia de Araçatuba
 Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
 Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça – CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
 Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br