

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/03/2024.



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



MIRELA CAROLINE SILVA

Avaliação da aplicação de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e óleo ozonizado na prevenção da osteonecrose dos maxilares em ratas senescentes tratadas com Zoledronato

Araçatuba

2023

MIRELA CAROLINE SILVA

Avaliação da aplicação de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e óleo ozonizado na prevenção da osteonecrose dos maxilares em ratas senescentes tratadas com Zoledronato

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 Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.
Orientador: Prof. Assoc. Leonardo Perez Faverani

Araçatuba

2023

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Silva, Mirela Caroline.

S586a Avaliação da aplicação de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e óleo ozonizado na prevenção da osteonecrose dos maxilares em ratas senescentes tratadas com Zoledronato

/ Mirela Caroline Silva. – Araçatuba, 2023

44 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Leonardo Perez Faverani

1. Osteonecrose 2. Ozônio 3. Fotoquimioterapia
I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

*A Deus e a toda minha família, por serem
meus alicerces em cada passo de minha
jornada e por tanto me apoiarem e
ensinarem.*

AGRADECIMENTOS

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

Ao meu orientador, **Prof. Assoc. Leonardo Perez Faverani**, por ser além de orientador, um amigo na caminhada da CTBMF. Por todas as oportunidades, convivência e por todo carinho sempre. O senhor é uma grande referência dentro da área e, para mim, não poderia ser diferente. Certamente a convivência e a parceria com o senhor ao longo destes anos foi/é um grande privilégio para mim.

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

A **Deus**, meu Companheiro, meu Amigo, meu Pai. Quem plantou em mim um sonho que, à princípio parecia impossível, mas teve o carinho e Amor de me preparar. Por me acolher nos momentos difíceis e sonhar comigo cada passo da minha história. Por ser Ele.

À **Nossa Senhora Aparecida**, minha Mãezinha, quem tanto cuida de mim; por toda intercessão, por todo amor e ajuda nos momentos de dificuldade.

A **meus pais**, Walquiria e Marcos Silva, por me apoiarem infinitamente em todos os caminhos que eu trilho, por me auxiliarem de uma forma única e por serem meus alicerces. Sem vocês nada seria possível.

À **minha avó**, Tereza O. de Souza, minha base além da vida. Por toda intercessão junto a Deus e todos seus anjos em meu caminho, por representar a força e amor desde o início.

À **minha irmã**, Andressa, meu maior presente. Por me ajudar nos momentos mais difíceis e me apoiar.

A **meus avós paternos**, Nilva e José Silva, por serem inspirações na minha vida, por sempre torcerem por mim nessa caminhada e estarem comigo.

À **minha tia**, Regiane Simili, pelo apoio e cuidado comigo desde criança. Por todo auxílio e por ser inspiração em minha caminhada.

A **meus tios e tias**, Janete, Adriano e Laiane Silva, por todo apoio e torcida em cada momento. São reais inspirações para minha vida.

A **minhas tias-avós**, Lourdes Nasche, Vera Lima e Sueli Oliveira, pessoas maravilhosas que sempre me apoiaram e torceram por mim.

As **minhas amigas** que estão comigo desde o início da graduação, Bia Sanchez, Ana Carolina Ribeiro, Stéfani Ferriolli, por representarem parte da minha família em Araçatuba, me apoiarem neste desafio que foi o Mestrado e por se fazerem sempre presente.

A **Fernanda Camilo e Ana Maira Baggio**, por serem a outra parte da minha família em Araçatuba, pelos 7 anos de convívio no apartamento 145. Obrigada por tornar cada momento de desafio mais leve, pelo auxílio em cada fase desses dois anos e por permanecerem sempre ali.

A meus amigos da pós-graduação, **João Matheus Fonseca e Santos, Stefany Barbosa**, meus companheiros que estiveram comigo em cada etapa deste trabalho, por toda ajuda e convivência.

Ao graduando, **Gustavo Ribeiro**, o qual também esteve comigo em cada momento deste trabalho. Tenho muito orgulho de nossa parceria, saiba que sempre poderá contar comigo.

A todos os professores da Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP), que contribuíram para essa formação. Em especial, à **Profa. Assoc. Ana Paula Farnezi Bassi**, minha orientadora de IC, por todo auxílio também durante toda caminhada do Mestrado. A senhora é uma das minhas maiores referências dentro da CTBMF, sou muito grata por toda convivência e ensinamentos ao longo destes anos.

A todos professores que foram imprescindíveis para este trabalho, em especial, **Prof. Assoc. Edilson Ervolino e Profa. Assoc. Cecilia Luiz Pereira Stabile**, por concordarem em fazer parte da minha banca e auxiliarem de modo tão precioso na execução e finalização deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma com esse título.

*“O sucesso é a soma de pequenos esforços
repetidos dia após dia”*

Robert Collier

SILVA, MC. Avaliação da aplicação de terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e óleo ozonizado na prevenção da osteonecrose dos maxilares em ratas senescentes tratadas com Zoledronato. 2023. 44 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

A osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos (MRONJ) é uma condição que apresenta patogênese ainda não totalmente esclarecida e, por isso, sem um protocolo de tratamento bem consagrado. Nesse sentido, terapias locais adjuvantes como a ozonioterapia e a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) podem apresentar o potencial de otimizar o reparo tecidual e assim, apresentar resultados promissores na prevenção dessas lesões. O objetivo desse projeto foi avaliar o potencial do sinergismo na aplicação das duas terapias na prevenção de MRONJ em ratas senis tratadas com Zoledronato. Para tanto, 50 ratas senis (18 meses) foram divididas em 5 grupos experimentais (n=7). Grupo VEI os animais foram submetidos a aplicações de solução de cloreto de sódio 0,9% e grupo ZOL aplicação de Zoledronato 100µg/kg, ambos via intraperitoneal a cada 3 dias durante 7 semanas, sem terapia local; grupo ZOL+aPDT recebeu aplicação de Zoledronato seguindo o mesmo protocolo e terapia de aPDT aplicada no alvéolo nos períodos de 0, 2 e 4 dias pós operatórios, sendo inicialmente aplicado azul de metileno (100µg/ml) com tempo de pré irradiação de 60 segundos e, em seguida, irradiação com laser de baixa potência utilizando um dispositivo a laser InGaAlP com spot de tamanho de 0,0283 cm², obedecendo aos seguintes parâmetros: 35 Mw; 2,1 J/ponto de 60s; 74,2 J/cm²; 1,23 W/cm²; o grupo ZOL+OZN que recebeu aplicação de Zoledronato e terapia local de óleo de girassol ozonizado (600 mEq/kg) em concentração de 0,3 mg/kg, durante 2 minutos nos períodos de 0, 2 e 4 dias pós operatório e, por fim, o grupo ZOL+aPDT+OZN que recebeu aplicação de Zoledronato e as terapias de aPDT e ozonioterapia seguindo os mesmos protocolos. A eutanásia foi realizada na sétima semana de experimento, 28 dias após a exodontia do primeiro molar inferior. Na histometria, as terapias associadas apresentaram maiores regiões de tecido ósseo neoformado em comparação aos grupos ZOL e ZOL+OZN (p<0,05), seguido do grupo ZOL+aPDT em comparação aos grupos VEI e ZOL. Todos os grupos que receberam as terapias, associadas ou não, apresentaram menores regiões de tecido ósseo não vital comparadas ao grupo ZOL (p<0,05). Qualitativamente, a histologia evidenciou osteócitos na matriz extracelular de tecido ósseo em formação. Dessa forma, pode-se concluir que as terapias apresentaram efeitos sinérgicos na prevenção de MRONJ.

Palavras-chave: Osteonecrose; Ozônio; Fotoquimioterapia.

SILVA, MC. Evaluation of the application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and ozonized oil in the prevention of osteonecrosis of the jaws in senescent female rats treated with Zoledronate. 2023. 44 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Medication-induced osteonecrosis of the jaws (MRONJ) is a condition whose pathogenesis is still not fully understood and, therefore, without a well-established treatment protocol. In this sense, adjuvant local therapies such as ozone therapy and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) may have the potential to optimize tissue repair and thus show promising results in the prevention of these injuries. The objective of this project was to evaluate the potential of synergism in the application of the two therapies in the prevention of MRONJ in senile female rats treated with Zoledronate. For this purpose, 50 senile female rats (18 months old) were divided into 5 experimental groups (n=7). In the VEI group, the animals were submitted to applications of 0.9% sodium chloride solution and in the ZOL group, application of Zoledronate 100µg/kg, both intraperitoneally every 3 days for 7 weeks, without local therapy; the ZOL+aPDT group received Zoledronate application following the same protocol and aPDT therapy applied in the alveolus in the periods of 0, 2 and 4 days postoperatively, initially applying methylene blue (100µg/ml) with a pre-irradiation time of 60 seconds and then low power laser irradiation using an InGaAlP laser device with a spot size of 0.0283 cm², obeying the following parameters: 35 Mw; 2.1 J/60s point; 74.2 J/cm²; 1.23 W/cm²; the ZOL+OZN group that received application of Zoledronate and local therapy of ozonized sunflower oil (600 mEq/kg) at a concentration of 0.3 mg/kg, for 2 minutes in the periods of 0, 2 and 4 days postoperatively and, finally, the ZOL+aPDT+OZN group that received Zoledronate application and the aPDT and ozone therapy therapies following the same protocols. Euthanasia was performed in the seventh week of the experiment, 28 days after extraction of the lower first molar. In histometry, the associated therapies showed larger regions of newly formed bone tissue compared to the ZOL and ZOL+OZN groups (p<0.05), followed by the ZOL+aPDT group compared to the VEI and ZOL groups. All groups that received the therapies, associated or not, had smaller regions of non-vital bone tissue compared to the ZOL group (p<0.05). Qualitatively, histology showed osteocytes in the extracellular matrix of bone tissue in formation. Thus, it can be concluded that the therapies had synergistic effects in the prevention of MRONJ.

Keywords: Osteonecrosis; Ozone; Photochemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – (A) Instalação da ligadura de algodão no 1º molar inferior esquerdo. (B) Periodontite induzida pela ligadura de algodão em posição na 3ª semana após inserção. 18
- FIGURA 2 – Procedimento de exodontia do primeiro molar inferior esquerdo. (A) Luxação do dente. (B) Alvéolo logo após a extração. 19
- FIGURA 3 – (A) Aplicação de azul de metileno 100ug/ml por 60 segundos prévios, como fotossensibilizador. (B) Aplicação do laser de baixa potência InGaAlP de 600nm perpendicular à área de aplicação. 20
- FIGURA 4 – (A e B) Aplicação do óleo de girassol ozonizado em cureta de Molt em alveólo após exodontia. 21
- 22
- FIGURA 5 – Linha do tempo evidenciando a ordem cronológica dos principais eventos do desenho experimental em animais. 23
- FIGURA 6 – Aspecto histológico do interior do sítio de extração dental aos 28 dias pós-operatórios. (a – e) Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do tecido ósseo e do tecido conjuntivo no sítio de extração dental aos 28 dias pós-operatórios em VEI (a), ZOL (b), ZOL-aPDT (c), ZOL-OZN (d), ZOL-aPDT-OZN (e). Abreviações e símbolos: asteriscos, biofilme com restos necróticos e bactérias; tc, tecido conjuntivo; to, tecido ósseo; tonv, tecido ósseo não vital. Aumento original: 200x. Barras de escala: 100 µm. Coloração: Hematoxilina e Eosina (H&E). 28
- FIGURA 7 – Aspecto histológico do tecido ósseo situado nas adjacências do sítio de extração dental aos 28 dias pós-operatórios. (a – e) Fotomicrografias evidenciando o aspecto histológico do tecido ósseo e do tecido conjuntivo no sítio de extração dental aos 28 dias pós-operatórios em VEI (a), ZOL (b), ZOL-aPDT (c), ZOL-Ozn (d), ZOL-aPDT-Ozn (e). Abreviações e símbolos: asteriscos, biofilme com restos necróticos e bactérias; setas pretas, lacunas contendo osteócitos; setas vermelhas, lacunas vazias ou contendo remanescentes 29

celulares. Aumento original: 200x. Barras de escala: 100 µm. Coloração: Hematoxilina e Eosina (H&E).

FIGURA 8 - Porcentagem de tecido ósseo neoformado (TONF) no sítio 30
de extração dental aos 28 dias pós exodontia. Testes estatísticos:
Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-teste de Tukey.
Símbolos: a, diferença estatisticamente significativa em relação ao
grupo VEI; b, diferença estatisticamente significativa em relação ao
grupo ZOL; c, diferença estatisticamente significativa em relação ao
grupo ZOL-aPDT; d, diferença estatisticamente significativa em relação
ao grupo ZOL-OZN.

FIGURA 9 – Porcentagem de tecido ósseo não vital (TONV) nas 31
adjacências do sítio de extração dental aos 28 dias pós exodontia.
Testes estatísticos: Shapiro-Wilk, Análise de Variância (ANOVA) e pós-
teste de Tukey. Símbolos: a, diferença estatisticamente significativa em
relação ao grupo VEI; b, diferença estatisticamente significativa em
relação ao grupo ZOL; c, diferença estatisticamente significativa em
relação ao grupo ZOL-aPDT; d, diferença estatisticamente significativa
em relação ao grupo ZOL-OZN.

LISTA DE SIGLAS

AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons
aPDT	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana
CVEI	Grupo controle Salina
CZOL	Grupo controle Zoledronato
IP	Índice de peróxido.
mEq/kg	Miliequivalente por quilo
MRONJ	Osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos
OZN	Ozônio
PVPI	Iodopovidona
TONF	Tecido ósseo neoformado
TONV	Tecido ósseo não vital
ZOL	Zoledronato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO.....	14
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4 RESULTADOS	24
5 DISCUSSÃO	28
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXOS	35

1 INTRODUÇÃO

A osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos (MRONJ) é uma condição definida pela “American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons” (AAOMS) como a presença de tecido ósseo exposto na região maxilofacial por um período de mais de oito semanas em pacientes submetidos a terapias utilizando antirreabsortivos e antiangiogênicos e sem histórico de radioterapia na região de cabeça e pescoço e doenças metastáticas (1-3). O Zoledronato constitui um dos principais medicamentos envolvidos nessa condição e é o mais potente dos bifosfonatos, utilizado para tratamento de osteoporose e osteopenias, doença de Paget e para prevenção de metástases ósseas (1, 3, 4).

A ação dos bifosfonatos se baseia em sua intensa afinidade à hidroxiapatita e atuação específica a inibição da via do mevalonato nos osteoclastos, resultando na inibição do início do processo de remodelação óssea. Secundariamente, ocorre uma citotoxicidade nos tecidos moles através da interferência na migração de fibroblastos e ação antiangiogênica, o que leva a um atraso no processo de reparo e aumento na suscetibilidade às infecções, pela deficiência na resposta imune local (1, 5-7).

O fator de risco mais associado a MRONJ foi relatado por McGowan et al. (2017) como sendo a extração dentária, porém sabe-se que qualquer procedimento odontológico que requeira uma demanda metabólica óssea maior pode preceder o início de MRONJ (5, 8, 9). Fatores secundários como a presença de comorbidades sistêmicas associadas a dificuldade de reparo tecidual, como a diabetes mellitus e demais alterações metabólicas, podem desempenhar um importante papel para o início da doença (9, 10). Nesse sentido ainda, a senescência também se mostra um fator importante a ser considerado quanto ao metabolismo ósseo, justamente pelo comprometimento fisiológico do tecido, queda na homeostase e quadro natural de osteopenia e osteoporose, o que torna relevante a utilização dessa metodologia no experimento animal proposto por esta pesquisa (10-12).

Por apresentar uma etiopatogenia multifatorial, o que dificulta o tratamento das lesões patológicas, o manejo de MRONJ torna-se um desafio. As abordagens de tratamento descritas na literatura se baseiam no estadiamento

da doença e vão desde um tratamento conservador em estágios menos avançados a procedimentos cirúrgicos invasivos. Ervolino et al. (2019) e Monteiro et al. (2021) mostraram resultados preliminares relevantes no tocante a terapias adjuvantes à MRONJ com finalidade de contenção da MRONJ e favorecer o reparo dos tecidos moles (2, 13, 14).

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) consiste na aplicação de um fotossensibilizador o qual é absorvido seletivamente por células microbianas que são altamente sensíveis à excitação por um determinado comprimento de onda de luz. O uso de faz com que os níveis de espécies reativas ao oxigênio aumentem, o que torna o ambiente altamente citotóxico à organismos microbianos. Além da ação antimicrobiana, o uso de laser de baixa potência promove fotobiomodulação na resposta inflamatória tecidual, permite angiogênese e aumento da atividade celular (2, 13, 15).

O ozônio (O₃) se apresenta na natureza como uma molécula gasosa com estrutura cíclica, que clinicamente, além da forma gasosa, pode ser utilizado dissolvido em soluções ou em forma de óleo. A suspensão oleosa do ozônio tem sido foco no que se diz respeito a cicatrização de feridas devido sua atuação na geração de fatores de crescimento e ação antioxidante local, auxiliando na promoção do reparo tecidual (12, 16-19). Xiao et al. (2017) observou que a terapia com óleo ozonizado acelerou o processo de reparo alveolar através da regulação das funções dos fibroblastos pelo aumento de genes críticos, incluindo o colágeno tipo I. O que corroborou com o estudo realizado por Monteiro et al. (2021) que avaliou o uso do óleo ozonizado na prevenção das lesões em MRONJ e encontrou resultados positivos na análise histológica do tecido ósseo.

O aPDT já tem sido aplicado na clínica odontológica para tratamento adjuvante de diversas condições, porém necessita de maior aprofundamento no tocante a aplicação em lesões de MRONJ (2, 13). Enquanto que a ozonioterapia local tem apresentado estudos pré-clínicos com bons resultados na prevenção e tratamento dessas lesões (16). Diante disso, se torna bastante relevante o estudo em modelo animal de ambas a terapias, como forma de avaliar sua aplicabilidade local separadamente e em associação, em busca de resultados eficientes quanto a reparação óssea e de tecido mole.

REFERÊNCIAS

1. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw—2014 update. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2014;72(10):1938-56.
2. Statkiewicz C, Toro LF, de Mello-Neto JM, de Sá DP, Casatti CA, Issa JPM, et al. Photomodulation multiple sessions as a promising preventive therapy for medication-related osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2018;184:7-17.
3. Ruggiero SL, Dodson TB, Aghaloo T, Carlson ER, Ward BB, Kademani D. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw—2022 Update. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2022.
4. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2004;62(5):527-34.
5. de-Freitas N-R, Lima L-B, de-Moura M-B, Veloso-Guedes C-d-C-F, Simamoto-Júnior P-C, de-Magalhães D. Bisphosphonate treatment and dental implants: A systematic review. *Medicina oral, patologia oral y cirugía bucal*. 2016;21(5):e644.
6. Marx RE, Cillo Jr JE, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2007;65(12):2397-410.
7. Mendes V, Dos Santos G, Calasans-Maia M, Granjeiro J, Moraschini V. Impact of bisphosphonate therapy on dental implant outcomes: An overview of systematic review evidence. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2019;48(3):373-81.
8. Aljohani S, Fliefel R, Ihbe J, Kühnisch J, Ehrenfeld M, Otto S. What is the effect of anti-resorptive drugs (ARDs) on the development of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) in osteoporosis patients: A systematic review. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017;45(9):1493-502.
9. McGowan K, McGowan T, Ivanovski S. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaws: A systematic review. *Oral Diseases*. 2018;24(4):527-36.
10. Gómez Font R, Martínez García ML, Olmos Martínez JM. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments: update. 2008.
11. Otto S, Schnödt EM, Haidari S, Brunner TF, Aljohani S, Mosleh M, et al. Autofluorescence-guided surgery for the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): A retrospective single-center study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2021;131(5):519-26.
12. Toker H. The effects of allograft combined with ozone therapy on regeneration of calvarial defects in rats. *Cumhuriyet Dental Journal*. 2016;19(3):205-13.
13. Ervolino E, Statkiewicz C, Toro LF, de Mello-Neto JM, Cavazana TP, Issa JPM, et al. Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*. 2019;120:101-13.

14. Heifetz-Li JJ, Abdelsamie S, Campbell CB, Roth S, Fielding AF, Mulligan JP. Systematic review of the use of pentoxifylline and tocopherol for the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2019;128(5):491-7. e2.
15. Momesso GAC, Lemos CAA, Santiago-Júnior JF, Faverani LP, Pellizzer EP. Laser surgery in management of medication-related osteonecrosis of the jaws: a meta-analysis. *Oral and maxillofacial surgery*. 2020;24(2):133-44.
16. Monteiro C, Vieira E, Emerick C, Azevedo R, Pascoal V, Homsí N, et al. Ozonated oil effect for prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) in rats undergoing zoledronic acid therapy. *Clinical Oral Investigations*. 2021:1-7.
17. Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K, Li L, et al. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Bioscience reports*. 2017;37(6).
18. Ripamonti CI, Cislághi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O₃) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I–II study. *Oral oncology*. 2011;47(3):185-90.
19. Lim Y, Lee H, Woodby B, Valacchi G. Ozonated oils and cutaneous wound healing. *Current Pharmaceutical Design*. 2019;25(20):2264-78.
20. Toro LF, de Mello-Neto JM, Dos Santos FFV, Ferreira LC, Statkiewicz C, Cintra LTÂ, et al. Application of Autologous Platelet-Rich Plasma on Tooth Extraction Site Prevents Occurrence of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws in Rats. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-15.
21. Aghaloo T, Hazboun R, Tetradis S. Pathophysiology of osteonecrosis of the jaws. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics*. 2015;27(4):489-96.
22. Song M, Alshaiikh A, Kim T, Kim S, Dang M, Mehrazarin S, et al. Preexisting periapical inflammatory condition exacerbates tooth extraction–induced bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw lesions in mice. *Journal of endodontics*. 2016;42(11):1641-6.
23. Thumbigere-Math V, Michalowicz BS, Hodges JS, Tsai ML, Swenson KK, Rockwell L, et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Journal of periodontology*. 2014;85(2):226-33.
24. Erdemci F, Gunaydin Y, Sencimen M, Bassorgun I, Ozler M, Oter S, et al. Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 2014;43(6):777-83.
25. Kan B, Sencimen M, Bayar GR, Korkusuz P, Coskun AT, Korkmaz A, et al. Histomorphometric and microtomographic evaluation of the effects of hyperbaric oxygen and systemic ozone, used alone and in combination, on calvarial defect healing in rats. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2015;73(6):1231. e1-. e10.
26. Guiati IZ. Avaliação do emprego da curcumina associada ao diodo emissor de luz durante o reparo alveolar em ratas com alto risco para osteonecrose dos maxilares. 2022.
27. Zavras AI, Zhu S. Bisphosphonates are associated with increased risk for jaw surgery in medical claims data: is it osteonecrosis? *Journal of oral and maxillofacial surgery*. 2006;64(6):917-23.

28. Fitzpatrick SG, Stavropoulos MF, Bowers LM, Neuman AN, Hinkson DW, Green JG, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws in 3 osteoporotic patients with history of oral bisphosphonate use treated with single yearly zoledronic acid infusion. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2012;70(2):325-30.
29. Khan AA, Morrison A, Hanley DA, Felsenberg D, McCauley LK, O'Ryan F, et al. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2015;30(1):3-23.
30. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. *Mediators of Inflammation* 2010. Article ID.610418.
31. Valacchi G, De Luca C, Wertz PW. *Lipid mediators in skin inflammation: updates and current views*. Hindawi; 2010.
32. Ribeiro MS, Zezell DM. *Laser de baixa intensidade. A Odontologia e o laser São Paulo: Quintessense*. 2004.