



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

NATHÁLIA MATOS TINTI DE FARIAS

**Avaliação da pasta de metronidazol a 10% e lidocaína a 2%
com ozonioterapia para o tratamento de osteonecrose dos
maxilares induzida por Zoledronato após exodontia em
ratas ovariectomizadas**

Araçatuba - SP
2025

NATHÁLIA MATOS TINTI DE FARIAS

**Avaliação da pasta de metronidazol a 10% e lidocaína a 2%
com ozonioterapia para o tratamento de osteonecrose dos
maxilares induzida por Zoledronato após exodontia em
ratas ovariectomizadas**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentada à Universidade Estadual
Paulista (UNESP), Faculdade de
Odontologia de Araçatuba, para obtenção
do título de Cirurgiã(o)-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula
Farnezi Bassi

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Perez
Faverani

Araçatuba - SP
2025

Dedico este trabalho à minha família, em especial à minha irmã que sempre acreditou em mim e à minha mãe que, mesmo com a maré forte, nunca parou de remar, e hoje chegamos à terra firme. Para sempre nós três.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2022/10964-6.

Aos professores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOA/UNESP) pela formação que me proporcionaram durante esses anos.

À minha orientadora, professora Ana Paula Farnezi Bassi, por todas as oportunidades e ensinamentos durante todos esses anos. Foi uma honra ter sido orientada pela senhora, serei eternamente grata.

À todos do time Faverani-Bassi pelo auxílio durante a iniciação científica, em especial à Izabela, Arthur, Douglas, Ana Maira e Vinícius que dedicaram o tempo deles trabalhando ativamente neste projeto e que sem eles nada disso seria possível.

Agradeço a todos os amigos que fiz nessa trajetória, vocês podem contar comigo para todo sempre, em especial à Carolina, Fernanda e Heloísa, por todas as risadas e memórias que guardarei para sempre.

À todos os meus amigos de Mirandópolis, que apesar da distância física estiveram presentes nos momentos difíceis dessa jornada.

À minha dupla, Rafaela, por estar comigo desde o começo das clínicas e me ajudar em todos os momentos. Obrigada pelo carinho com nossos pacientes, companheirismo, dedicação e amizade.

À minha avó, Narciza, por todo amor e dedicação com nossa família e comigo.

À minha tia, Ana, que sempre me incentivou a correr atrás dos meus sonhos.

Ao meu padrasto, Maurício, que é um pai para mim, e, apesar de nossas diferenças, cuida de mim como se fosse sua filha.

À minha irmã, Hortência, por sempre estar do meu lado me aconselhando e ser meu porto seguro.

À minha mãe, Mônica, por nunca ter medido esforços para poder ver suas filhas felizes e, assim como minha irmã, acreditou em mim, e nesse sonho, quando eu mesma não acreditava mais. Essa conquista é nossa!

“Só se vê bem com o coração, o
essencial é invisível aos olhos.”

Antoine de Saint-Exupéry

FARIAS, N. M. T. **Avaliação da pasta de metronidazol a 10% e lidocaína a 2% com ozonioterapia para o tratamento de osteonecrose dos maxilares induzida por Zoledronato após exodontia em ratas ovariectomizadas.** 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

RESUMO

A osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos (MRONJ) é uma condição patológica que ainda não apresenta um consenso na literatura sobre o seu tratamento e por isso merece atenção. Visto isso, terapias secundárias podem desempenhar papel importante no controle e resposta tecidual, ao passo que, a pasta para uso tópico à base de metronidazol e o ozônio sistêmico, podem ser promissoras. O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho tópico da pasta à base de metronidazol associada com ozonioterapia sistêmica no tratamento da osteonecrose dos maxilares induzidas por bifosfonato após procedimento de exodontia em ratas senis ovariectomizadas e submetidas a terapia com zoledronato. Para isso, 30 ratas, de 12 meses de idade, foram divididas em 3 grupos. O grupo de microtomografia (n=15) teve 5 ratas submetidas à eutanásia após ambientalização em biotério para análise da arquitetura óssea (MCT0), 5 receberam zoledronato por 3 semanas e foram analisadas posteriormente (MCT1), e 5 receberam solução salina para comparação (MCT2). As demais ratas foram divididas igualmente em grupos experimentais, no grupo SAL as ratas foram submetidas a aplicações de solução de cloreto de sódio 0,9% e o grupo ZOL recebeu aplicação de Zoledronato 100µg/kg, ambos a cada 3 dias durante 7 semanas; o grupo ZOI+OZ/POI, recebeu a aplicação de zoledronato seguindo o mesmo protocolo e aplicação tópica da pasta, no alvéolo após a extração do 1º molar inferior esquerdo, além de ozonioterapia sistêmica. Após o fim do período de aplicação das terapias, as ratas foram submetidas a eutanásia, as mandíbulas foram analisadas por microtomografia computadorizada e exames histológicos. Os resultados indicaram a boa resposta tecidual e um processo de neoformação óssea eficiente, apesar da indução a osteonecrose, do grupo que recebeu as terapias alternativas em comparação ao grupo ZOL que apresentou um tecido ósseo frágil, áreas de necrose e inflamação.

Palavras-chave: Osteonecrose; Ácido Zoledrônico; Ozonioterapia.

FARIAS, N. M. T. **Evaluation of 10% metronidazole and 2% lidocaine paste with ozone therapy for the treatment of osteonecrosis of the jaw induced by Zoledronate after extraction in ovariectomized rats.** 2025. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2025.

ABSTRACT

Medication-induced osteonecrosis of the jaw (MRONJ) is a pathological condition that still lacks a consensus in the literature regarding its treatment and therefore deserves attention. Given this, secondary therapies may play an important role in tissue control and response, while topical metronidazole-based paste and systemic ozone may be promising. The aim of this study was to evaluate the performance of metronidazole-based paste associated with systemic ozone therapy in the treatment of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in ovariectomized senile rats subjected to zoledronate therapy. For this purpose, 30 12-month-old rats were divided into 3 groups. The microtomography group (n = 15) had 5 rats subjected to euthanasia after environmentalization in a vivarium for analysis of bone architecture (MCT0), 5 received zoledronate for 3 weeks and were subsequently revealed (MCT1), and 5 received saline solutions for comparison (MCT2). The remaining rats were equally divided into experimental groups; in the SAL group, the rats were subjected to applications of 0.9% sodium chloride solution and the ZOL group received application of Zoledronate 100 µg/kg, both every 3 days for 7 weeks; the ZOI+OZ/POI group received the application of zoledronate following the same protocol and topical application of the paste, in the alveolus after the release of the first lower left molar, in addition to systemic ozone therapy. After the end of the therapy application period, the rats were euthanized, and their jaws were analyzed by computed microtomography and histological examinations. The results indicated a good tissue response and an efficient process of bone neoformation, despite the induction of osteonecrosis, in the group that received alternative therapies compared to the ZOL group, which presented fragile bone tissue, areas of necrosis and inflammation.

Keywords: Osteonecrosis; Zoledronic Acid; Ozone therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Procedimento cirúrgico de ovariectomia bilateral. A) Antissepsia; B) Incisão cirúrgica; C) Divulsão dos tecidos; D) Laqueadura; E) Reposicionamento; F) Fechamento da incisão por sutura.	17
Figura 2 - Colocação da ligadura de algodão no primeiro molar inferior esquerdo para indução de periodontite.	18
Figura 3 - Aplicação intraperitoneal de zoledronato	19
Figura 4 - Procedimento de exodontia do 1° molar inferior esquerdo. A) Animal anestesiado e estabilizado em prancha cirúrgica; B) Aspecto da ligadura de algodão após 3 semanas; C) Ligadura de algodão removida do alvéolo; D) Aspecto do 1° molar inferior esquerdo após remoção da ligadura de algodão; E) Descolamento dos tecidos periodontais; F) Aspecto do alvéolo após exodontia.	20
Figura 5 - Aplicação da pasta de metronidazol.	20
Figura 6 - Aplicação de ozônio	21
Figura 7 - Análise microtomográfica dos grupos em respeito ao (A) volume tecidual (BV); (B) percentual de volume ósseo em relação ao volume tecidual (BV/TV); (C) número de trabéculas (TbN); (D) separação das trabéculas (TbSp); (E) espessura das trabéculas (TbTh); (F) porosidade total (PoTot).	26
Figura 8 - Lâmina histológica representativa em que a área pontilhada representa a região de interesse (porção apical do septo).	27
Figura 9 - Imagens representativas dos grupos SAL, ZOL e POI+OZ	28
Figura 10 - aumento de 40x. (A) e (B) presença de tecido conjuntivo (TC) fechando a área de exodontia. (C) presença de tecido ósseo neoformado (TON) demonstrando o processo de reparo do alvéolo após exodontia.	28
Figura 11 - Aumento de 40x. (A) presença de tecido conjuntivo frouxo (TC) entremeado ao tecido ósseo neoformado não vital (TONV) demonstrando a área de sequestro ósseo. (B) presença de hifas de bactérias (HB) demonstrando contaminação da área. (C) área de tecido ósseo não vital, demonstrado pela presença de lacunas ósseas vazias.	29
Figura 12 - Aumento de 40x. (A) presença de tecido epitelial (TE) mais tecido conjuntivo (TC) fechando a área de exodontia. (B) presença de tecido ósseo neoformado (TON) demonstrando o processo de reparo do alvéolo após exodontia.	29
Figura 13 - Relação da área de osso neoformado em μm^2 de cada grupo	31
Figura 14 - Imagem histológica de osso neoformado em cada grupo	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons
AMI	Área microscópica de interesse
ARI	Área radiográfica de interesse
BV	Volume ósseo
BV/TV	Porcentagem do volume ósseo em relação ao volume tecidual
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético 10%
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
HB	Hifas de bactérias
HE	Hematoxilina e eosina
MCT0	Microtomografia para caracterização óssea do osso senil (Tempo 0)
MCT1	Microtomografia para caracterização óssea após terapia com zoledronato
MCT2	Microtomografia para caracterização após aplicação de solução salina
MicroCT	Microtomografia computadorizada
MRONJ	Osteonecrose dos maxilares induzida por medicamento (inglês)
OMS	Organização Mundial da Saúde
OZ	Ozonioterapia
POI	Pasta à base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2%
PONF	Porcentagem de tecido ósseo neoformado
Po.tot	Porosidade total
SAL	Solução salina 0,9%
Tb.N	Número das trabéculas
Tb.SP	Separação das trabéculas ósseas
Tb.Th	Espessura do trabeculado ósseo
TC	Tecido conjuntivo

TE	Tecido epitelial
To	Porcentagem de porosidade total
TON	Tecido ósseo neoformado
TONV	Tecido ósseo não vital
ZOL	Zoledronato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
3 METODOLOGIA	16
3.1 Comitê de Ética	16
3.2 Design Experimental	16
3.3 Ovariectomia	16
3.4 Divisão dos grupos experimentais	17
3.4.1 Protocolo terapêutico	18
3.5 Extração	19
3.6 Eutanásia	21
4 MÉTODOS DE ANÁLISE	22
4.1 Análise e processamento de tecidos calcificados	22
4.1.1 Microtomografia computadorizada (MicroCT)	22
4.2 Análise e processamento dos tecidos descalcificados	23
4.2.1 Análise microscópica e área microscópica de interesse (AMI)	23
4.2.2 Análise histológica e histométrica	24
4.3 Calibração do examinador	24
4.4 Análise de dados	24
5 RESULTADOS	26
5.1 Análise microtomográfica	26
5.2 Análise histológica	27

5.3 Análise histométrica	30
6 DISCUSSÃO	33
7 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXOS	39

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado formado por diversas células, como osteoclastos e osteoblastos, e uma matriz mineralizada contendo colágeno do tipo I e fosfato de cálcio, sendo denominada de matriz óssea. Esse tecido é continuamente remodelado pelos osteoclastos, que reabsorvem a matriz óssea, e os osteoblastos que sintetizam a matéria orgânica da matriz, promovendo a homeostase.²⁰

Durante ou após o período da menopausa há a redução dos níveis de estrogênio, devido a mínima secreção desse hormônio pelos ovários, o que acarreta uma doença metabólica sistêmica, a osteoporose, que é frequente atualmente e reduz a qualidade de vida por reduzir a densidade óssea e deixar o osso mais propenso a fraturas.^{2,4}

Os bifosfonatos são uma classe medicamentosa análoga do pirofosfato, possuem grande afinidade com a hidroxiapatita regulando sua reabsorção.¹ Essa droga é frequentemente utilizada como terapia em patologias ósseas como osteoporose em idosos e mulheres em pós-menopausa, hipocalcemia e Doença de Paget, entre outras patologias em que a dinâmica do osso está alterada. Os bifosfonatos atuam diminuindo a quantidade de osteoclastos, ocasionando uma diminuição da reabsorção óssea, mas também prejudicando a remodelação do osso, o que leva ao desequilíbrio da homeostase óssea.^{2, 3, 6}

Em 2003, Marx⁷ relata 36 casos de exposição óssea em mandíbula e maxila em pacientes que faziam terapia com Pamidronato ou Zoledronato, sendo estes os primeiros registros de osteonecrose dos maxilares induzida por bifosfonatos, posteriormente denominada osteonecrose dos maxilares induzida por medicamento (MRONJ).^{7,8} A MRONJ é definida pela “American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons” (AAOMS) como osso exposto não cicatricial da região maxilofacial, por um período de 8 semanas, em paciente sem histórico de radioterapia e que faz terapia medicamentosa com bifosfonatos.^{2, 3}

Apesar da infecção e inflamação desempenharem papel relevante no desenvolvimento da MRONJ, ainda não se sabe sua fisiopatogenia.⁵ Alguns fatores

influenciam no desenvolvimento da osteonecrose dos maxilares, sendo eles a via de administração, dose administrada, duração, frequência, fatores de riscos sistêmicos e locais.^{6,7} Estudos mostram que pacientes, portadores de osteoporose, submetidos a terapia intravenosa, apresentaram-se vulneráveis à osteonecrose dos maxilares após a inflamação local decorrente da extração dentária e periodontite, com predileção da região de molar e pré-molar.^{5,6,11} Apesar de existirem iniciativas de prevenção e recomendações clínicas perante o diagnóstico, o tratamento da MRONJ não apresenta protocolo terapêutico estabelecido.^{3,6}

A utilização de pastas para uso tópico, em específico, a pasta à base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% (pasta POI) revelou-se uma alternativa promissora devido sua ação bactericida, antifibrinolítica e analgésica que é eficaz na redução da sintomatologia álgica, e é favorecida pela sua via de aplicação tópica pois comporta doses mais altas, permitindo atingir concentrações terapêuticas locais maiores e descartando efeitos sistêmicos adversos.⁹

Análises experimentais mostram a ozonioterapia como uma alternativa terapêutica para patologias médicas e odontológicas, como o tratamento de osteomielite. Seus efeitos são comprovados, ressaltando propriedades bactericidas, imunomodulação, oxigenação tecidual, diminuição do estresse oxidativo, promovendo a angiogênese, formação do tecido de granulação, induzindo o reparo ósseo, acarretando em uma boa resposta celular e clínica.^{12, 13}

Diante do exposto, o estudo da MRONJ carece de comprovações científicas quanto ao protocolo terapêutico em humanos.

2 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho da pasta de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% associada à ozonioterapia sistêmica na dinâmica óssea de ratas submetidas à ovariectomia bilateral e tratadas com bifosfonatos, e analisar essa associação sobre o processo de metabolismo e reparo ósseo pós-exodontia do 1° molar inferior.

3 METODOLOGIAS

3.1 Comitê de ética

Essa pesquisa seguiu todos os preceitos e princípios éticos para experimentação animal, regulamentados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Todos os protocolos experimentais foram enviados para o Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pelo número de protocolo FOA n° 0268-2022, o qual forneceu parecer positivo para o início dos experimentos.

3.2 Design Experimental

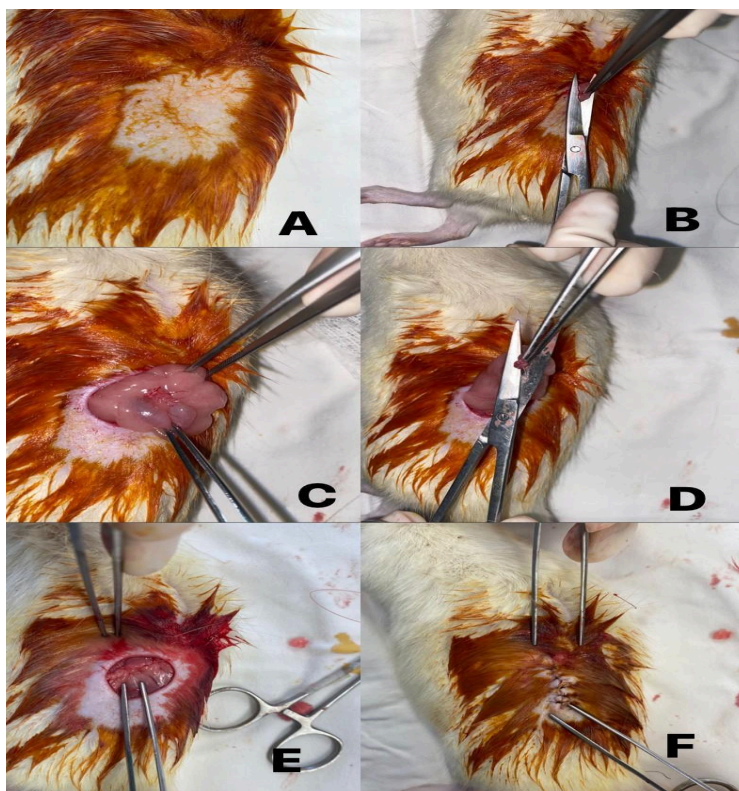
Foram utilizados 30 animais (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar), fêmeas, aproximadamente 12 meses, com peso corporal variando entre 300 a 350 gramas de uma linhagem mantida no Biotério do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA) – UNESP, que foram fornecidas pelo Biotério Central da mesma instituição. O número de animais por grupo experimental foi baseado nos trabalhos de Delfrate et al. (2021)²¹, que apresenta a metodologia no qual esse projeto se baseou.

3.3 Ovariectomia

Em primeiro momento, todos os animais foram submetidos a cirurgia de ovariectomia bilateral, como é ilustrado pela figura 1. Após as ratas serem anestesiadas, foi realizada a tricotomia na região de flanco, antisepsia e incisão de 1,5 centímetros. seguida divulsão por planos do tecido subcutâneo e do peritônio a fim de ter acesso à cavidade abdominal. Os ovários e os chifres uterinos foram localizados e laqueados.

Após a execução da ovariectomia, as ratas foram submetidas a esfregaço vaginal durante 8 dias para avaliação do ciclo estral, com o propósito de avaliar a regularidade do ciclo e comprovar o êxito da ovariectomia.

Figura 1 - Procedimento cirúrgico de ovariectomia bilateral. A) Antissepsia; B) Incisão cirúrgica; C) Divulsão dos tecidos; D) Laqueadura; E) Reposicionamento; F) Fechamento da incisão por sutura.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

3.4 Divisão dos grupos experimentais

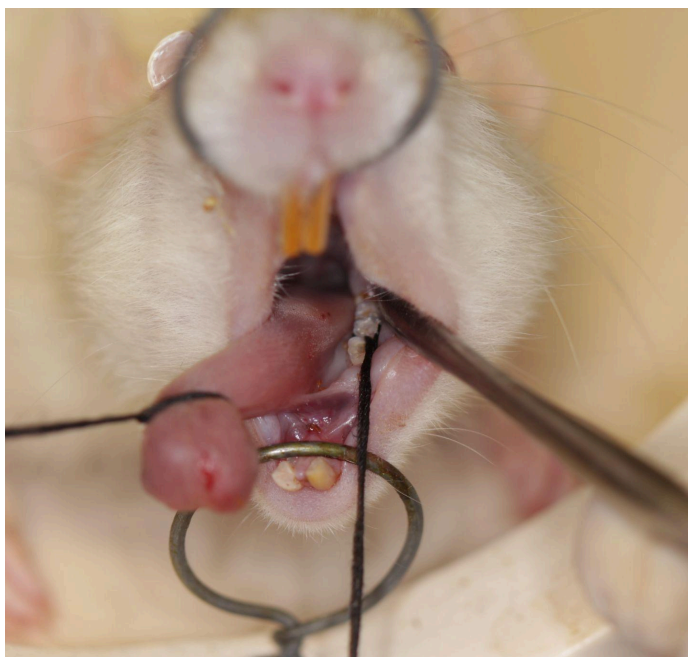
Para a análise em microtomografia computadorizada (MicroCT), 5 ratas foram alocadas aleatoriamente para serem submetidas à eutanásia após a ambientalização no biotério (dia 0), para caracterização do osso mandibular na região posterior (1° molar inferior esquerdo) (MCT0). Da mesma forma, 5 ratas foram induzidas a osteonecrose com aplicação de zoledronato por 3 semanas (MCT1) e as 5 demais ratas receberam aplicação de solução salina, também durante 3 semanas (MCT2); sendo essas 10 ratas submetidas a eutanásia no final da 3ª semana, para avaliação da arquitetura do osso no dado momento após instituição dessas terapias prévias, totalizando 15 ratas.

3.4.1 Protocolo terapêutico

Os demais animais foram divididos aleatoriamente em grupos experimentais (n=5), sendo o grupo 1 (SAL) submetido a aplicações de 0,45 ml de solução de cloreto de sódio 0,9% (solução salina) intraperitoneal a cada 3 dias por 7 semanas simulando os procedimentos com o zoledronato (controle negativo); o grupo 2 (ZOL) foi submetido a aplicação de Zoledronato 100µg/kg, ambos a cada 3 dias durante 7 semanas; e o grupo 3 (ZOL+OZ/POI), que recebeu aplicação de zoledronato seguindo o mesmo protocolo e aplicação tópica da pasta destinada ao grupo, no alvéolo, no dia da extração do 1° molar inferior esquerdo, e 2 e 4 dias após a extração, além de ozonioterapia intraperitoneal, na dosagem de 0,7ml/kg do animal a cada 3 dias por 3 semanas.

A intervenção iniciou-se no dia -1 com a indução de periodontite através da colocação de uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar inferior esquerdo de cada animal, como mostra a figura 2. Após a indução, no dia 0, foi dado início a aplicação das terapias.

Figura 2 - Colocação da ligadura de algodão no primeiro molar inferior esquerdo para indução de periodontite.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 3 - Aplicação intraperitoneal de zoledronato

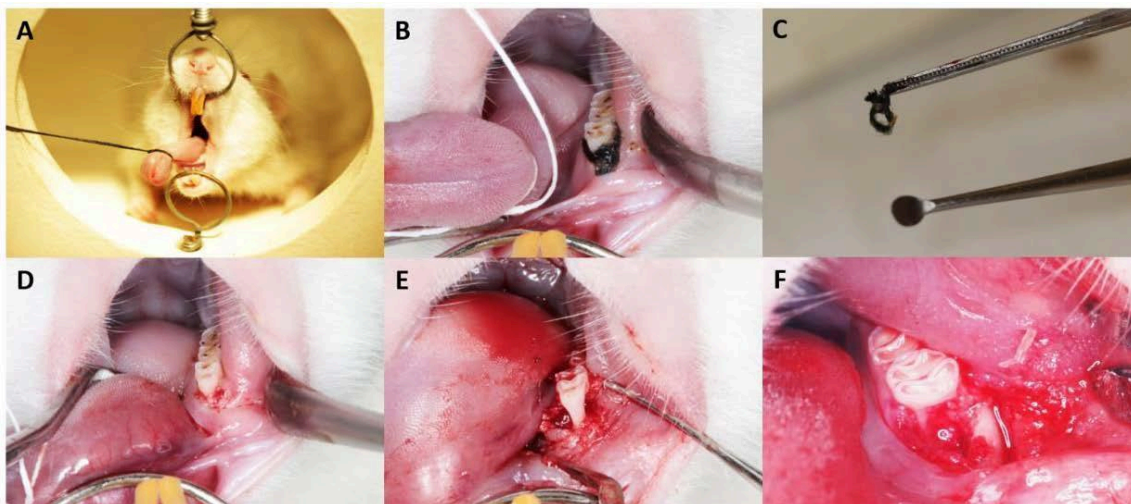


Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

3.5 Extração

Após 3 semanas da indução da osteonecrose foi feita a extração do 1° molar esquerdo e aplicação da pasta a base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% (pasta POI) no alvéolo do primeiro molar inferior esquerdo, associada a ozonioterapia sistêmica na região intraperitoneal, como mostra nas figuras 4, 5 e 6 respectivamente.

Figura 4 - Procedimento de exodontia do 1° molar inferior esquerdo. A) Animal anestesiado e estabilizado em prancha cirúrgica; B) Aspecto da ligadura de algodão após 3 semanas; C) Ligadura de algodão removida do alvéolo; D) Aspecto do 1° molar inferior esquerdo após remoção da ligadura de algodão; E) Descolamento dos tecidos periodontais; F) Aspecto do alvéolo após exodontia.

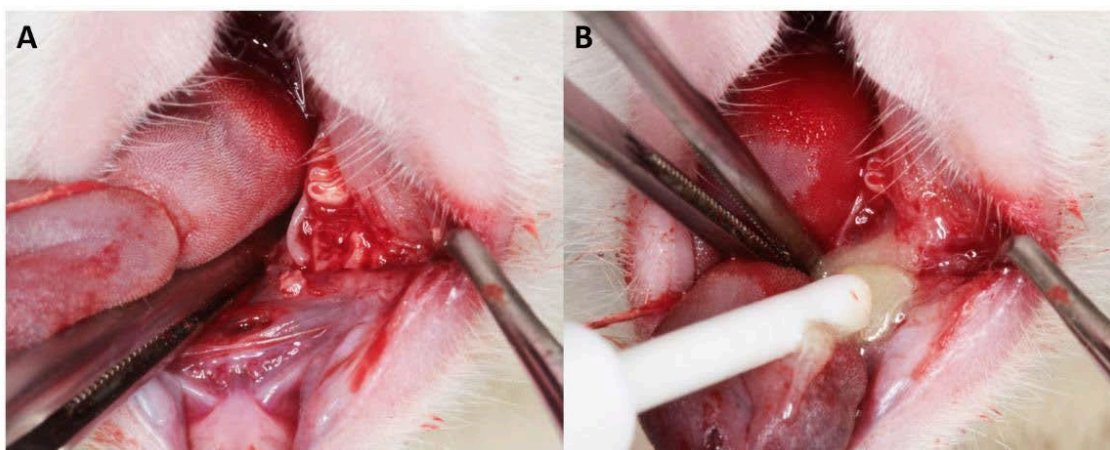


Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

As aplicações da pasta de Metronidazol e ozonioterapia foram realizadas por 2 e 4 dias após a extração, além do dia em que a mesma foi feita.

Para a aplicação da ozonioterapia foi utilizado o aparelho fornecido pela empresa OZONE&LIFE INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SISTEMAS LTDA (São José dos Campos – SP), sendo efetuada aplicação via intraperitoneal do ozônio em concentração de 0,7ml/kg, a cada 3 dias, por 3 semanas.

Figura 5 - Aplicação da pasta de metronidazol.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 6 - Aplicação de ozônio



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

3.6 Eutanásia

Após 28 dias de extração, os animais do grupo experimental foram submetidos à eutanásia por dosagem excessiva de anestésico.

Ao total tiveram três momentos de eutanásia, após a ambientalização no biotério (MCT0), 3 semanas após o início da aplicação das terapias (MCT1 e MCT2) e 28 dias após a extração.

As hemimandíbulas foram cuidadosamente dissecadas e pós-fixadas por 24 horas em paraformaldeído 4%, para posterior processamento laboratorial

4 MÉTODOS DE ANÁLISE

4.1 Análise e processamento dos tecidos calcificados

4.1.1 Microtomografia computadorizada (MicroCT)

Para a análise tridimensional da estrutura do tecido ósseo, os animais pertencentes aos grupos MCT0, MCT1, MCT2 e, posteriormente SAL, ZOL e ZOL+OZ/POI tiveram as 15 mandíbulas removidas do fixador e lavadas por 12 horas em água corrente a fim de retirar qualquer resíduo do fixador. Sequencialmente, foram armazenadas em álcool 70% para transporte até o local de análise. Primariamente, foram submetidas a análise por varredura de feixe de raios-X em um sistema de microtomografia digital computadorizada. As peças foram escaneadas pelo microtomógrafo SkyScan (SkyScan 1176 Bruker MicroCT, Aatselaar, Bélgica, 2003) utilizando cortes de 8 μm de espessura (90Kv e 111 μA), com filtro de cobre e passo de rotação de 0,05 mm.

As áreas pela projeção dos raios-X nas amostras foram armazenadas e reconstruídas determinando a área de interesse pelo software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6. 6.0). No software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit) as imagens foram reconstruídas para adequação do posicionamento padrão para todas as amostras, podendo ser observada em três planos (transversal, longitudinal e sagital). Em seguida, utilizando o software CTAnalyser – CTAn (2003-11SkyScan, 2012 Bruker MicroCT Versão 1.12.4.0), foi definida a área radiográfica de interesse (ARI) delimitada por uma área de 4 mm^3 que incluiu a porção do local de extração dentária anteriormente ocupada pelas raízes mesial e distal do primeiro molar inferior esquerdo e tecidos adjacentes.

O software CTAn analisou e mediu a imagem de acordo com as escalas de cinza. Após o ajuste e remoção dos tons de cinza da área correspondente do alvéolo, o threshold utilizado na análise foi de 25-90 tons de cinza, o que possibilitou a obtenção do volume de osso presente/formado no interior dos alvéolos. Os parâmetros analisados foram referentes à volume tecidual (BV), quantidade do tecido ósseo (BV.TV= porcentagem do volume ósseo) e qualidade do tecido ósseo

(Tb.Th= espessura do trabeculado ósseo, Tb.SP= separação das trabéculas ósseas, Tb.N= número das trabéculas e To (tot) = porcentagem de porosidade total).

4.2 Análise e processamento dos tecidos descalcificados

Logo após a MicroCT, as peças voltaram para o fixador a fim de completarem 72 horas de fixação, e após isso foram submetidas novamente a um banho de água corrente por 12 horas e partiram para a descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético 10% (EDTA) por 6-8 semanas. Após a descalcificação, a região correspondente ao alvéolo e estruturas adjacentes da extração foram separadas. Assim, as peças seguiram para a desidratação numa sequência de álcoois (70 a 100%). Após estas etapas, realizou-se a diafanização com xilol para posterior inclusão em parafina para obtenção de corte com 4 µm de espessura e a confecção das lâminas. Foram coletadas, de lingual para vestibular, as secções histológicas da porção do alvéolo dental e tecidos adjacentes que foram analisados. As lâminas pares após a microtomia foram destinadas para a coloração em hematoxilina e eosina (HE).

4.2.1 Análise microscópica e área microscópica de interesse (AMI)

As análises microscópicas foram realizadas por um histologista certificado, cego aos tratamentos. Para a análise histométrica foram avaliados três cortes histológicos localizados na porção vestibular, média e lingual do local da extração dentária. Sendo que um corte histológico da porção média do local de extração foi utilizado para a análise imunohistoquímica. A área de interesse foi dividida em duas: AMI (I) e a AMI (II) que foram determinadas de acordo com a análise microscópica realizada. A AMI (I) consistiu em uma área de 4 mm x 4 mm que inclui a porção do local da extração dentária anteriormente ocupada pelas raízes mesial e distal do primeiro molar inferior esquerdo e tecidos adjacentes. Seu limite distal foi composto de uma linha situada paralelamente à dentina coronária e à superfície radicular do segundo molar inferior esquerdo, estendendo-se 4mm mesialmente. Seu limite coronário é composto de uma linha paralela ao limite da margem cemento-gengival do segundo molar inferior esquerdo, estendendo-se 4mm apicalmente. O AMI (II) consistiu em duas áreas de 250 × 250 µm, situadas no tecido conjuntivo que 15 recobre o local da extração dentária. O limite das áreas foi definido

por uma linha situada no centro do tecido conjuntivo, perpendicular ao eixo longitudinal dos dentes, dividindo esse tecido em sua direção coro. Duas outras linhas foram utilizadas, uma paralela à porção central do local de extração dentária anteriormente ocupada pela raiz mesial e outra paralela à porção central do local de extração dentária anteriormente ocupada pela raiz distal do primeiro molar. A intersecção dessas linhas determinou o centro das duas áreas que foram analisadas.

4.2.2 Análise histológica e histométrica

A análise histológica com as características gerais dos tecidos e histométrica da porcentagem de tecido ósseo neoformado (PONF) foram realizadas através de fotomicrografias da área do alvéolo do dente extraído e tecidos adjacentes, que foram capturadas com o auxílio de um software de análise de imagem (Axiovision 4.8.2® Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha). A área ocupada pela PONF foi estabelecida e expressa em μm^2 como média \pm desvio padrão em cada grupo experimental. Na região de Interesse AMI (I), as imagens foram capturadas utilizando uma câmera digital (AxioCam® Carl Zeiss, Göttingen, Alemanha) acoplada a um microscópio de luz (AxioLab®) e conectada a um microcomputador. A quantificação da porcentagem de tecido ósseo neoformado e a porcentagem de tecido ósseo não vital foram calculados utilizando o software de análise de imagens (Axiovision 4.8.2® Carl Zeiss). A PONF representa uma região onde mais de dez lacunas de osteócitos vizinhos apresentaram-se vazias ou contendo restos de osteócitos necróticos.

4.3 Calibração do examinador

Ocorreu anteriormente as mensurações propostas para a histometria, histopatologia, histologia e microCT. O avaliador foi submetido a um teste prévio do nível de compatibilidade entre mensurações em que foram realizadas as mensurações propostas no estudo de 12 animais randomizados, em duplicata com um intervalo de 1 semana entre elas.

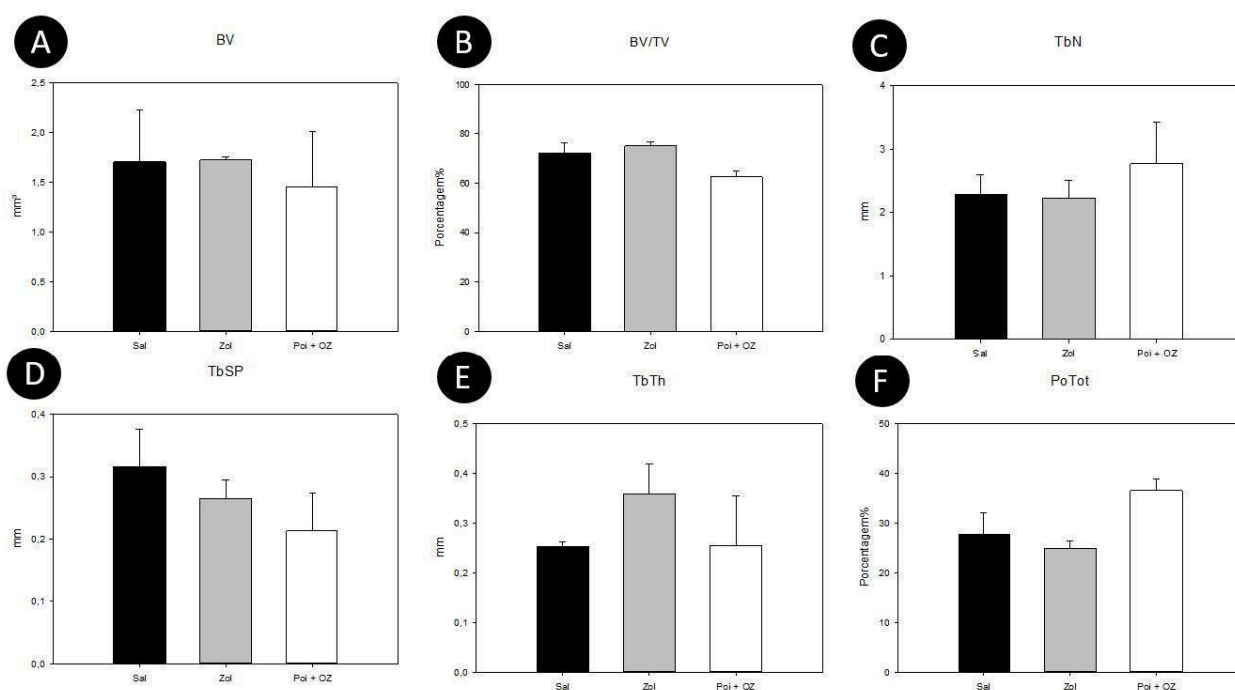
4.4 Análise de dados

Todos os testes foram realizados no programa estatístico Sigma Plot 12.0 (Exakt Graphs and Data Analysis, San Jose, CA, USA). Inicialmente, cada parâmetro amostral obtido por meio de histometria e morfometria tridimensional pela microtomografia, foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk, $P > 0,05$). Portanto, diante da homogeneidade ou heterogeneidade dos dados, um teste paramétrico ou não paramétrico foi aplicado.

5 RESULTADOS

5.1. Análise Microtomográfica

Figura 7 - Análise microtomográfica dos grupos em respeito ao (A) volume tecidual (BV); (B) percentual de volume ósseo em relação ao volume tecidual (BV/TV); (C) número de trabéculas (TbN); (D) separação das trabéculas (TbSp); (E) espessura das trabéculas (TbTh); (F) porosidade total (PoTot).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

As análises microtomográficas para avaliação da quantidade de volume ósseo (BV) e percentual de volume ósseo em relação ao volume tecidual (BV/TV), e para avaliação da qualidade do tecido ósseo como número de trabéculas (TbN), separação das trabéculas (TbSp), espessura das trabéculas (TbTh) e porosidade total (PoTot), mostram diferença entre os grupos (figura 7). Ao analisarmos os gráficos, é possível observar que o grupo ZOL apresentou maior percentual de volume ósseo em relação ao volume tecidual (BV/TV) que já era esperado por seu mecanismo de ação reduzir a reabsorção em algumas áreas. Já o grupo POI+OZ apresentou o maior número de trabéculas e a menor separação entre elas,

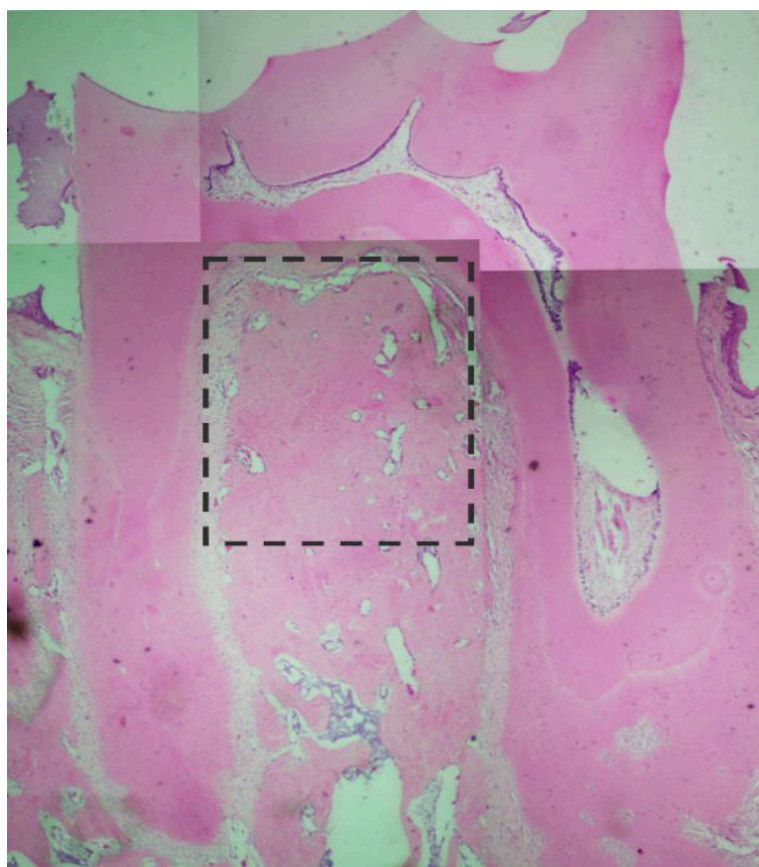
demonstrando que, apesar de nos outros parâmetros não sugerir uma neoformação óssea significativa, o tecido que se formou apresentou ótima qualidade.

5.2. Análise Histológica

Após a obtenção das lâminas, estas foram avaliadas histologicamente quanto a capacidade de neoformação óssea, presença de infiltrado inflamatório, formação de tecido conjuntivo, absorção e/ou manutenção dos materiais estudados. As amostras foram codificadas de maneira que somente a orientadora sabia a quais grupos pertenciam. Um único examinador realizou as análises.

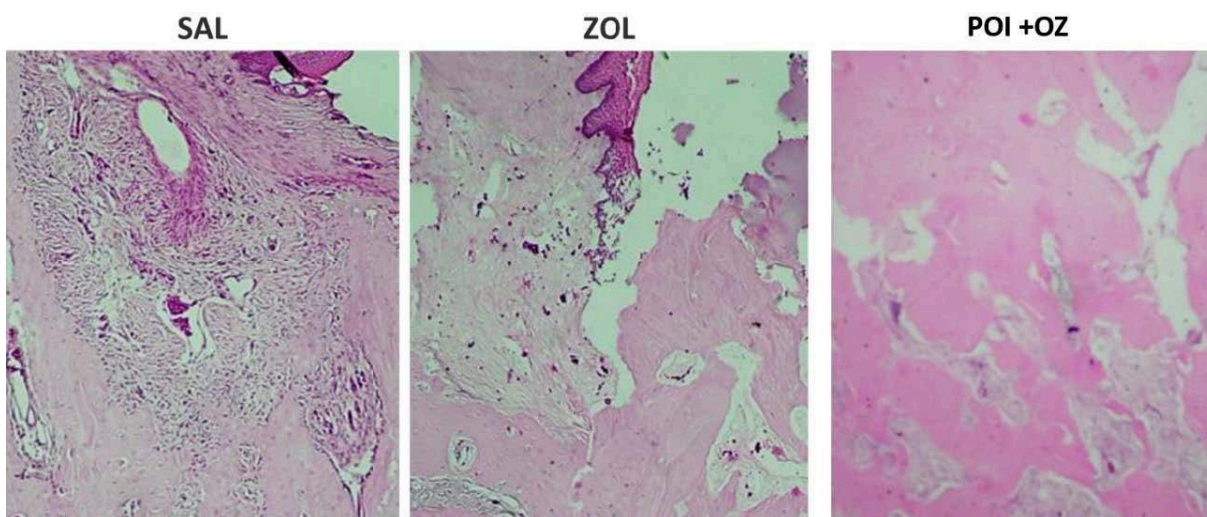
Para análise histológica, foi delimitado a região de interesse na parte mais cervical do septo, devido a essa região ser a crítica em relação a proximidade com a superfície externa e com o tecido gengival.

Figura 8 - Lâmina histológica representativa em que a área pontilhada representa a região de interesse.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 9 - Imagens representativas dos grupos SAL, ZOL e POI+OZ

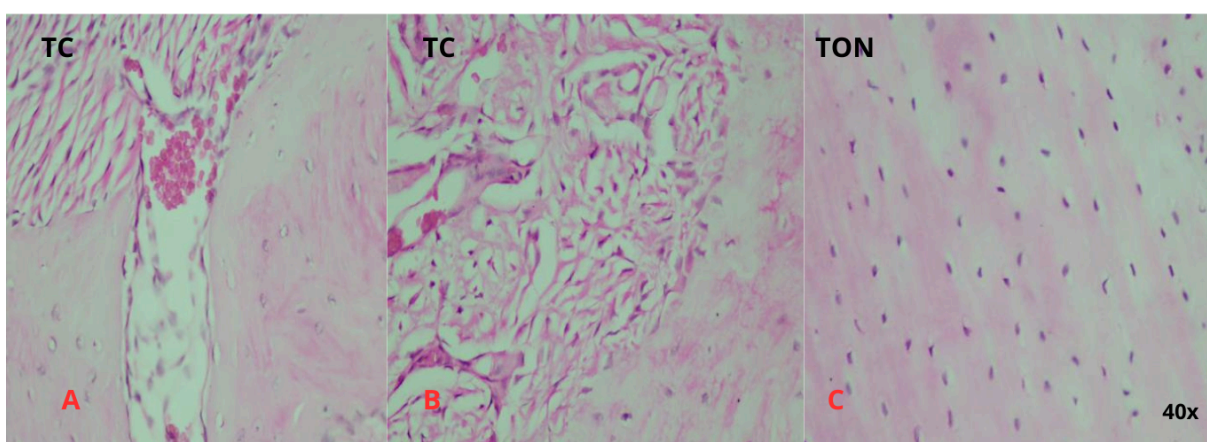


Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Abaixo lâmina no aumento de 40x, com maiores detalhes histológicos:

Grupo SAL

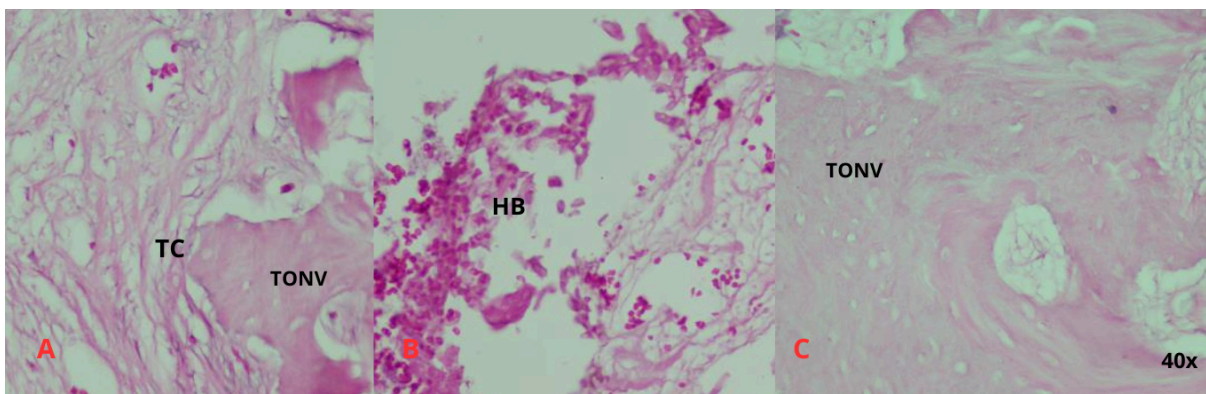
Figura 10 - Aumento de 40x. (A) e (B) presença de tecido conjuntivo (TC) fechando a área de exodontia. (C) presença de tecido ósseo neoformado (TON) demonstrando o processo de reparo do alvéolo após exodontia.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Grupo ZOL

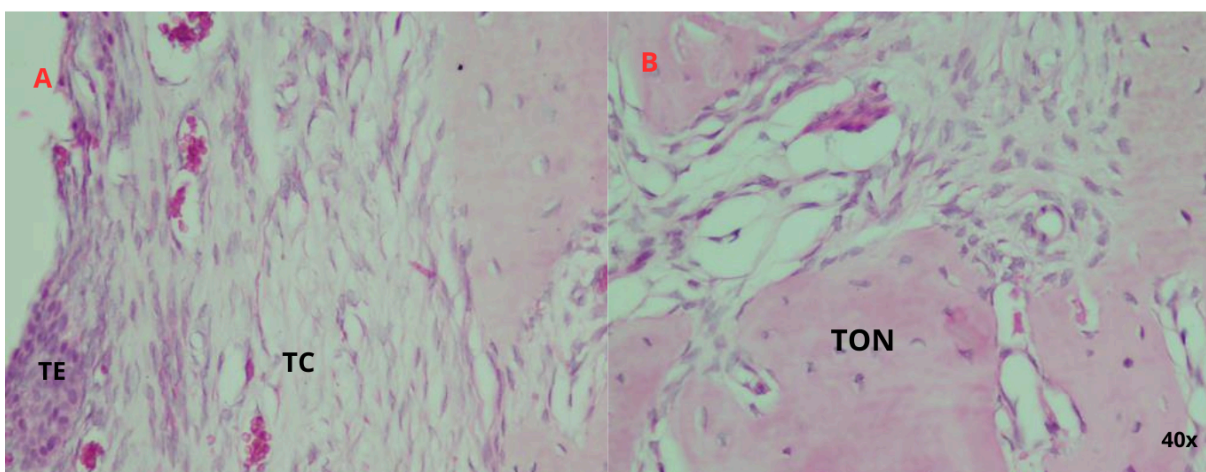
Figura 11 - Aumento de 40x. (A) presença de tecido conjuntivo frouxo (TC) entremeado ao tecido ósseo neoformado não vital (TONV) demonstrando a área de sequestro ósseo. (B) presença de hifas de bactérias (HB) demonstrando contaminação da área. (C) área de tecido ósseo não vital, demonstrado pela presença de lacunas ósseas vazias.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Grupo POI + OZ

Figura 12 - Aumento de 40x. (A) presença de tecido epitelial (TE) mais tecido conjuntivo (TC) fechando a área de exodontia. (B) presença de tecido ósseo neoformado (TON) demonstrando o processo de reparo do alvéolo após exodontia.



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

No grupo SAL, representado pela figura 10, foi observado um processo de reparo com tecido ósseo sadio, fechamento epitelial e a presença de tecido ósseo remodelado. Observou-se a invaginação do tecido conjuntivo organizado na crista do septo interradicular, presença do tecido ósseo remanescente com osteócitos vivos, compatível com o processo de reparo esperado para o grupo.

No grupo ZOL é possível observar uma invaginação maior do tecido conjuntivo, caracterizando um infiltrado inflamatório devido a necrose do tecido ósseo e a uma diminuição expressiva ou até ausência do processo de reparo (figura 11). Apesar da presença de osteócitos viáveis, é possível observar necrose tecidual em alguns pontos. Existe a presença de um tecido ósseo desvitalizado, entremeado por tecido conjuntivo. Nota-se hifas de bactérias infiltradas nesse tecido. Além disso, foi observada presença de infiltrado inflamatório mais intenso em algumas lâminas.

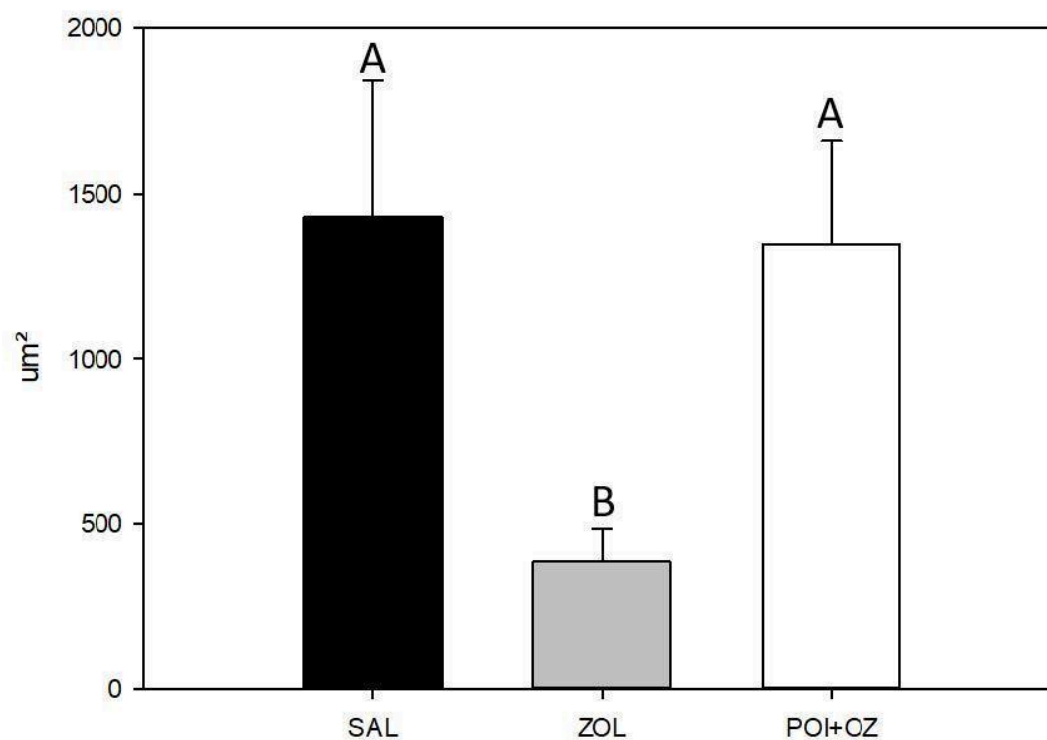
No grupo POI+OZ foi observado tecido ósseo entremeado por tecido conjuntivo fibroso bem-organizado. Também é possível visualizar pequenos fragmentos de sequestro ósseo desvitalizado, além da presença de remodelação óssea com tecido ósseo vital entremeado por tecido conjuntivo (figura 12).

Portanto, quanto aos aspectos histológicos referentes a região de alvéolo do 1° molar a presença de tecido ósseo vital nos grupos SAL ficou evidente, uma vez que é notória a quantidade de células da linhagem osteoblástica, como osteócitos imersos na matriz óssea já mineralizada e osteoblastos na região adjacente do tecido ósseo, justapostos ao tecido conjuntivo, carregado de células, evidenciando o dinamismo dos tecidos. E por fim, fica evidente a diferença entre o grupo ZOL para com os demais, onde é visível diversas lacunas vazias, característica típica do tecido ósseo não vital em abundância.

5.3. Análise Histomorfométrica

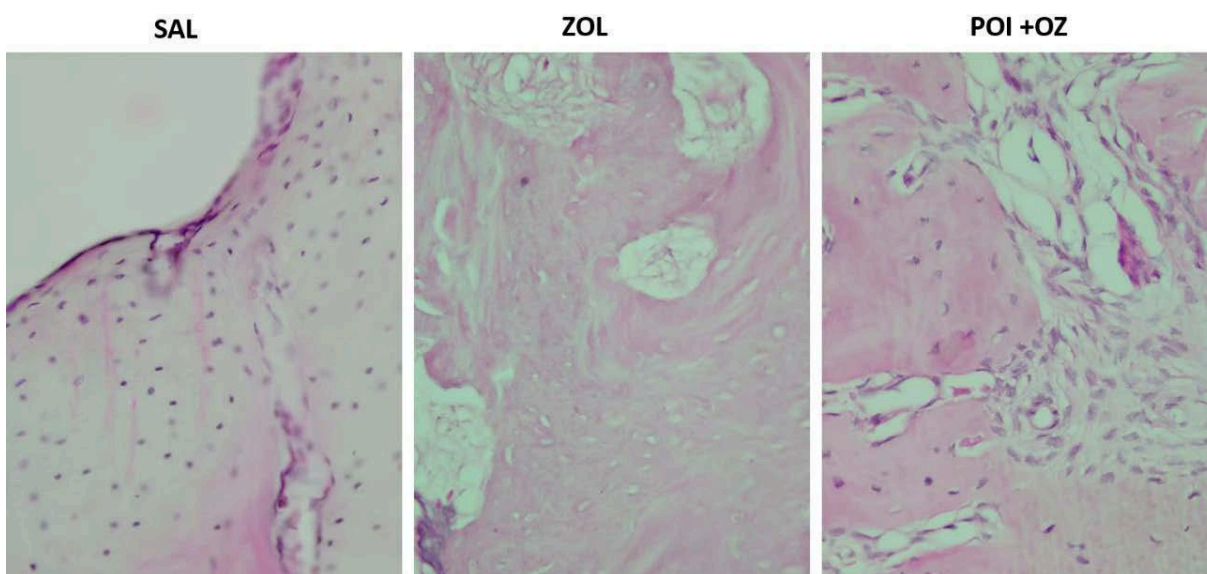
Figura 13 - Relação da área de osso neoformado em μm^2 de cada grupo

Área de Tecido Ósseo Neformado



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 14 - Imagem histológica de osso neoformado em cada grupo



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Grupo SAL apresentou a maior área de osso neoformado, como já era esperado, sendo diferente estatisticamente do grupo ZOL ($p=0,042$), sendo seguido pelo grupo POI+OZ que também apresentou diferença estatística para o grupo ZOL ($p=0,049$), como mostra a figura 13. Os grupos POI+OZ e SAL foram iguais entre si estatisticamente.

O grupo ZOL, apresentou em grande parte dos espécimes, regiões de tecido ósseo não vital, com osteócitos não viáveis, como representado nas imagens histológicas.

6 DISCUSSÃO

Partindo do pressuposto que os bifosfonatos agem direta ou indiretamente sobre os osteoclastos e osteoblastos, provocando a diminuição da remodelação óssea, esperava-se alterações no que se refere à qualidade e quantidade óssea nos grupos testados que receberam a medicação antirreabsortiva, o que pôde ser observado na avaliação dos parâmetros BV (volume ósseo) e BV/TV (percentual de volume ósseo em relação ao volume tecidual) ao final do tempo experimental de 28 dias, em que o grupo ZOL apresentou um volume ósseo maior e com menor porosidade (PoTot) quando comparado ao grupo SAL ($p < 0,05$), característica essa compatível com a ação do medicamento que provoca uma corticalização do tecido ósseo em decorrência a uma alteração na arquitetura óssea advinda da utilização do bifosfonato.

Enquanto não existe um consenso acerca de um protocolo de tratamento definitivo da MRONJ, a literatura tem evidenciado a associação de terapias coadjuvantes que possam melhorar a qualidade dos tecidos baseado no estágio clínico da doença, com intuito de melhorar a qualidade de vida e trazer mais conforto a esses pacientes³.

No presente trabalho, na comparação intragrupos dos grupos testes, o grupo que recebeu as terapia com ozônio e pasta de Metronidazol (POI+OZ), apesar de não apresentar diferença estatística em relação aos grupos SAL e ZOL, alcançou maior número de trabéculas (Tb.N) e menor separação entre elas (Tb.Sp), sugerindo que a utilização sistêmica do ozônio nesses animais possa ter induzido de maneira positiva a proliferação celular e a resposta cicatricial, uma vez que a ozonioterapia é capaz de aumentar a oxigenação dos tecidos e que a pasta a base de Metronidazol pode ter facilitado o crescimento de fibroblastos e osteoblastos.

O ozônio é uma molécula composta por três átomos de oxigênio, que nas condições normais de temperatura e pressão normalmente se apresenta na forma gasosa, mas também pode ser utilizado na forma de água ozonizada ou óleo ozonizado e sua administração pode ser feita de forma tópica ou sistêmica.^{14, 15, 16} O ozônio tem influência positiva no metabolismo e no processo de reparo ósseo devido aos efeitos anti-inflamatórios, cicatrizantes, antimicrobianos, além de propriedades

anti-álgicas, visto que tem a capacidade de neutralizar os mediadores neuroquímicos da sensação dolorosa, facilitando a metabolização e eliminação de mediadores inflamatórios como histamina, quinina e bradicinina.¹⁰ Por essa razão, trata-se de uma vertente com potencial de crescimento em muitas áreas como terapia coadjuvante aos tratamentos convencionais, principalmente por diminuir a sintomatologia dolorosa e otimizar o processo cicatricial.

A pasta a base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% vem sendo utilizada desde 1998 de maneira eficiente no reparo de alvéolos infectados após exodontia. O Metronidazol, que compõe a pasta POI, pertence a classe dos nitroimidazólicos e atua contra bactérias anaeróbias e Gram negativas através da inibição da síntese do ácido nucleico, causando a morte celular. Além disso, é capaz de facilitar o crescimento de fibroblastos e osteoblastos, sendo possível proporcionar efeitos anti-inflamatórios e combater a infecção. Poi et al.⁹, avaliaram o processo de reparo alveolar em 75 ratos Wistar com alveolite utilizando a pasta a base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% como terapêutica, e nos tempos experimentais analisados de 6, 15 e 28 dias pós-operatórios os resultados comprovaram a eficiência da pasta POI como uma opção segura no tratamento da alveolite, capaz de reduzir a sintomatologia dolorosa e diminuir o processo infeccioso. O uso desta pasta nos processos de osteonecrose demonstrou ter um comportamento biológico favorável ao processo de reparo e também auxiliou no fechamento epitelial das regiões onde havia osteonecrose e impediu a proliferação de hifas de bactérias.

Sabemos que uma das maiores dificuldades no tratamento das MRONJ é conseguir o fechamento do tecido mole e evitar a exposição do tecido ósseo e consequentemente sua contaminação. Quando por meio de terapias coadjuvantes conseguimos obter tanto a promoção de uma neoformação óssea assim como o fechamento epitelial por meio de terapias adjuvantes cujo custo é baixo e acessível aos pacientes, como os obtidos nesse trabalho, isso nos impulsionam a continuar nessa linha de pesquisa para obtenção de protocolos terapêuticos que visam auxiliar uma porcentagem da população crescente que sofrem com a instalação da MRONJ e que ainda não tem um tratamento adequado para essa problemática.

7 CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu concluir que a associação da ozonioterapia sistêmica associada a pasta de metronidazol com lidocaína melhorou a resposta de reparo local em áreas de osteonecrose em ratas submetidas ao uso do zoledronato.

REFERÊNCIAS

1. CASTRO, L. F. et al. Bifosfonatos (BFs) como transportadores osteotrópicos no planejamento de fármacos dirigidos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 456–460, jun. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000300016>
2. CANKAYA, M. et al. The effects of chronic zoledronate usage on the jaw and long bones evaluated using RANKL and osteoprotegerin levels in an animal model. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 42, n. 9, p. 1134–1139, 1 set. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2013.02.008>
3. RUGGIERO, S. L. et al.. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws-2022 Update. **Journal of oral and maxillofacial surgery: official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons** vol. 80,5 (2022): 920-943. doi:10.1016/j.joms.2022.02.008
4. GIRO, G. **Avaliação da influência da osteoporose induzida em ratas, e seu tratamento com alendronato e estrogênio, sobre o tecido ósseo ao redor de implantes**. 2010. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia (UNESP), Araraquara, 2010.
5. KHAN, A. A. et al. Diagnosis and Management of Osteonecrosis of the Jaw: A Systematic Review and International Consensus. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 30, n. 1, p. 3–23, 26 dez. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.2405>
6. OTTO, S. et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws – Characteristics, risk factors, clinical features, localization and impact on oncological treatment. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 40, n. 4, p. 303–309, jun. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2011.05.003>
7. MARX, R. E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 61, n. 9, p. 1115–1117, set. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0278-2391\(03\)00720-1](https://doi.org/10.1016/S0278-2391(03)00720-1)
8. MARX, R. E. et al. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons**, v. 63, n. 11, p. 1567–1575, 1 nov. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2005.07.010>
9. POI, W. R. et al. Influência da Pasta a Base de Metronidazol a 10% e Lidocaína a 2% Sobre o Processo de Reparo em Alvéolo Dental Infectado. Análise Histológica e Histométrica em Ratos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 27, n. 1, p. 53–72, 4 jun. 2013.
10. AGRILLO, A. et al. Ozone Therapy in the Treatment of Avascular Bisphosphonate-Related Jaw Osteonecrosis. **Journal of Craniofacial Surgery**, v. 18, n. 5, p. 1071–1075, set. 2007. DOI: 10.1097/scs.0b013e31857261f
11. THUMBIGERE-MATH, V. et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Journal of Periodontology**, v. 85, n. 2, p. 226–233, 1 fev. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130017>

12. NOGALES, C. G. et al. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 9, n. 4, p. 75–84, 2008.
13. ELVIS, A. M.; EKTA, J. S. Ozone therapy: A clinical review. **Journal of Natural Science, Biology, and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 66–70, 2011. DOI: <https://doi.org/10.4103/0976-9668.82319>
14. SOUZA, Y. M. et al. Evaluation of the effects of ozone therapy in the treatment of intra-abdominal infection in rats. **Clinics**, v. 65, p. 195–202, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1807-59322010000200012>
15. RIPAMONTI, C. I. et al. Treatment of Osteonecrosis of the Jaw (ONJ) by Medical Ozone Gas Insufflation. A Case Report. **Tumori**, v. 98, n. 3, p. e72–e75, 1 maio 2012. DOI: <https://doi.org/10.1177/030089161209800322>
16. RIPAMONTI, C. I. et al. Efficacy and tolerability of medical ozone gas insufflations in patients with osteonecrosis of the jaw treated with bisphosphonates—Preliminary data. **Journal of Bone Oncology**, v. 1, n. 3, p. 81–87, 24 set. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2012.08.001>
17. SCOLETTA, M. et al. Treatment outcomes in patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a prospective study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 110, n. 1, p. 46–53, 1 jul. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.02.020>
18. STATKIEVICZ, C. 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**, v. 184, p. 7–17, 1 jul. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.004>
19. MCGOWAN, K.; MCGOWAN, T.; IVANOVSKI, S. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaws: A systematic review. **Oral Diseases**, v. 24, n. 4, p. 527–536, 2 ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/odi.12708>
20. ANDIA, D. C.; CERRI, P. S.; SPOLIDORIO, L. C.. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n. 2, p. 191-198, 2006.
21. DELFRATE, G.. **Efeito da pentoxifilina e α -tocoferol na osteonecrose de mandíbula induzida por bifosfonato: antes e depois da exodontia**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2021.
22. SHETTY, K.; BOUQUOT, J.. Residual (ghost) sockets in bisphosphonate use—evidence of poor healing and slow bone turnover. **General dentistry** vol. 57,2 (2009): 130-5.
23. SUH, Y. et al. Clinical utility of ozone therapy in dental and oral medicine. **Medical gas research** vol. 9,3 (2019): 163-167. doi:10.4103/2045-9912.266997
24. RODRIGUES, T. S. et al. Histological investigation of a 10% metronidazole and 2% lidocaine dressing on wound healing in rats. **Minerva stomatologica** vol. 55,11-12 (2006): 619-26.

25. ALLEN, M. R. et al. Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. **Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA** vol. 22,2 (2011): 693-702. doi:10.1007/s00198-010-1268-4

ANEXOS

ANEXO A - Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP



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 "**Terapias auxiliares para o tratamento de osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos após exodontia em ratas ovariectomizadas**", Processo FOA nº 0268-2022, sob responsabilidade de Ana Paula Farnezi Bassi apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 30 de Maio de 2022.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Maio de 2024.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Junho de 2024.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Auxiliary therapies for the treatment of drug-induced osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in ovariectomized female rats**", Protocol FOA nº 0268-2022, under the supervision of Ana Paula Farnezi Bassi presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on May 30, 2022.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: May 30, 2024.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: June 30, 2024.

Prof. Dr. 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