

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 16/02/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

PAULA BUZO FRIGÉRIO

Impacto da administração tardia de bifosfonato oral sobre o processo de reparo peri-implantar em ratas osteopênicas: a funcionalização da superfície dos implantes pode melhorar esta resposta?

**ARAÇATUBA - SP
2023**

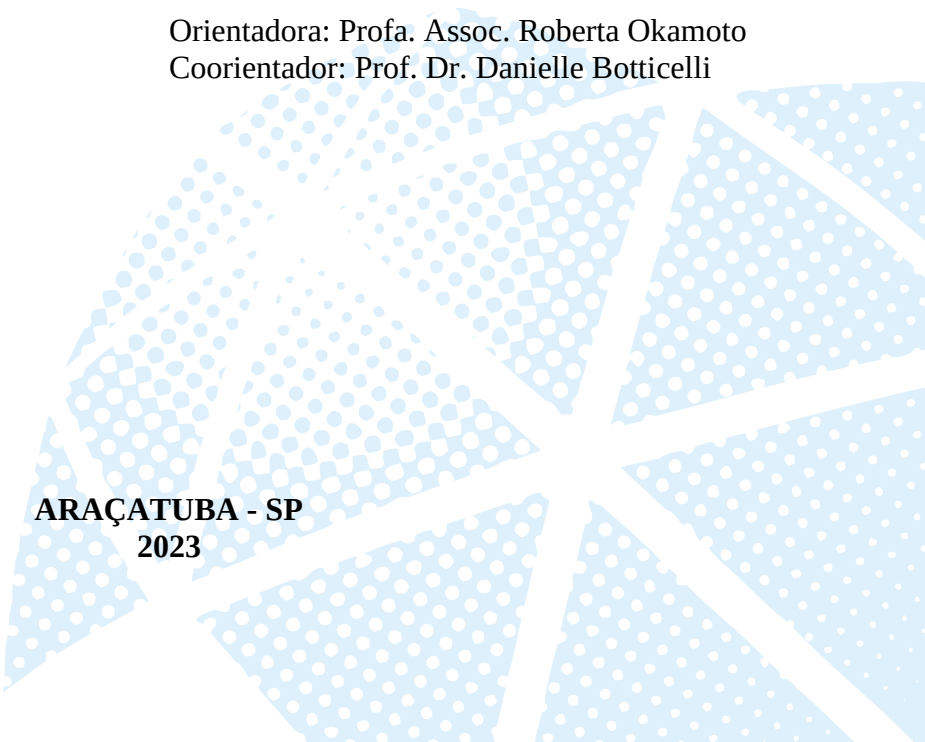
PAULA BUZO FRIGÉRIO

Impacto da administração tardia de bifosfonato oral sobre o processo de reparo peri-implantar em ratas osteopênicas: a funcionalização da superfície dos implantes pode melhorar esta resposta?

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para a obtenção do grau de “Mestre em Odontologia”.

Orientadora: Profa. Assoc. Roberta Okamoto
Coorientador: Prof. Dr. Danielle Botticelli

**ARAÇATUBA - SP
2023**



Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

F912i Frigério, Paula Buzo.
Impacto da administração tardia de bifosfonato oral sobre o processo de reparo peri-implantar em ratas osteopênicas : a funcionalização da superfície dos implantes pode melhorar esta resposta? / Paula Buzo Frigério. – Araçatuba, 2023
78 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientadora: Profa. Roberta Okamoto
Coorientador: Prof. Danielle Botticelli

1. Implantes dentários 2. Teriparatida 3. Vitamina K2
4. Difosfonatos I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedicatória

À minha mãe Conceição e ao meu pai José Luiz

Mãe, você é minha melhor amiga, minha inspiração, meu porto seguro. Agradeço por sempre me incentivar a persistir e conquistar os meus objetivos. Obrigada por sempre dizer algo importante e me confortar em momentos difíceis, você sempre ouve meus desabafos e tenta me ensinar a melhor maneira de como contorná-los. Muito obrigada por existir e cuidar tão bem da família. Saiba que me orgulho em ser tua filha, não seria nada sem a sua existência, amo-te imensuravelmente.

Pai, você é meu amigo, meu herói. Obrigada por sempre se esforçar para dar o melhor para nossa família. Agradeço pelo apoio e incentivo todos esses anos, você sempre confiou em meu potencial e se esforçou para que eu pudesse chegar onde estou. Você é meu porto seguro, tenho orgulho em ser tua filha. Sem você eu jamais alcançaria meus objetivos, obrigada por sempre cuidar de mim e me apoiar. Amo você eternamente.

À minha irmã Pamela

Minha parceira, amiga e irmã. Obrigada por estar presente em minha vida em todos os momentos, sejam bons ou ruins. Nós somos diferentes e é por isso que nos completamos. Você sempre se preocupou comigo, me incentivou a ir mais longe e me amparou nos momentos em que mais precisei. Obrigada por todos os conselhos e todas as conversas, você me ajudou a chegar onde estou. Obrigada por sempre me proteger e me apoiar. Conte comigo para tudo irmã. Amo muito você.

Aos meus sobrinhos Henrique e Júlia

Ao meu sobrinho Henrique que está presente em nossas vidas e nos traz alegria todos os dias. Meu coração se encheu de amor quando eu ouvi a primeira vez você dizer “titia”, obrigada por ser esse anjo em nossas vidas. Te amo demais, conte com a titia para tudo. À minha sobrinha Júlia que ainda está guardadinha no útero de minha irmã. Você ainda não me conhece, mas saiba que já é muito amada e querida, não vejo a hora de poder te pegar nos braços, e te encher de beijos, eu te amo.

“Família o abrigo que permanece em pé, mesmo durante as mais fortes tempestades.”

Agradecimentos
Especiais

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A Deus

Agradeço por Deus ter iluminado meu caminho em toda essa trajetória, foram anos maravilhosos. Consegui concluir a graduação após a pandemia, entrei no mestrado e agora essa etapa está quase finalizada. Obrigada meu Senhor pela força, sabedoria e discernimento dados a mim, principalmente nos momentos mais difíceis. Agradeço também a Deus por ter colocado em meu caminho tantas pessoas boas que me ajudaram nessa trajetória.

À querida professora e orientadora Profª Assoc. Roberta Okamoto

Agradeço a professora Roberta por ter me oferecido à oportunidade de ser sua orientada desde 2015 na iniciação científica e continuar me ensinado até hoje no mestrado. Que nossa união possa trazer ainda mais frutos bons e que sua orientação perdure por mais anos. Agradeço por fazer parte da equipe e poder desenvolver meu trabalho sob sua orientação e cuidados. Obrigada por acreditar em meu desenvolvimento pessoal e intelectual, pelas oportunidades de crescimento a mim oferecidas. A senhora é um exemplo de professora e ser humano, nos inspira a cada dia. Desejo um dia poder ser uma professora e pesquisadora tão excelente quanto à senhora. Minha eterna admiração professora.

Aos membros da Banca Examinadora

Professor Dr. Idelmo, tenho imensa admiração pelo senhor e pelo seu trabalho. Gostaria de agradecer por ter participado da minha banca do exame geral de qualificação e por agora também fazer parte desse momento impar da minha vida. Obrigada pelo carinho ao longo da graduação, por ser uma pessoa extremamente generosa, simples e bondosa. O senhor é uma inspiração como profissional e pessoa. Muito obrigada professor.

Professor Dr. André Fabris, o professor é uma inspiração como ser humano e profissional, sempre bondoso, paciente e simples. Pude ter o privilégio de iniciar a especialização de implantodontia em sua escola e nestes meses que se passaram pude notar o quanto você se esforça para nós alunos termos um ensino de qualidade. Agradeço pela generosidade e pela amizade nesses meses de curso. Obrigada por fazer parte desse momento tão especial para mim. Obrigada professor André.

Ao meu namorado André

Sou grata a Deus por ter colocado você em meu caminho. Obrigada por me apoiar, incentivar e ser meu amigo em todos os momentos. Você me faz sentir melhor todos os dias. Obrigada por ter paciência comigo e ser meu confidente. Sou muito feliz por ter você ao meu lado. Amo você, amor.

Aos meus Familiares

Agradeço imensamente aos meus cunhados, **Jhonny, Natália e Carol** pela amizade e companheirismo. Vocês sempre me apoiaram e torceram pelo meu sucesso. Obrigada por confiarem em meu trabalho como Cirurgiã-dentista. Vocês fizeram parte dessa jornada desde princípio. Amo vocês.

Aos meus Amigos

Às minhas amigas **Amanda, Bruna, Danila, Thais, Priscila, Daniele, Adriane, Beatriz Furtado, Beatriz Goulart, Stella, Raíssa e Giovana** obrigada pelo apoio e incentivo. Sempre ouvindo meus desabafos e me aconselhando a todo momento. Adoro nossas conversas e risadas, vocês me fazem bem. Amo vocês amigas.

Aos colegas do Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados da Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Agradeço a cada um de vocês que fizeram parte desta importante etapa da minha vida, obrigada por toda a atenção, auxílio e ajuda. É muito bom poder trabalhar ao lado de vocês e apreender mais a cada dia. Agradeço por toda a companhia, risadas, brincadeiras que tornam o dia-a-dia mais prazeroso.

Agradecimentos

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP**, e em especial à **Faculdade de Odontologia de Araçatuba** na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de Araçatuba **Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara** e do vice-diretor **Prof. Tit. 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. Wirley Gonçalves Assunção**.

Aos **funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP** pela paciência e disponibilidade em todas as etapas do mestrado.

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

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. Muito obrigada.

À **TitaniumFix**, pelo fornecimento dos implantes de titânio osseointegráveis utilizados neste estudo.

Ao **laboratório multiusuário da FOA-UNESP e à FINEP** (FINEP/CT-INFRA - Convênio FINEP: 01.12.0530.00 – PROINFRA 01/2011) por fornecer o microtomógrafo SkyScan 1272 Bruker para escaneamento e reconstrução das tíbias de ratos, uma etapa necessária para o desenvolvimento do meu projeto de mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pela concessão da Bolsa de Mestrado (processo nº 2021/06050-6).

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

Agradeço a todos que torceram por mim, de longe ou de perto e que contribuíram diretamente ou indiretamente para a realização deste sonho. Momentos difíceis ocorreram ao longo dos anos, sem o apoio essencial de cada um não seria possível para chegar onde estou. Obrigada a todos!

Epígrafe

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

Charles Chaplin

Resumo

Frigério PB. Impacto da administração tardia de bifosfonato oral sobre o processo de reparo peri-implantar em ratas osteopênicas: a funcionalização da superfície dos implantes pode melhorar esta resposta? [dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia; 2023.

RESUMO

A osteoporose é uma doença que atinge principalmente as mulheres na pós-menopausa. Atualmente, existem muitas terapias disponíveis para seu tratamento, entre elas os bifosfonatos orais que são fármacos com efeito anti-remodelação óssea, o que pode levar alguns efeitos adversos a longo prazo. Outras opções terapêuticas ou adjuvantes têm sido consideradas no intuito de melhorar as terapias anti-osteoporose, dentre elas, destacamos os fármacos osteoformadores, como a teriparatida, ou ainda suplementos como a vitamina K2. Deste modo, o objetivo desse projeto foi avaliar a qualidade óssea durante reparo peri-implantar em ratas osteoporóticas, numa situação em que o tratamento medicamentoso com alendronato de sódio ocorra após a instalação dos implantes funcionalizados com teriparatida ou vitamina K2. Foram utilizadas 96 ratas divididas em dois grandes grupos, conforme a cirurgia de indução da osteoporose e medicação sistêmica: 1 - OVX SAL: ratas submetidas à ovariectomia bilateral e tratadas com soro fisiológico e 2 - OVX ALE: ratas submetidas à ovariectomia bilateral e tratadas com alendronato de sódio. Dentro de cada grupo experimental, houve três subgrupos, conforme o tipo de tratamento local dos implantes: 1 – CONV (n = 8 por subgrupo): implantes convencionais que não tiveram nenhum tipo de tratamento local; 2 – TERI (n = 8 por subgrupo): implantes funcionalizados com teriparatida (PTH 1-34) e 3 – VK (n = 8 por subgrupo): implantes funcionalizados com vitamina K2. Após duas semanas da cirurgia de ovariectomia, todos os animais tiveram a instalação de implantes na metáfise tibial direita e esquerda (n = 192 implantes), sendo eles: convencionais (CONV), funcionalizados com teriparatida (TERI) ou vitamina K2 (VK). Passadas duas semanas, os animais receberam o tratamento medicamentoso por gavagem, sendo o soro fisiológico (0,7 mg/kg semanalmente) para os animais do grupo SAL e o alendronato de sódio (0,7 mg/kg semanalmente) para os animais do grupo ALE. A eutanásia ocorreu em dois períodos, a 6º e 10º semanas após a cirurgia de instalação dos implantes, respectivamente 44 e 74 dias. As tíbias coletadas foram utilizadas para a análise biomecânica (contra torque), microtomografia computadorizada (Micro-CT) utilizando os parâmetros para volume ósseo (BV), porcentagem de volume ósseo (BV.TV), espessura, número e separação das trabéculas (Tb.Th, Tb.N e Tb.Sp, respectivamente) e superfície de

contato osso-implante (i.S). Os dados quantitativos foram submetidos ao teste de homocedasticidade para a seleção do teste estatístico adequado (paramétrico vs. não paramétrico), com nível de significância de 5%. Os resultados obtidos a partir do teste patenteado mostraram que a funcionalização dos implantes com teriparatida foi viável e apresentaram melhores resultados quando comparado aos implantes convencionais, o que justificou a dose de escolha. Para a análise biomecânica, os maiores torques de remoção dos implantes foram para os grupos tratados com teriparatida e o melhor valor obtido foi do grupo OVX SAL TERI (22,17 N/cm). Os parâmetros BV, BV.TV, Tb.Th, Tb.N, e i.S obtidos a partir do Micro-CT mostraram-se melhores para os grupos tratados com teriparatida e vitamina K2, sendo que estes grupos com implantes funcionalizados tiveram menor separação entre suas trabéculas ósseas (Tb.Sp). Conclui-se que a funcionalização com o PTH 1-34 e vitamina K2 promoveram melhores resultados a longo prazo, com superioridade para o primeiro tanto no torque de remoção como na microarquitetura do tecido ósseo reparacional. Mais estudos com a vitamina K2 se fazem necessários para encontrar uma dose eficaz correspondente.

Palavras-Chave: Implantes Dentários. Hormônio da Paratireoide. Vitamina K2. Bifosfonatos.

Abstract

Frigério PB. Impact of late oral bisphosphonate administration on the peri-implant repair process in osteopenic rats: can implant surface functionalization improve this response? [dissertation]. Araçatuba: São Paulo State University (Unesp), School of Dentistry; 2023.

ABSTRACT

Osteoporosis is a disease that affects mainly postmenopausal women. Currently, there are many therapies available for its treatment, including oral bisphosphonates, which are drugs with an anti-bone remodeling effect, which may lead to some adverse effects in the long term. Other therapeutic or adjuvant options have been considered in order to improve anti-osteoporosis therapies, among them, we highlight osteoforming drugs, such as teriparatide, or supplements such as vitamin K2. Thus, the aim of this project was to evaluate bone quality during peri-implant repair in osteoporotic rats, in a situation in which drug treatment with alendronate sodium occurs after the installation of implants functionalized with teriparatide or vitamin K2. Ninety-six rats were used, divided into two large groups, according to the osteoporosis induction surgery and systemic medication: 1 - OVX SAL: rats submitted to bilateral ovariectomy and treated with saline solution, and 2 - OVX ALE: rats submitted to bilateral ovariectomy and treated with sodium alendronate. Within each experimental group there were three subgroups, according to the type of local treatment of the implants: 1 - CONV (n = 8 per subgroup): conventional implants that did not receive any type of local treatment; 2 - TERI (n = 8 per subgroup): implants functionalized with teriparatide (PTH 1-34) and 3 - VK (n = 8 per subgroup): implants functionalized with vitamin K2. Two weeks after the ovariectomy surgery, all animals had implants installed in the right and left tibial metaphysis (n = 192 implants), either conventional (CONV), functionalized with teriparatide (TERI) or vitamin K2 (VK). After two weeks, the animals received drug treatment by gavage, being saline (0.7 mg/kg weekly) for the animals in the SAL group and sodium alendronate (0.7 mg/kg weekly) for the animals in the ALE group. Euthanasia occurred in two periods, at the 6th and 10th week after implant installation surgery, respectively 44 and 74 days. The collected tibiae were used for biomechanical analysis (counter-torque), computerized microtomography (Micro-CT) using the parameters for bone volume (BV), percentage of bone volume (BV.TV), thickness, number and separation of trabeculae (Tb.Th, Tb.N, and Tb.Sp, respectively), and bone-implant contact surface (i.S). Quantitative data were submitted to the homoscedasticity test for the selection of the appropriate statistical test (parametric vs. nonparametric), with a significance level of 5%. The results obtained from the patented test showed that functionalization of the implants with

teriparatide was feasible and showed better results when compared to conventional implants, which justified the dose of choice. For the biomechanical analysis, the highest implant removal torques were for the groups treated with teriparatide, and the best value obtained was from the OVX SAL TERI group (22.17 N/cm). The parameters BV, BV.TV, Tb.Th, Tb.N, and i.S obtained from Micro-CT were better for the groups treated with teriparatide and vitamin K2, and these groups with functionalized implants had less separation between their bone trabeculae (Tb.Sp). It is concluded that functionalization with PTH 1-34 and vitamin K2 promoted better long-term results, with superiority for the former in both removal torque and microarchitecture of the reparational bone tissue. Further studies with vitamin K2 are needed to find a corresponding effective dose.

Keywords: Dental Implants. Parathyroid Hormone. Vitamin K2. Diphosphonates.

Listas e Sumário

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cirurgia de ovariectomia	33
Figura 2 - Dimensões do implante que foi instalado na tíbia dos ratos	34
Figura 3 - Cirurgia de instalação de implantes	35
Figura 4 - Imagens obtidas através do escaneamento em microtomógrafo	36
Figura 5 - Linha do tempo dos modelos experimentais, primeiro período de eutanásia (6º semana após a instalação dos implantes)	37
Figura 6 - Linha do tempo dos modelos experimentais, segundo período de eutanásia (10ª semana após a instalação dos implantes)	38
Figura 7 - Gráfico referente à média dos resultados de contra torque com diferenças entre as superfícies tratadas ($p < 0,05$, ANOVA two-way e pós-teste de Tukey)	42
Figura 8 - Gráfico referente à média dos resultados de contra torque com diferenças entre os períodos de eutanásia 6S vs. 10S ($p < 0,05$, ANOVA two-way e pós-teste de Tukey)	44
Figura 9 - Gráficos referente ao Micro-CT com diferença estatística entre o tratamento sistêmico nos tempos de eutanásia 6S vs. 10S, ($p < 0,05$, ANOVA two-way e pós-teste de Tukey)	45
Figura 10 - Gráficos referente ao Micro-CT com diferença estatística entre os tratamentos e superfície tratada nos tempos de eutanásia (6S vs. 6S e 10S vs. 10S), ($p < 0,05$, ANOVA two-way e pós-teste de Tukey)	47
Figura 11 - Imagem da reconstrução tridimensional (CT Vox) representando os diferentes grupos avaliados	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento dos grupos experimentais	32
Tabela 2 - Diferença estatística comparando as superfícies dos implantes, referente a figura 7	43
Tabela 3 - Diferença estatística entre os tratamentos, referente a figura 7	43
Tabela 4 - Diferença estatística entre o tempo, referente a figura 8	44
Tabela 5 - Diferença estatística entre os tratamentos e superfícies, referente a figura 8	44
Tabela 6 - Diferença estatística entre os tratamentos para 6S vs. 10S, referente a figura, referente a figura 9	46
Tabela 7 - Diferença estatística entre os tratamentos e superfícies tratadas, referente a figura 10	47

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
Al	Alumínio
ALE	Alendronato de sódio
IS	Superfície de Intersecção
BV	Porcentagem de volume ósseo
BV.TV	Volume ósseo
CEUA	Comitê de ética em estudos animais
cm	Centímetros
CO ₂	Gás carbônico
CONV	Implantes convencionais, que não tiveram tratamento local
Cu	Cobre
DMO	Densidade mineral óssea
E2	Estradiol
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramas
h	Horas
HRMET	Microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução
ICT	Instituto de Ciência e Tecnologia
Kv	Quilovolt
LbL	Layer-by-layer
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
Micro – CT	Microtomografia computadorizada
mg/kg	Miligramas por quilogramas
Min	Minutos
ml	Mililitro
mm	Miligrama
MTT	Brometo de 3-4,5-dimetiltiazo
n	Número de animais por grupo
N.cm	Newton por centímetro
NaCl	Cloreto de sódio
nM	Nanômetros

ONM	Osteonecrose dos maxilares
ONMB	Osteonecrose mandibular e/ou maxilar associada ao tratamento por bifosfonatos
OVX ALE	Ratas submetidas a ovariectomia bilateral e tratadas com alendronato de sódio
OVX ALE/CONV	Ratas tratadas com alendronato, onde os implantes não tiveram nenhum tipo de terapia adicional
OVX ALE/TERI	Ratas tratadas com alendronato, onde os implantes foram funcionalizados com teriparatida
OVX ALE/VK	Ratas tratadas com alendronato, onde os implantes foram funcionalizados com vitamina K2
OVX SAL	Ratas submetidas a ovariectomia bilateral e tratadas com soro fisiológico
OVX SAL/CONV	Ratas tratadas com soro fisiológico, onde os implantes não tiveram nenhum tipo de terapia adicional
OVX SAL/TERI	Ratas tratadas com soro fisiológico, onde os implantes foram funcionalizados com teriparatida
OVX SAL/VK	Ratas tratadas com soro fisiológico, onde os implantes foram funcionalizados com vitamina K2
Ppb	Partes por bilhão
Ppt	Partes por trilhão
PSS	Poliestireno sulfonado
PTH 1-34	Paratormônio
PVPI	Polivinil pirrolidona iodo degermante
ROI	Área ao redor do implante
SAL	Solução salina
SBF	Soro fetal bovino
SERMS	Moduladores seletivos de receptores de estrógeno
Tb.N	Número de trabéculas ósseas
Tb.Sp	Separação entre as trabéculas
Tb.Th	Espessura do trabeculado ósseo
TERI	Implantes que foram funcionalizados com teriparatida (PTH 1-34)
TiO2	Solução eletrolítica

UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
UV-Vis	Luz ultravioleta-visível
VK	Implantes que foram funcionalizados com vitamina K2
Vs	Versus
α -MEM	Alfa com L-glutaminha
μ g	Micrograma
μ g/mL	Micrograma por mililitro
μ mol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	25
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
2.1 Funcionalização dos implantes de titânio.....	30
2.1.1 Técnica do tratamento medicamentoso na superfície dos implantes.....	30
2.2 Grupos Experimentais	31
2.3 Ciclo Estral	33
2.4 Ovariectomia	33
2.5 Cirurgia de Instalação dos Implantes.....	34
2.6 Tratamento medicamentoso sistêmico com Alendronato de Sódio.....	36
2.7 Delineamento Experimental (Linha do Tempo).....	37
2.8 Análises Propostas.....	38
2.8.1 Análise Biomecânica (Contra Torque).....	39
2.8.2 Microtomografia Computadorizada (Micro – CT).....	39
2.9 Análise Estatística	40
3 RESULTADOS	42
3.1 Contra Torque (N/cm)	42
3.2 Microtomografia Computadorizada (Micro – CT).....	45
4 DISCUSSÃO	50
5 CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS	56
ANEXOS.....	67

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A osseointegração é caracterizada pela união direta, estrutural e funcional entre o implante e o tecido ósseo [1,2], esse fenômeno promoveu grande avanço no tratamento reabilitador oral, com prognóstico de sucesso próximo de 100%, devolvendo ao paciente a função mastigatória, estética, bem como a autoestima [3-5].

Sabe-se que a instalação de implantes pode ser prejudicada por conta do desequilíbrio durante a homeostase óssea, que acarreta condições não ideais para sua fixação [6]. Alguns exemplos clínicos recorrentes são os casos em que o tecido ósseo é de baixa qualidade e/ou quantidade, como em áreas de fenestrações, deiscências, defeitos peri-implantares e verticais, ou ainda quando existe a necessidade de instalação de implantes osseointegráveis em alvéolos pós-exodônticos [7].

A condição sistêmica do paciente também é um fator que interfere diretamente quanto à qualidade do tecido ósseo que será base para a instalação de implantes [7-12]. A osteoporose é uma patologia bastante evidenciada, uma vez que causa comprometimento na estrutura trabecular, interferindo no processo de formação do osso ao redor do implante [3,13]. Ela é considerada uma doença crônica e progressiva, caracterizada pela perda de arquitetura, massa e de resistência óssea, que provoca o aumento do risco de fraturas [3,13]. A osteoporose é uma doença muito comum em mulheres com idade acima dos 50 anos e atinge 2/3 dessa população, sendo sua ocorrência quase inevitável [11,14]. A deficiência de estrógeno (E2) na fase pós-menopáusia tem como consequência um desequilíbrio no processo de remodelação óssea, fazendo com que a reabsorção exceda a formação de osso, devido ao aumento da atividade dos osteoclastos e diminuição de sua apoptose [15-17].

Sendo assim, para que ocorra o processo de formação óssea, alguns fatores precisam ser levados em consideração [18,19], é indispensável que ocorra uma formação óssea em contato direto com a superfície do implante (osteogênese) e que exista um tecido ósseo de boa qualidade para que promova a estabilidade primária [18-20], visto que grande parcela da população feminina busca a reabilitação oral por implantes. Deste modo, as terapias farmacológicas têm se mostrado bastante eficazes para o controle da osteoporose pós-menopáusia e para a prevenção das fraturas ósseas. Os medicamentos indicados são classificados como sendo agentes antirreabsortivos, que inibem a atividade osteoclástica, agentes ósseo-formadores e vitaminas que favorecem a neoformação óssea [21-23]. Os bifosfonatos, denosumab e moduladores seletivos de receptores de estrógeno (SERMS) compreendem o grupo de

antirreabsortivos [21,22,24-29] e a teriparatida (PTH 1-34 [paratormônio]) pertence ao grupo de agentes ósseo-formadores [21,26].

Apesar de existir uma ampla categoria de medicações, os bifosfonatos são considerados primeira escolha para a terapia anti-osteoporose e para a prevenção de fraturas ósseas [21,29-31]. Dentre os fármacos utilizados para o tratamento desta patologia, o alendronato de sódio permanece como sendo a primeira opção no mundo todo [29-32], seja pela facilidade de aquisição, uma vez que é fornecido gratuitamente por vários países [33], ou, seja pela adesão facilitada das pacientes, visto que é de simples administração (via oral, semanalmente) fazendo com que sua escolha se torne impreterível [33].

A eficácia antirreabsortiva e o efeito anti-remodelação dos bifosfonatos estão bem fundamentados na literatura, assim como possíveis efeitos adversos que podem interferir na odontologia, como por exemplo na área da implantodontia, podendo causar a osteonecrose dos maxilares (ONM) [34-36]. Seu efeito exclusivamente antirreabsortivo inibe rapidamente a neoformação óssea, fazendo com que a reabsorção de osso exceda sua formação, desta forma, a renovação e *turnover* ósseo ao redor dos implantes se tornam prejudicados [37], condição não ideal quando temos pacientes com osteoporose que fazem uso destas medicações e que buscam a reabilitação oral pela instalação de implantes. Outro fator que deve ser levado em consideração é a afinidade dos bifosfonatos pela matriz óssea, que faz com que parte da dose absorvida durante seu uso permaneça fixa no osso por alguns anos [28].

Por conseguinte, buscam-se alternativas para que o osso formado ao redor do implante não seja prejudicado pela diminuição do *turnover* ósseo decorrente do efeito das medicações antirreabsortivas [38] e, portanto, medicações capazes de aumentar a densidade mineral óssea (DMO) são requeridas. Atualmente, a teriparatida é o único anabólico ósseo aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos para o tratamento de osteoporose [39], por ser um agente osteoformador, ela estimula a formação óssea pelo aumento da atividade dos osteoblastos, fazendo com que tenha um aumento da DMO, espessura trabecular e cortical e reduza o risco de fraturas [40-44]. A literatura apresenta casos clínicos bem sucedidos, que mostraram que o PTH 1-34 é efetivo no tratamento da osteoporose e valioso para o tratamento da osteonecrose mandibular e/ou maxilar associada ao tratamento por bifosfonatos (ONMB) [45-48].

Além da utilização da teriparatida sistêmica para o tratamento da osteoporose e osteonecrose causadas pelo uso de bifosfonatos, sua ação local vem sendo estudada. Nosso

grupo de pesquisa avaliou a ação local do PTH 1-34 quanto à melhora da resposta reparacional a partir da ativação das células recrutadas durante a resposta de osseointegração em defeitos peri-implantares [49] e em alvéolos pós-exodônticos de ratos [50]. Foi observado em ambos os casos um efeito positivo da teriparatida para formação de osso novo e melhora da reconstrução óssea local. Com relação aos casos de osteonecrose dos maxilares, foi visto que em alvéolos pós-exodônticos de ratos tratados com microesferas contendo PTH 1-34 local após doses terapêuticas de bifosfonatos sistêmicos, a teriparatida tópica estimulou a cura óssea, revertendo a lesão necrótica e desempenhando efeito positivo na formação de osso [51]. No entanto, o tratamento de osteonecrose, utilizando teriparatida local, ainda é muito recente e faltam dados comprobatórios de sua eficácia [51].

As vitaminas também são uma suplementação utilizada em mulheres que apresentam osteoporose, dentre elas, existe a vitamina K2 (menaquinona), que atua como um cofator da enzima gama-carboxilase e desta forma, ativa as proteínas ósseas dependentes dela, promovendo manutenção da força óssea, estimulando a osteoblastogênese, limitando a osteoclastogênese e prevenindo as fraturas ósseas [23,52-54]. É descrito na literatura que a deficiência de vitamina K causa aumento no risco de fraturas e redução da densidade mineral óssea [55]. Dados clínicos comprovam que sua utilização auxilia na diminuição do risco de fraturas e aumento da DMO em mulheres osteoporóticas [55,56] e o mesmo efeito benéfico foi descrito em modelos animais osteopênicos [56-58]. A associação da vitamina K com drogas antirreabsortivas, como os bifosfonatos pode colaborar no tratamento de osteoporoses em mulheres pós-menopausa [59-60]. Entretanto, novos estudos devem ser realizados para chegar a dados mais confiáveis, visto que muitas pesquisas clínicas obtiveram repostas inconclusivas quanto à reversão dos casos de osteoporose [54,61].

Tendo em vista que nosso grupo de pesquisa sempre trabalhou com modelos pré-clínicos com comprometimento sistêmicos (ratos), avaliando o processo de formação óssea em defeitos peri-implantares utilizando a terapia medicamentosa precedendo a instalação dos implantes [62-65]. Neste momento surge um novo questionamento referente à terapia medicamentosa realizada posteriormente à instalação dos implantes, uma vez que Pogrel & Ruggiero, 2018 [66] mostraram um estudo em que pacientes que tiveram uma osseointegração bem sucedida, passaram a apresentar falhas nesta resposta após o tratamento com bifosfonato. O *follow up* realizado mostrou perda de grande parte dos implantes instalados. Goss et al. 2010 [67] também cita a existência da falha ou perda da osseointegração quando os bifosfonatos orais são iniciados após a instalação bem sucedida do implante. Desta maneira, nós iniciamos este

projeto com um intuito diferente, estudar se o implante, tratado e instalado após a indução da osteopenia (ovariectomia) e antes do início do tratamento com bifosfonatos, conseguirá manter as características de um tecido ósseo de qualidade e se a funcionalização da superfície dos implantes com a teriparatida ou a vitamina K2 melhorará possíveis efeitos adversos da medicação antirreabsortiva administrada sistemicamente. E ainda, este estudo também buscará avaliar o papel de diferentes biomoléculas que podem atuar positivamente *"in situ"* quanto à ativação das células ósseas, melhorando o reparo peri-implantar. Quanto às biomoléculas escolhidas nesta proposta, ressaltamos que a teriparatida, atuando de forma intermitente, pode promover uma ativação das vias de formação óssea [68,69]. Já a vitamina K2 e seu papel ativando a formação da osteocalcina, um conhecido marcador de mineralização óssea, também poderá desempenhar um efeito favorecendo a formação de tecido ósseo de qualidade.

Portanto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o reparo peri-implantar quando a instalação de implantes é realizada previamente à terapia medicamentosa com bifosfonato oral em animais ovariectomizados. Secundariamente, foi avaliado o efeito de biomoléculas funcionalizando a superfície dos implantes e seu efeito local no sítio reparacional como estratégia para melhorar possíveis efeitos adversos da medicação antirreabsortiva administrada sistemicamente.

Conclusão

5 CONCLUSÃO

A funcionalização das superfícies dos implantes com teriparatida ou vitamina K2 se mostrou eficaz quando associada à terapia sistêmica com alendronato de sódio, especialmente a longo prazo para a teriparatida. Vale destacar também que a superfície associada à teriparatida proporcionou uma maior deposição de osso sobre os implantes de titânio, além de não causar prejuízos ao metabolismo ósseo, cooperou para a osseointegração de qualidade frente ao tratamento sistêmico com um antirreabsortivo e mostrou um desempenho superior à vitamina K2.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Branemark PI, Zarb GA, Albrektson T. Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence; 1985.
2. Albrektson T. The Branemark osseointegrated implant. Chicago: Quintessence; 1989.
3. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M, Corsi E. Evaluation of peri-implant bone resorption around Straumann Bone Level implants placed in areas reconstructed with autogenous vertical onlay bone grafts. Clin Oral Implants Res. 2012;23(9):1012-21. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02262.x.
4. Annibali S, Cristalli MP, Dell'Aquila D, Bignozzi I, La Monaca G, Pilloni A. Short dental implants: a systematic review. J Dent Res. 2012;91(1):25-32. doi: 10.1177/0022034511425675.
5. Peñarrocha-Diago M, Galán-Gil S, Carrillo-García C, Peñarrocha-Diago D, Peñarrocha-Diago M. Transcrestal sinus lift and implant placement using the sinus balloon technique. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2012;17(1):e122-8. doi: 10.4317/medoral.17268.
6. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell. 1997;89(2):309-19. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80209-3.
7. Stentz WC, Mealey BL, Nummikoski PV, Gunsolley JC, Waldrop TC. Effects of guided bone regeneration around commercially pure titanium and hydroxyapatite-coated dental implants. I. Radiographic analysis. J Periodontol. 1997;68(3):199-208. doi: 10.1902/jop.1997.68.3.199.
8. Yamazaki M, Shirota T, Tokugawa Y, Motohashi M, Ohno K, Michi K, Yamaguchi A. Bone reactions to titanium screw implants in ovariectomized animals. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999;87(4):411-8. doi: 10.1016/s1079-2104(99)70239-8.
9. Ozawa S, Ogawa T, Iida K, Sukotjo C, Hasegawa H, Nishimura RD, Nishimura I. Ovariectomy hinders the early stage of bone-implant integration: histomorphometric,

biomechanical, and molecular analyses. *Bone*. 2002;30(1):137-43. doi: 10.1016/s8756-3282(01)00646-9.

10. Shapurian T, Damoulis PD, Reiser GM, Griffin TJ, Rand WM. Quantitative evaluation of bone density using the Hounsfield index. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2006;21(2):290-7.

11. Drage NA, Palmer RM, Blake G, Wilson R, Crane F, Fogelman I. A comparison of bone mineral density in the spine, hip and jaws of edentulous subjects. *Clin Oral Implants Res*. 2007;18(4):496-500. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01379.x.

12. Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *J Dent Res*. 2006;85(7):584-95. doi: 10.1177/154405910608500703.

13. Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(2 Suppl):S3-11. doi: 10.1016/j.ajog.2005.08.047.

14. Foundation IO. Facts and statistics about osteoporosis and its implications. 2009 [citado 2022 nov 23]. Disponível em: www.iofbonehealth.org/facts-and-statistics.html

15. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ 3rd. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev*. 2002;23(3):279-302. doi: 10.1210/edrv.23.3.0465.

16. Earnshaw SA, Keating N, Hosking DJ, Chilvers CE, Ravn P, McClung M, Wasnich RD. Tooth counts do not predict bone mineral density in early postmenopausal Caucasian women. EPIC study group. *Int J Epidemiol*. 1998;27(3):479-83. doi: 10.1093/ije/27.3.479.

17. Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 1996;11(8):1043-51. doi: 10.1002/jbmr.5650110802.

18. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl*. 1977;16:1-132.

19. Davies JE. Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont*. 1998;11(5):391-401.

20. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ*. 2003;67(8):932-49.

21. Qaseem A, Forciea MA, McLean RM, Denberg TD; Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians. Treatment of low bone density or osteoporosis to prevent

fractures in men and women: a clinical practice guideline update from the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2017;166(11):818-39. doi: 10.7326/M15-1361.

22. Watts NB. Postmenopausal osteoporosis: a clinical review. *J Womens Health.* 2018;27(9):1093-1096. doi: 10.1089/jwh.2017.6706.

23. Iwamoto J. Vitamin K₂ therapy for postmenopausal osteoporosis. *Nutrients.* 2014;16;6(5):1971-80. doi: 10.3390/nu6051971.

24. Luvizuto ER, Queiroz TP, Dias SM, Okamoto T, Dornelles RC, Garcia IR Jr, Okamoto R. Histomorphometric analysis and immunolocalization of RANKL and OPG during the alveolar healing process in female ovariectomized rats treated with oestrogen or raloxifene. *Arch Oral Biol.* 2010; 55(1):52-9. doi: 10.1016/j.archoralbio.2009.11.001.

25. Luvizuto ER, Dias SM, Queiroz TP, Okamoto T, Garcia IR Jr, Okamoto R, Dornelles RC. Osteocalcin immunolabeling during the alveolar healing process in ovariectomized rats treated with estrogen or raloxifene. *Bone.* 2010;46(4):1021-9. doi: 10.1016/j.bone.2009.12.016.

26. Netelenbos C. Osteoporosis: intervention options. *Maturitas.* 1998;30(3):235-9. doi: 10.1016/s0378-5122(98)00091-7.

27. Muñoz-Torres M, Reyes-García R, Mezquita-Raya P, Fernández-García D, Alonso G, Luna Jde D, Ruiz-Requena ME, Escobar-Jiménez F. Serum cathepsin K as a marker of bone metabolism in postmenopausal women treated with alendronate. *Maturitas.* 2009;64(3):188-92. doi: 10.1016/j.maturitas.2009.09.011.

28. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone.* 1999;25(1):97-106. doi: 10.1016/s8756-3282(99)00116-7.

29. Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;142:155-70. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.008.

30. Radominski SC, Bernardo W, Paula AP, Albergaria BH, Moreira C, Fernandes CE, Castro CHM, Zerbini CAF, Domiciano DS, Mendonça LMC, Pompei LM, Bezerra MC, Loures MAR, Wender MCO, Lazaretti-Castro M, Pereira RMR, Maeda SS, Szejnfeld VL, Borba VZC. Brazilian guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2017;57 Suppl 2:452-66. doi: 10.1016/j.rbre.2017.07.001.

31. Black DM, Rosen CJ. Clinical practice. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2016;374(3):254-62. doi: 10.1056/NEJMc1513724.

32. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med*. 1995;332(5):305-11. doi: 10.1056/NEJM199502023320506.
33. Cooper C, Ferrari S, Reginster JY, Dawson Hughes B, Rizzoli R, Kanis J, Halbout P. IOF Compendium of Osteoporosis. 2nd ed. 2019 [citado 2022 nov 23]. Disponível em: <https://www.osteoporosis.foundation/educational-hub/files/iof-compendium-osteoporosis-2nd-edition>
34. Vilela-Carvalho LN, Tuany-Duarte N, Andrade-Figueiredo, M, López-Ortega K. Osteonecrosis de los maxilares relacionados con el uso de medicamentos: Diagnóstico, tratamiento y prevención. *CES Odontología*. 2019;31(2):48-63.
35. Anabtawi M, Tweedale H, Mahmood H. The role, efficacy and outcome measures for teriparatide use in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2021;50(4):501-10. doi: 10.1016/j.ijom.2020.07.021.
36. Zandi M, Dehghan A, Zandipoor N, Amini P, Doulati S. Effect of different doses and durations of teriparatide therapy on resolution of medication-related osteonecrosis of the jaw: A randomized, controlled preclinical study in rats. *J Craniomaxillofac Surg*. 2018;46(3):466-72. doi: 10.1016/j.jcms.2017.12.027.
37. Giro G. Avaliação radiográfica e biomecânica da influência da osteoporose induzida em ratas e seu tratamento com alendronato e estrógeno, sobre tecido ósseo ao redor de implantes com osseointegração estabelecida [tese]. Araraquara: Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP; 2006.
38. Watts NB. Bisphosphonate treatment of osteoporosis. *Clin Geriatr Med*. 2003;19(2):395-414. doi: 10.1016/s0749-0690(02)00069-1.
39. Wein MN, Kronenberg HM. Regulation of Bone Remodeling by Parathyroid Hormone. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8(8):a031237. doi: 10.1101/cshperspect.a031237.
40. Jilka RL. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. *Bone*. 2007;40(6):1434-46. doi: 10.1016/j.bone.2007.03.017.
41. Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, Dian L, Hanley DA, Harris ST, Kendler DL, McClung MR, Miller PD, Olszynski WP, Orwoll E, Yuen CK. Parathyroid hormone and

teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. *Endocr Rev.* 2005;26(5):688-703. doi: 10.1210/er.2004-0006.

42. Almagro MI, Roman-Blas JA, Bellido M, Castañeda S, Cortez R, Herrero-Beaumont G. PTH [1-34] enhances bone response around titanium implants in a rabbit model of osteoporosis. *Clin Oral Implants Res.* 2013;24(9):1027-34. doi: 10.1111/j.1600-0501.2012.02495.x.

43. Gulati K, Kogawa M, Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ, Losic D. Drug-releasing nano-engineered titanium implants: therapeutic efficacy in 3D cell culture model, controlled release and stability. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2016;69:831-40. doi: 10.1016/j.msec.2016.07.047.

44. Oteo-Álvaro Á, Matas JA, Alonso-Farto JC. Teriparatide (rh [1-34] PTH) improved osteointegration of a hemiarthroplasty with signs of aseptic loosening. *Orthopedics.* 2011;34(9):e574-7. doi: 10.3928/01477447-20110714-50.

45. Lee JJ, Cheng SJ, Jeng JH, Chiang CP, Lau HP, Kok SH. Successful treatment of advanced bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible with adjunctive teriparatide therapy. *Head Neck.* 2011;33(9):1366-71. doi: 10.1002/hed.21380

46. Tsai KY, Huang CS, Huang GM, Yu CT. More on the resolution of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *J Rheumatol.* 2010;37(3):675. doi: 10.3899/jrheum.091022.

47. Cheung A, Seeman E. Teriparatide therapy for alendronate-associated osteonecrosis of the jaw. *N Engl J Med.* 2010;363(25):2473-4. doi: 10.1056/NEJMc1002684.

48. Harper RP, 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.* 2007;65(3):573-80. doi: 10.1016/j.joms.2006.10.076.

49. Gomes-Ferreira PHS, Micheletti C, Frigério PB, de Souza Batista FR, Monteiro NG, Bim-Júnior O, Lisboa-Filho PN, Grandfield K, Okamoto R. PTH 1-34-functionalized bioactive glass improves peri-implant bone repair in orchietomized rats: Microscale and ultrastructural evaluation. *Biomater Adv.* 2022;134:112688. doi: 10.1016/j.msec.2022.112688.

50. Frigério PB, Gomes-Ferreira PHS, de Souza Batista FR, Moura J, Rangel Garcia Júnior I, Botticelli D, Lisboa-Filho PN, Okamoto R. Effect of Topical PTH 1-34 Functionalized to

Biogran® in the Process of Alveolar Repair in Rats Submitted to Orchiectomy. *Materials* (Basel). 2021;28;15(1):207. doi: 10.3390/ma15010207.

51. Erten Taysi A, Cevher E, Sessevmez M, Olgac V, Mert Taysi N, Atalay B. The efficacy of sustained-release chitosan microspheres containing recombinant human parathyroid hormone on MRONJ. *Braz Oral Res.* 2019;33:e086. doi: 10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0086.

52. Palermo A, Tuccinardi D, D'Onofrio L, Watanabe M, Maggi D, Maurizi AR, Greto V, Buzzetti R, Napoli N, Pozzilli P, Manfrini S. Vitamin K and osteoporosis: myth or reality? *Metabolism.* 2017;70:57-71. doi: 10.1016/j.metabol.2017.01.032.

53. Fusaro M, Cianciolo G, Brandi ML, Ferrari S, Nickolas TL, Tripepi G, Plebani M, Zaninotto M, Iervasi G, La Manna G, Gallieni M, Vettor R, Aghi A, Gasperoni L, Giannini S, Sella S, M Cheung A. Vitamin K and Osteoporosis. *Nutrients.* 2020;12(12):3625. doi: 10.3390/nu12123625.

54. Mott A, Bradley T, Wright K, Cockayne ES, Shearer MJ, Adamson J, Lanham-New SA, Torgerson DJ. Effect of vitamin K on bone mineral density and fractures in adults: an updated systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Osteoporos Int.* 2019;30(8):1543-1559. doi: 10.1007/s00198-019-04949-0.

55. Adams J, Pepping J. Vitamin K in the treatment and prevention of osteoporosis and arterial calcification. *Am J Health Syst Pharm.* 2005;62(15):1574-81. doi: 10.2146/ajhp040357.

56. Myneni VD, Mezey E. Regulation of bone remodeling by vitamin K2. *Oral Dis.* 2017;23(8):1021-8. doi: 10.1111/odi.12624.

57. Rangel LBA, de Siqueira D, Soares ODR, Santana HS, Miguel EC, da Cunha M, Oliveira ALA, Pedrosa DF, Resgala LCR, Neto HAR, Gomes-Rochette NF, Eis SR, Graceli JB, Silva IV. Vitamin K Supplementation Modulates Bone Metabolism and Ultra-Structure of Ovariectomized Mice. *Cell Physiol Biochem.* 2018;51(1):356-74. doi: 10.1159/000495234.

58. Matsumoto Y, Mikuni-Takagaki Y, Kozai Y, Miyagawa K, Naruse K, Wakao H, Kawamata R, Kashima I, Sakurai T. Prior treatment with vitamin K(2) significantly improves the efficacy of risedronate. *Osteoporos Int.* 2009;20(11):1863-72. doi: 10.1007/s00198-009-0888-z.

59. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Role of vitamin K2 in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Curr Drug Saf.* 2006;1(1):87-97. doi: 10.2174/157488606775252629.
60. Iwamoto J, Takada T, Sato Y. Vitamin K nutritional status and undercarboxylated osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women treated with bisphosphonates. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2014;23(2):256-62. doi: 10.6133/apjcn.2014.23.2.15.
61. Hamidi MS, Gajic-Veljanoski O, Cheung AM. Vitamin K and bone health. *J Clin Densitom.* 2013;16(4):409-13. doi: 10.1016/j.jocd.2013.08.017.
62. de Oliveira D, Hassumi JS, Gomes-Ferreira PH, Polo TO, Ferreira GR, Faverani LP, Okamoto R. Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone quality in osteoporotic animals. *J. Appl Oral Sci.* 2017;25(1):42–52. doi: 10.1590/1678-77572016-0165.
63. Gomes-Ferreira PHS, de Oliveira D, Frigério PB, de Souza Batista FR, Grandfield K, Okamoto R. Teriparatide improves microarchitectural characteristics of peri-implant bone in orchietomized rats. *Osteoporos Int.* 2020;31(9):1807-15. doi: 10.1007/s00198-020-05431-y.
64. Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Prado FB, Garcia IR Jr, Okamoto R. Raloxifene enhances peri-implant bone healing in osteoporotic rats. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2015;44(6):798-805. doi: 10.1016/j.ijom.2015.02.018.
65. Faverani LP, Polo TOB, Ramalho-Ferreira G, Momesso GAC, Hassumi JS, Rossi AC, Freire AR, Prado FB, Luvizuto ER, Gruber R, Okamoto R. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. *Clin Oral Investig.* 2018;22(1):255-65. doi: 10.1007/s00784-017-2106-2.
66. Pogrel MA, Ruggiero SL. Previously successful dental implants can fail when patients commence anti-resorptive therapy-a case series. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2018;47(2):220-2. doi: 10.1016/j.ijom.2017.07.012.
67. Goss A, Bartold M, Sambrook P, Hawker P. The nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in dental implant patients: a South Australian case series. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010;68(2):337-43. doi: 10.1016/j.joms.2009.09.037.
68. Oliveira D, Hassumi JS, Gomes-Ferreira PH, Polo TO, Ferreira GR, Faverani LP, Okamoto R. Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone

quality in osteoporotic animals. *J Appl Oral Sci.* 2017;25(1):42-52. doi: 10.1590/1678-77572016-0165.

69. de Oliveira Puttini I, Gomes-Ferreira PHDS, de Oliveira D, Hassumi JS, Gonçalves PZ, Okamoto R. Teriparatide improves alveolar bone modelling after tooth extraction in orchietomized rats. *Arch Oral Biol.* 2019;102:147-54. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.04.007.

70. Shi Q, Qian Z, Liu D, Liu H. Surface Modification of Dental Titanium Implant. *Front. Physiol.* 2017;8. doi: 10.3389/fphys.2017.00574

71. Kitagawa IL, Miyazaki CM, Pitol-Palin L, Okamoto R, de Vasconcellos LMR, Constantino CJL, Lisboa-Filho PN. Titanium-based alloy surface modification with TiO₂ and Poly (sodium 4-styrenesulfonate) multilayers for dental implants. *Applied Biomaterials.* 2021; 4,3055–3066. Doi: 0.1021/acsabm.0c01348

72. Sarkar N, Bose S. Controlled Delivery of Curcumin and Vitamin K₂ from Hydroxyapatite-Coated Titanium Implant for Enhanced in Vitro Chemoprevention, Osteogenesis, and in Vivo Osseointegration. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020;12(12):13644-13656. doi: 10.1021/acsami.9b22474.

73. Hernandez-Montelongo J, Corrales Ureña YR, Machado D, Lancelloti M, Pinheiro MP, Rischka K, Lisboa-Filho PN, Cotta MA. Electrostatic immobilization of antimicrobial peptides on polyethylenimine and their antibacterial effect against *Staphylococcus epidermidis*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2018;164:370-8. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.02.002.

74. Trino LD, Dias LFG, Albano LGS, Bronze-Uhele ES, Rangel EC, Graeff CFO, Lisboa-Filho PN. Zinc oxide surface functionalization and related effects on corrosion resistance of titanium implants. *Ceramics International.* 2018;44(4):4000-8. doi: 10.1016/j.ceramint.2017.11.195.

75. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. *Princípios de análise instrumental*, Porto Alegre: Bookman, 2009.

76. Long JA, Evans HM. *The oestrus cycle in the rat and its related phenomena*. Berkeley: University of California Press; 1922.

77. Sayed AA, Soliman AM, Fahmy SR, Marzouk, M. Antiosteoporotic effect of *Coelatura aegyptiaca* shell powder on ovariectomized rats. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2013;7(34):2406-16. doi: 10.5897/AJPP2013.3817.

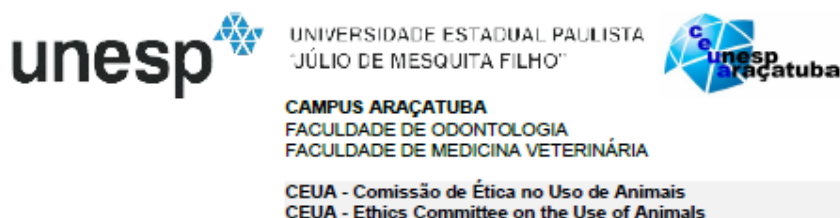
78. Oliveira de D, Hassumi JS, Gomes-Ferreira PHS, Polo TOB, Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Okamoto R. Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone quality in osteoporotic animals. *J. Appl. Oral Sci.* 2017;25(1). doi: 10.1590/1678-77572016-0165
79. Bouxsein ML, Boyd SK, Christiansen BA, Guldberg RE, Jepsen KJ, Müller R. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *J Bone Miner Res.* 2010;25(7):1468-86. doi: 10.1002/jbmr.141.
80. Wactawski-Wende J, Hausmann E, Hovey K, Trevisan M, Grossi S, Genco RJ. The association between osteoporosis and alveolar crestal height in postmenopausal women. *J Periodontol.* 2005;76(11 Suppl):2116-24. doi: 10.1902/jop.2005.76.11-S.2116.
81. Epidemiology of osteoporosis and fragility fractures. International Osteoporosis Foundation. Disponível em: <https://www.osteoporosis.foundation/facts-statistics/epidemiology-of-osteoporosis-and-fragility-fractures>. Acesso em: 07 de janeiro de 2023.
82. Beppu K, Kido H, Watazu A, Teraoka K, Matsuura M. Peri-implant bone density in senile osteoporosis-changes from implant placement to osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2013;15(2):217-26. doi: 10.1111/j.1708-8208.2011.00350.x.
83. Marco F, Milena F, Gianluca G, Vittoria O. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron.* 2005;36(7-8):630-44. doi: 10.1016/j.micron.2005.07.008.
84. Tolstunov L. Dental implant success-failure analysis: a concept of implant vulnerability. *Implant Dent.* 2006;15(4):341-6. doi: 10.1097/01.id.0000239333.24384.5d.
85. Tsolaki IN, Madianos PN, Vrotsos JA. Outcomes of dental implants in osteoporotic patients. A literature review. *J Prosthodont.* 2009;18(4):309-23. doi: 10.1111/j.1532-849X.2008.00433.x.
86. Keller JC, Stewart M, Roehm M, Schneider GB. Osteoporosis-like bone conditions affect osseointegration of implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2004;19(5):687-94.
87. Smargiassi A, Bertacchini J, Checchi M, Potì F, Tenedini E, Montosi G, Magarò MS, Amore E, Cavani F, Ferretti M, Grisendi G, Maurel DB, Palumbo C. WISP-2 expression induced by Teriparatide treatment affects in vitro osteoblast differentiation and improves in vivo osteogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2020;513:110817. doi: 10.1016/j.mce.2020.110817.

88. Srivastava M, Deal C. Osteoporosis in elderly: prevention and treatment. *Clin Geriatr Med.* 20020;18(3):529-55. doi: 10.1016/s0749-0690(02)00022-8.
89. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone.* 2011;49(1):2-19. doi: 10.1016/j.bone.2011.04.022.
90. Takagi Y, Sumi Y, Harada A. Osteonecrosis associated with short-term oral administration of bisphosphonate. *J Prosthet Dent.* 2009;101(5):289-92. doi: 10.1016/S0022-3913(09)00049-3.
91. 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 Res.* 2002;15;62(22):6538-44.
92. 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 Endod.* 2007;103(6):780-6. doi: 10.1016/j.tripleo.2006.10.010.
93. Yamaguchi M, Sugimoto E, Hachiya S. Stimulatory effect of menaquinone-7 (vitamin K2) on osteoblastic bone formation in vitro. *Mol Cell Biochem.* 2001;223(1-2):131-7. doi: 10.1023/a:1017930931736.
94. Ozeki K, Aoki H, Fukui Y. The effect of adsorbed vitamin D and K to hydroxyapatite on ALP activity of MC3T3-E1 cell. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(4):1753-7. doi: 10.1007/s10856-007-3288-y.

Anexos

ANEXOS

Anexo A – Comitê de Ética



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Impacto da administração tardia de bifosfonato oral sobre o processo de reparo peri-implantar em ratas osteopênicas: a funcionalização da superfície dos implantes pode melhorar esta resposta?"**, Processo FOA nº 0478-2021, 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 2021.

VALIDADE DESTES CERTIFICADO: 05 de Agosto de 2024.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 05 de Setembro de 2024.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Impact of late administration of oral biphosphonate on perimplantar repair process in osteopenic rats. Can the implant's functionalization act favorably on this response?"**, Protocol FOA nº 0478-2021, 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, 2021.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: August 05, 2024.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: September 05, 2024.


Prof. Associado João Carlos Callera
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