

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 20/04/2028

STÉFANY BARBOSA ALVES DA CRUZ

**Desenvolvimento e comportamento reparacional de um hidrogel
termossensível de poli (N-vinilcaprolactama) com liberação
controlada de tetraciclina e rosuvastatina na prevenção e controle
da osteonecrose dos maxilares relacionada as medicações
antirreabsortivas**

STÉFANY BARBOSA ALVES DA CRUZ

**Desenvolvimento e comportamento reparacional de um hidrogel
termossensível de poli (N-vinilcaprolactama) com liberação
controlada de tetraciclina e rosuvastatina na prevenção e controle
da osteonecrose dos maxilares relacionada as medicações
antirreabsortivas**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani

Coorientadores:

Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão e
Profa. Dra. Érica Dorigatti de Avila

**Araçatuba - SP
2026**

Catálogo na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C957d Cruz, Stéfany Barbosa Alves da.
Desenvolvimento e comportamento reparacional de um hidrogel termossensível de poli (N-vinilcaprolactama) com liberação controlada de tetraciclina e rosuvastatina na prevenção e controle da osteonecrose dos maxilares relacionada as medicações antirreabsortivas / Stéfany Barbosa Alves da Cruz. - Araçatuba, 2026
61 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Leonardo Perez Faverani
Coorientadores: Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão e Profa. Dra. Érica Dorigatti de Avila

1. Osteonecrose 2. Hidrogéis 3. Tetraciclina 4. Rosuvastatina cálcica 5. Ácido zoledrônico I. T.

Black D7
CDD 617.64

Entrega o teu caminho ao Senhor; confia nele, e Ele tudo fará
(Salmos 37:5)

AGRADECIMENTOS

A **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA / UNESP)”** na pessoa do atual diretor Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”** na pessoa da atual Coordenadora Prof.^a Titular Roberta Okamoto

Aos **funcionários da Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP** pelo carinho e atenção sempre oferecidos.

Aos **funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, especialmente a Ana Claudia Martins Grieger Manzatti, pela prontidão e carinho com que sempre nos atendeu.

Ao **laboratório de Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP**, em nome da professora Marlise Inêz Klein Furlan, pela realização do ensaio microbiológico.

Ao **laboratório de Prótese Total da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP**, em nome do professor Valentim Adelino Ricardo Barão, pela realização das análises de caracterização do hidrogel.

Ao **laboratório Multiusuário da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP** (#01.12.0530.00-FINEP/PROINFRA 01/2011) pela realização do escaneamento por Microtomografia Computadorizada e utilização do equipamento Scanner de lâminas MoticEasyScan One.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – (CNPQ)** – pela concessão de Bolsa de Doutorado durante os dois primeiros anos do curso.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** – Código de Financiamento 001, pela concessão da Bolsa de Doutorado durante o último ano.

Aos **animais in memoriam**, que serviram com suas vidas em prol da ciência.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, **Professor Leonardo Perez Faverani**, do qual tenho a honra de ser orientada há 10 anos. O senhor me acolheu e confiou em mim desde o primeiro ano de graduação e desde então tenho um mestre para me espelhar e inspirar. É muito lindo ver a paixão com que o senhor ensina e se dedica a tudo que faz! Conviver esses anos com o senhor me ensinou que a docência pode ser leve e que quando colocamos amor naquilo que fazemos, o trabalho deixa de ser um fardo e passa a ser um prazer. Obrigada por sempre me atender com tanto carinho e por ter se tornado o amigo que o senhor é hoje. Tenho certeza de que nossa caminhada não se encerra aqui.

Aos meus coorientadores, **Professor Valentim Adelino Ricardo Barão e Professora Erica Dorigatti de Avila** agradeço imensamente por aceitarem de imediato serem meus coorientadores e por estarem sempre dispostos a ajudar com o desenvolvimento deste estudo. Admiro muito os grandes pesquisadores que são e me alegro sempre em poder prender com vocês.

A **Professora Ana Paula Farnezi Bassi** por estar presente em tantos momentos especiais da minha vida. A senhora não tem ideia do quão feliz sou de saber que posso contar com a senhora em todos os momentos! Desde a graduação admiro a forma como a senhora conduz os casos clínicos e como trata os pacientes com compaixão. Aprendi com a senhora que além de bons cirurgiões, temos que também acolher com amor nossos pacientes. Aprendi também que a determinação nos faz quem somos, pois a senhora é um exemplo de força e determinação!! Obrigada por muitas vezes ser auxílio e por fazer isso com tanto carinho!!

Ao **Professor Edilson Ervolino** por nunca medir esforços para nos ajudar! Além de ser um dos professores com melhor didática que já conheci, é um pesquisador de excelência e uma pessoa extraordinária. Nunca irei esquecer a forma como o senhor está sempre disposto a ajudar a todos e o quanto me ajudou desde o mestrado. Admiro muito o senhor em tudo que faz e me orgulho de poder ter aprendido tanto com o senhor nesses últimos anos.

Ao **Professor Tiburtino José de Lima Neto** por ter me ensinado tanto sobre pesquisa e sobre a vida durante sua passagem pela FOA. Sempre lembro das nossas conversas sobre os caminhos da vida, sobre os rumos que tomamos e sobre os lugares que alcançamos. Pude ver um pouco da sua trajetória e hoje te ver como professor da FOP/UNICAMP, uma faculdade tão renomada, me faz sentir um orgulho imenso e me faz ter a certeza de que esse caminho vale a pena. Agradeço por ser amigo e por sempre estar disposto a me ajudar. Aproveito para

agradecer a sua esposa, **Kim Henderson Carmo Ribeiro**, obrigada por sua amizade, obrigada pelos direcionamentos que você me ajudou a tomar, obrigada pelas risadas em um dia cansativo e por me acolher como parte da sua família. E obrigada por nos presentear com a Louise, que tenho tanto carinho!! Ela tem muita sorte de ter vocês!!

A **professora Cecília Alves de Sousa Medeiros**, por fazer parte da minha história na FOA e por aceitar participar deste momento. Quando nos conhecemos, no cursinho DACA eu nem poderia imaginar que viveria o doutorado e hoje tenho a felicidade de encerrar este ciclo com sua presença. Obrigada por sempre me auxiliar quando precisei e por ser sempre tão gentil comigo. Admiro muito sua trajetória e tudo que você tem conquistado!!

A **aluna de pós-doutorado Caroline Dini**, gratidão por tudo que você foi durante meu doutorado. Este trabalho não aconteceria sem você! Obrigada por toda paciência e por todo zelo ao me ajudar esses anos. Tenho certeza que trabalhar com você foi mais um dos presentes de Deus na minha vida, pois desde o início soube que nossa relação seria muito boa. Sou muito grata por tudo e estarei sempre torcendo pelo seu sucesso Carol!!

A **Izabela Fornazari Delamura e Ana Maira Pereira Baggio**, obrigada por sua amizade e por serem meu apoio durante o doutorado. Nossa amizade é uma das coisas mais preciosas que a pós me trouxe! Sou grata de poder contar com vocês, de poder compartilhar minhas alegrias, minhas frustrações e saber que tenho vocês para me ouvir. Tenho certeza de que irão alcançar coisas ainda mais lindas, e celebrarei todas elas com vocês!!

Agradeço todos os meus colegas da pós-graduação da FOA/UNESP que ajudaram a tornar os dias de trabalho mais leves e que pudemos cultivar amizades que levarei para a vida, em especial a **Melissa Koto Murai, Franciele da Silva Flores, Arthur Henrique Alécio Viotto, Matheus Henrique Faccioli Ragghianti, Eduardo Dallazen, Bárbara Ribeiro Rios** e as minhas colegas de pós-graduação da FOP/UNICAMP, **Mileni Buzo de Souza, Isla Almeida e Gabriela Cristina Baccaro**.

Agradeço a **todos os alunos de iniciação científica** que de alguma forma se dedicaram a este e a tantos trabalhos desenvolvidos pelo grupo, em especial a **Letycia Carpaneji Paludetto, Juliana Mazzini Silva Falcão Simalha e Fábio José Tavares Filho**, vocês foram fundamentais para o desenvolvimento deste estudo!!

Aos meus pais, **Fidelcino Barbosa e Maria Estela Bertechini Barbosa**, que tanto fizeram para que eu pudesse chegar até aqui. Obrigada por sempre acreditarem em mim, por

sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas, por abdicarem de tantas coisas para investir na minha formação. Sei o quanto vocês batalharam para que nunca faltasse nada e tenho muito orgulho de quem vocês são e tudo que construíram! Obrigada por tudo que fizeram e fazem por mim, vocês são meu mais puro exemplo de amor.

Ao amor da minha vida, **Vitor Henrique Alves da Cruz**, você que acompanha de perto todas as minhas dificuldades, que celebra comigo cada conquista, que acredita em mim mais do que eu mesma e que é o meu maior incentivador. Obrigada por estar comigo em todos os momentos, obrigada por me levantar quando eu mais precisei, obrigada por enfrentar tudo que for preciso ao meu lado e por ser meu lar. Você me torna uma pessoa melhor e me faz querer ir ainda mais longe. Amo você e tudo que estamos conquistando juntos.

RESUMO

Cruz SBA. Desenvolvimento e comportamento reparacional de um hidrogel termossensível de poli (N-vinilcaprolactama) com liberação controlada de tetraciclina e rosuvastatina na prevenção e controle da osteonecrose dos maxilares relacionada as medicações antirreabsortivas [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia; 2026.

O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar o efeito de um hidrogel termossensível poli (N-vinilcaprolactama) (PNVCL) com liberação controlada de tetraciclina e rosuvastatina na prevenção da osteonecrose dos maxilares relacionada a medicamentos (MRONJ). Para tanto, foi realizado inicialmente o desenvolvimento e a caracterização *in vitro* do hidrogel termossensível e incorporação das medicações. A caracterização contou com Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise do grau de intumescência, degradação e liberação das medicações, isto é, rosuvastatina e tetraciclina. Além disso, um ensaio microbiológico foi realizado com saliva de pacientes com MRONJ, considerando crescimento do biofilme em aerobiose, anaerobiose e em meio para fungos. Em seguida, 30 ratas Wistar com 12 meses foram submetidas a ovariectomia bilateral. Após 2 meses, foi realizado, no dia -1 a instalação de uma ligadura de algodão ao redor do primeiro molar inferior esquerdo. No dia 0, foi iniciada a aplicação de Zoledronato através do protocolo 100µg/kg realizada a cada 3 dias, por 7 semanas. Após 3 semanas, foi realizada a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo de todos os animais. Nesse momento, o alvéolo foi preenchido de acordo com o grupo ao qual pertencia. Para o **grupo BC**, nenhum material foi utilizado para preencher o alvéolo, somente o preenchimento com coágulo sanguíneo (controle negativo). No **grupo CHX** foi preenchido utilizado o gel de clorexidina 0,2%. Para o **grupo PNVCL**, foi preenchido com hidrogel termossensível de poli (N-vinilcaprolactama). Enquanto, para o grupo **PNVCL + TC**, preenchido com hidrogel PNVCL com tetraciclina em concentração de 25mg. Para o **grupo PNVCL + RS** o alvéolo foi preenchido com hidrogel de PNVCL com rosuvastatina. Já o **grupo PNVCL+TC+RS** teve o alvéolo preenchido com hidrogel de PNVCL com tetraciclina e rosuvastatina. Aos 28 dias, todos os animais foram anestesiados e realizadas fotos clínicas da região de exodontia. Em seguida, foi realizada a eutanásia e a dissecação da mucosa na região do primeiro molar para análise histológica, além da coleta das hemimandíbulas e seu encaminhamento para microtomografia computadorizada e análise histomorfométrica. Todos os dados quantitativos obtidos foram submetidos a análise estatística considerando $p < 0.05$. As análises de caracterização demonstraram grau de intumescência e

degradação semelhantes para os grupos com hidrogel, com o grupo CHX apresentando valores superiores. A liberação de tetraciclina em 144 horas foi gradual, enquanto a rosuvastatina foi completamente liberada em 1 hora. O ensaio microbiológico demonstrou eficácia antimicrobiana de CHX, inclusive contra fungos, enquanto PNVCL+TC e PNVCL+TC+RS também apresentaram bom efeito antibacteriano. A análise clínica demonstrou tecido gengival mais satisfatório para PNVCL+TC+RS, com total recobrimento do tecido ósseo na área de exodontia, o que foi corroborado pela análise histológica da mucosa ao redor do local de extração, que demonstrou epitélio mais espesso para este grupo. Através da microtomografia e da análise histomorfométrica foi evidenciada maior formação de tecido ósseo para PNVCL+TC+RS, seguido de PNVCL+TC e PNVCL+RS. Tais resultados sugerem importante eficácia do hidrogel com tetraciclina e rosuvastatina, especialmente quando combinados, na modulação preventiva de MRONJ em ratas medicadas com Zoledronato.

Palavras-chave: osteonecrose; hidrogéis; tetraciclina; rosuvastatina; zoledronato.

ABSTRACT

Cruz SBA. Development and Reparative Behavior of a Thermosensitive Poly(N-vinylcaprolactam) Hydrogel with Controlled Release of Tetracycline and Rosuvastatin for the Prevention and Management of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws Associated with Antiresorptive Therapy. [tesis]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia; 2026.

The objective of this study was to develop and evaluate the effect of a thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam) (PNVCL) hydrogel with controlled release of tetracycline and rosuvastatin in the prevention and control of medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). To this end, the development and in vitro characterization of the thermosensitive hydrogel were initially performed, along with the incorporation of the medications. The characterization included Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and the analysis of the swelling degree, degradation, and release of the medications, namely rosuvastatin and tetracycline. Additionally, a microbiological assay was performed with saliva from MRONJ patients to assess biofilm growth in aerobiosis, anaerobiosis, and fungal media. Subsequently, 30 twelve-month-old Wistar rats were subjected to bilateral ovariectomy. Two months later, on day -1, a cotton ligature was placed around the lower left first molar. On day 0, the administration of zoledronate was initiated using a protocol of 100 µg/kg every 3 days for 7 weeks. After 3 weeks, extraction of the lower left first molar was performed in all animals. At this point, the alveolar socket was filled according to the group to which the animal belonged. For the **BC group**, no material was used to fill the socket, allowing only filling with a blood clot (negative control). For the **CHX group**, the socket was filled with 0.2% chlorhexidine gel. For the **PNVCL group**, the alveolus was filled with a thermosensitive poly(N-vinylcaprolactam) hydrogel. The **PNVCL + TC group** was filled with PNVCL hydrogel containing tetracycline at a concentration of 25 mg. For the **PNVCL + RS** group, the alveolar socket was filled with PNVCL hydrogel containing rosuvastatin. In the **PNVCL + TC + RS** group, the alveolar socket was filled with PNVCL hydrogel containing tetracycline and rosuvastatin. At 28 days, all animals were anesthetized and clinical photographs of the extraction site were taken. Subsequently, euthanasia was performed, and the mucosa in the first molar region was dissected for histological analysis. In addition, the hemimandibles were collected and sent for micro-computed tomography and histomorphometric analysis. All quantitative data obtained were subjected to statistical analysis, considering the significance level of $p < 0.05$. The characterization analyses demonstrated similar degrees of swelling and degradation for the

hydrogel groups, whereas the CHX group exhibited higher values. The release of tetracycline over 144 hours was gradual, whereas rosuvastatin was completely released within 1 hour. The microbiological assay revealed the antimicrobial efficacy of CHX, including antifungal activity, while PNVCL+TC and PNVCL+TC+RS also showed a good antibacterial effect. Clinical evaluation revealed a more satisfactory gingival tissue for the PNVCL+TC+RS group, with complete coverage of the bone tissue at the extraction site. This finding was corroborated by the gingival assessment, which demonstrated a thicker epithelium for this group. Microtomographic and histomorphometric analyses revealed greater bone tissue formation in the PNVCL+TC+RS group, followed by the PNVCL+TC and PNVCL+RS groups. These findings suggest a significant efficacy of the hydrogel containing tetracycline and rosuvastatin, particularly when combined, in the preventive modulation of MRONJ in zoledronate-treated rats.

Keywords: osteonecrosis; hydrogels; tetracycline; rosuvastatin; zoledronate.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Procedimento cirúrgico de ovariectomia bilateral. (A) Divulsão do tecido muscular abdominal após incisão da pele. (B) Exposição do tuba uterina e ovário (seta preta). (C) Sutura da camada muscular após ovário ter sido removido e devolvido a cavidade abdominal. (D) Sutura do plano externo 20
- Figura 2 - Sequência de procedimentos realizados no dia da exodontia do primeiro molar inferior esquerdo. (A) Aspecto inicial do primeiro molar, com amarrinha repleta de placa bacteriana. (B) Aspecto após remoção da amarrinha, demonstrando retração gengival. (C) Instrumento em região distal para luxação do primeiro molar. (D) Alvéolo pós-exodôntico. (E) Demonstração da aplicação de hidrogel através de pipeta e ponteira específicos. (F) Representação do hidrogel no alvéolo após aplicação (grupos PNVCL, PNVCL+TC, PNVCL+RS e PNVCL+TC+RS) 22
- Figura 3 - Imagem representativa do desenho experimental, indicando os períodos de realização de ligadura de algodão, aplicação de zoledronato, extração dentária e eutanásia 23
- Figura 4 – Demonstração da metodologia utilizada para análise da mucosa adjacente ao sítio de extração. (A) Ferramenta “Straight Line” do software “ImageJ”. (B) Imagem histológica com área de menor espessura do epitélio selecionada. (C) Imagem histológica com área de maior espessura do epitélio selecionada 25
- Figura 5 – Demonstração das áreas utilizadas para análise histomorfométrica das amostras. Em preto, áreas 1 e 2, representa o interior dos alvéolos mesial e distal do primeiro molar inferior esquerdo, que foram utilizados para mensuração da porcentagem de tecido ósseo neoformado (TONF). Em vermelho, áreas 3 e 4, representa septo interradicular e tecido ósseo imediatamente a frente do primeiro molar, utilizadas para mensuração da porcentagem de tecido ósseo não vital (TONV) 28
- Figura 6 – Padrão de absorção para monômero e polímeros através de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier 29
- Figura 7 - Representação gráfica dos resultados de grau de intumescência. A diferença estatística entre os grupos é demonstrada pelas letras minúsculas (“a” e “b”) 30
- Figura 8 - Representação gráfica das médias de degradação para os grupos experimentais, nos períodos de 1, 7, 14 e 28 dias. As letras minúsculas (“a” e “b”) representam as diferenças estatísticas entre os grupos e as letras maiúsculas (“A” e “B”) representam a diferença intragrupo nos diferentes tempos experimentais 31

Figura 9 - Representações gráficas, em miligramas e em porcentagem, da liberação das medicações tetraciclina e rosuvastatina incorporadas ao hidrogel termossensível de PNVCL

32

Figura 10 – Representações gráficas da quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC) para cada grupo experimental em diferentes condições de crescimento do biofilme. (A) Valores referentes ao biofilme crescido em ágar sangue em condição de aerobiose. (B) Valores referentes ao biofilme crescido em ágar sangue em condição de anaerobiose. (C) Valores referentes ao biofilme crescido em chromagar, meio específico para fungos. A diferença estatisticamente significativa foi representada pelas letras minúsculas (a, b, c)

33

Figura 11 - Aspecto macroscópico do sítio cirúrgico alveolar das ratas medicadas com zoledronato, após 28 dias de exodontia, para os diferentes grupos experimentais (BC, CHX, PNVCL, PNVCL+TC, PNVCL+RS e PNVCL+TC+RS)

34

Figura 12 – Análise histológica da gengiva. (A) e (D) Imagens representativas da mucosa para os grupos BC, CHX, PNVCL e PNVCL+TC, PNVCL+RS, PNVCL+TC+RS, respectivamente, em magnitude de 10x. (B) e (E) Imagem representativa em 40x com ênfase ao tecido epitelial. (C) e (F) Imagem representativa em 40x com ênfase ao tecido conjuntivo adjacente ao epitélio. (G) Representação gráfica dos valores médios de menor espessura epitelial. (H) Representação gráfica dos valores médios de maior espessura epitelial. (I) Representação gráfica dos valores de espessura epitelial média (média entre os valores de maior e menor espessura). A diferença estatisticamente significativa entre os grupos foi representada pelas letras minúsculas. O asterisco (*) identifica vasos sanguíneos

35

Figura 13 - Resultados referentes a análise de microtomografia computadorizada. (A) Imagens gráficas dos parâmetros de quantidade (BV e BV.TV) e qualidade (Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp, Po(Tot)) do tecido ósseo. As letras minúsculas representam as diferenças significativamente estatísticas entre os grupos. (B) Imagens bidimensionais, representativas do aspecto do tecido ósseo neoformado no interior do alvéolo para cada grupo experimental

38

Figura 14 - Resultados relativos à análise histomorfométrica – porcentagem de tecido ósseo não vital (TONV). (A) Imagens representativas das regiões 3 e 4 em magnitude de 40x. (B) Representação gráfica dos valores de tecido ósseo não vital. As diferenças significativamente estatísticas estão representadas pelas letras minúsculas. Setas pretas – representam exemplares de osteoplastos vazios, isto é, sem osteócito. Setas brancas – representam exemplares de osteócitos na matriz óssea

40

Figura 15- Resultados relativos à análise histomorfométrica – porcentagem de tecido ósseo neoformado (TONF). (A) Imagens representativas dos alvéolos para cada grupo experimental, áreas 1 e 2, em magnitude de 40x. (B) Representação gráfica dos valores de tecido ósseo neoformado. As diferenças significativamente estatísticas estão representadas pelas letras minúsculas. Seta vermelha (triângulo)- representa presença de áreas de necrose associadas a hifas de bactérias (grupo BC). Asterisco (*) - representa tecido ósseo antigo. TONF (Tecido ósseo neoformado) -representa as áreas de tecido ósseo neoformado no interior do alvéolo. TC (tecido conjuntivo) – representa as áreas de tecido conjuntivo no interior do alvéolo

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons
BC	Coágulo sanguíneo
BMP-2	Proteína morfogenética óssea
BV	Volume ósseo
BV.TV	Porcentagem de volume ósseo
CBA	Meio de cultura Ágar Sangue Columbia
CEUA	Comissão de ética no Uso de Animais
CHX	Clorexidina 0,2%
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
HE	Hematoxilina e eosina
MRONJ	Osteonecrose dos maxilares relacionada aos medicamentos
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
PNVCL	poli(N-vinilcaprolactama)
ROI	Região óssea de interesse
RS	Rosuvastatina
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação das trabéculas ósseas
Tb.Th	Espessura do trabeculado ósseo
TC	Tetraciclina
TONF	Porcentagem de tecido ósseo neoformado
TONV	Porcentagem de tecido ósseo não vital
UFC	unidades formadoras de colônias
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS GERAIS	15
2.1 Objetivos Específicos	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Estudo In Vitro	16
3.1.1 Desenvolvimento do hidrogel	16
3.1.2 Caracterizações do hidrogel	17
3.2 Estudo In Vivo	19
3.2.1 Desenho experimental animal	19
3.2.2 Delineamento dos procedimentos cirúrgicos	19
3.2.3 Ovariectomia bilateral	20
3.2.4 Indução de periodontite experimental	21
3.2.5 Período de aplicação de Zoledronato	21
3.2.6 Exodontia	21
3.2.7 Aplicação do hidrogel – protocolo preventivo	22
3.2.8 Eutanásia	23
3.2.9 Métodos de análises	24
3.2.10 Análise estatística	28
4.1 In Vitro	29
4.1.1 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	29
4.1.2 Grau de intumescência	29
4.1.3 Degradação do hidrogel	30
4.1.4 Liberação controlada de tetraciclina e rosuvastatina	31
4.1.5 Ensaio microbiológico <i>in vitro</i>	32
4.2 In Vivo	33
4.2.1 Análise clínica	33
4.2.2 Análise histológica da mucosa adjacente ao sítio de extração	34
4.2.3 Microtomografia Computadorizada (Micro-Ct)	36
4.2.4 Análise histomorfométrica das amostras	39
5 DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

Segundo a American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS), a osteonecrose dos maxilares relacionada aos medicamentos (MRONJ) é definida como a presença de tecido ósseo exposto em cavidade bucal por mais de 8 semanas em pacientes em uso ou com histórico de terapia com medicações antirreabsortivas ou antiangiogênicas, sem histórico de radioterapia de cabeça e pescoço (1,2). As medicações antirreabsortivas, representadas principalmente pelos bifosfonatos e pelo anticorpo monoclonal Anti-RANKL (Denosumabe), são geralmente prescritas para condições como osteoporose, mieloma múltiplo, cânceres com alto potencial osteolítico e doença de Paget(3,4). O mecanismo de ação das medicações antirreabsortivas é baseado em inibir a enzima farnesil pirofosfato sintase, que faz parte da via do mevalonato, o que culmina em inibição da maturação dos osteoclastos, supressão de suas funções e até apoptose (5–7). Nesse sentido, o ácido zoledrônico ou zoledronato, da classe dos bifosfonatos, é considerado um dos antirreabsortivos de maior potência e largamente indicado em casos que demandam uma maior sustentação da deposição óssea em contraste com a reabsorção (1,8).

Os ossos gnáticos, especialmente a mandíbula, apresentam uma alta demanda por remodelação óssea frente aos inúmeros desafios aos quais são expostos, que incluem desde microtraumas relacionados a mastigação até doenças periodontais, lesões periapicais, movimentos ortodônticos, extrações e instalação de implantes osseointegráveis. Diante da supressão da remodelação óssea provocada pelos antirreabsortivos, a matriz óssea com atividade osteoclástica deficiente é incapaz de eliminar o tecido ósseo frágil, gerando um osso fisiologicamente inviável, que pode ser visto como osso alveolar não reparacional após exodontias, exposição de tecido ósseo ou formação de sequestro ósseo (6,9).

Atrelado a isso, a dificuldade da matriz óssea em gerar respostas metabólicas reparadoras a citocinas e células pró-inflamatórias produz um ambiente propício para contaminação, pensando principalmente no fato de a microbiota bucal ser rica em espécies bacterianas (10). Segundo a literatura, as principais espécies bacterianas presentes em sítios de MRONJ são *Streptococcus spp.*, *Actinomyces spp.* e *Prevotella spp.*, essas bactérias aeróbias e anaeróbias provocam reação inflamatória significativa e seus produtos de metabolização estimulam a necrose tecidual(10–12). Adicionalmente, os antirreabsortivos provocam redução significativa da vascularização, o que além de ser um grande impedimento ao reparo ósseo

adequado, favorece ainda mais colonização por bactérias anaeróbias, além de favorecer a morte celular, tanto óssea quanto de tecidos moles (gengiva e mucosa) (13).

Frente a essa problemática, é evidente a necessidade de meios de prevenção à ocorrência de MRONJ, especialmente diante da impossibilidade de adiar procedimentos que demandam resposta metabólica óssea, como exodontia de dentes comprometidos. Apesar de levantar diversas possíveis formas de prevenção, como uso pentoxifilina e tocoferol sistêmico(14), terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT)(15,16), fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PFR(17)), ozonioterapia(18,19) e até mesmo alternativas mais experimentais como fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF)(20) e células-tronco derivadas do tecido adiposo(21), não há um consenso e um protocolo bem definido para prevenção desta condição(22,23). Pensando nessa dificuldade e nas consequências dos antirreabsortivos na maxila e mandíbula, isto é, atraso no reparo tecidual, alta contaminação local e permeabilidade vascular deficiente, é imprescindível pensar em um meio de prevenção que poderia suprir todas essas deficiências.

Surge então a idealização de um hidrogel termossensível como carreador de medicações para aplicação local, como será explanado a seguir. Os hidrogéis são considerados uma opção de carregamento de medicações para liberação controlada em locais determinados, possuindo ainda benefício de baixo custo, baixa citotoxicidade e facilidade de confecção(24). Os hidrogéis termossensíveis injetáveis podem transitar do estado líquido para gel de acordo com mudanças de temperatura (25). Entre os polímeros termossensíveis, o poli (N-vinilcaprolactama) (PNVCL) possui temperatura crítica de solução com valores similares a temperatura fisiológica do corpo humano, passando pela transição de líquido para gel quando injetado em sítios com temperatura em torno de 37°C(25,26). Além disso, apresenta viabilidade satisfatória com ausência de componentes tóxicos(27,28).

Dentre as medicações pensadas para serem incorporadas ao hidrogel, tem-se a Tetraciclina, um antibiótico bacteriostático, de amplo espectro e que já apresentou efeitos locais quando do tratamento de doença periodontal e periimplantar, promovendo diminuição da contagem de bactérias anaeróbias, redução do sangramento e de bolsas à sondagem (29,30). Acredita-se que além da importante ação antibacteriana, as tetraciclinas ainda possuem capacidade anticolagenase e propriedades estimuladoras de fibroblastos(31,32). Diante do contexto das MRONJ, sabe-se que as penicilinas naturais ou semi-sintéticas, quinolonas, metronidazol e as tetraciclinas são as mais utilizadas na ação contra as bactérias nas infecções em necroses dos maxilares(1,33–35). É importante ressaltar que em se tratando do uso sistêmico

dos antibióticos, principalmente nas terapias no longo prazo, com a possibilidade de efeitos adversos e disbioses, o desenvolvimento destes com ação tópica é fundamental, e, neste contexto, as tetracilinas representam uma classe que como relatado anteriormente, tem efeito tópico comprovado.

A segunda medicação, a Rosuvastatina, foi proposta neste estudo, por ser um fármaco hipolipemiante da classe das estatinas, utilizada para prevenção de doenças cardiovasculares, e por ter importantes efeitos na estimulação do reparo ósseo, promoção de angiogênese e efeitos antiinflamatórios, que se dão principalmente pelo aumento da expressão da proteína morfogenética óssea (BMP-2) e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (36–39). Estudos de aplicação local de rosuvastatina em modelos animais comprovaram este potencial da otimização do reparo ósseo, através da expressão aumentada de BMP-2, tecido ósseo mais organizado e em maturação mais avançada e maiores valores de área de osso neoformado para os grupos que utilizaram a rosuvastatina (36,37,40).

Diante da falta de um protocolo clínico definitivo para prevenção de MRONJ em pacientes com histórico ou em uso de medicações antirreabsortivas e da falta de evidências científicas com aplicação de hidrogel termossensível carregado com medicações como tetraciclina e rosuvastatina, o desenvolvimento deste estudo inédito foi de grande relevância para compreensão dos mecanismos modulatórios do reparo tecidual nesta condição. A associação entre as duas medicações utilizadas nesta investigação, também é inédita. O modelo experimental pré-clínico escolhido envolve a aplicação do hidrogel em única sessão após a exodontia em ratas ovariectomizadas e medicadas com zoledronato.

6 CONCLUSÃO

O hidrogel termossensível de PNVCL com liberação de tetraciclina e rosuvastatina (grupo PNVCL+TC+RS) preveniu a ocorrência de MRONJ e ainda otimizou o padrão de reparação tecidual. Além disso, o uso das medicações carregadas pelo hidrogel, de forma isolada, também se mostrou eficaz na modulação biológica do reparo ósseo em condição de risco para MRONJ.

REFERÊNCIAS

1. 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 Jaws—2022 Update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2022;80(5):920–43. doi:<https://doi.org/10.1016/j.joms.2022.02.008>
2. 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.joms.2014.04.031>
3. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-Induced Exposed Bone (Osteonecrosis/Osteopetrosis) of the Jaws: Risk Factors, Recognition, Prevention, and Treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005;63(11):1567–75. doi:<https://doi.org/10.1016/j.joms.2005.07.010>
4. Khosla S, Burr D, Cauley J, Dempster DW, Ebeling PR, Felsenberg D, et al. Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw: Report of a Task Force of the American Society for Bone and Mineral Research. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2007 Oct 1;22(10):1479–91. doi:<https://doi.org/10.1359/jbmr.0707onj>
5. Otto S, Pautke C, Opelz C, Westphal I, Drosse I, Schwager J, et al. Osteonecrosis of the Jaw: Effect of Bisphosphonate Type, Local Concentration, and Acidic Milieu on the Pathomechanism. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2010;68(11):2837–45. doi:<https://doi.org/10.1016/j.joms.2010.07.017>
6. Anesi A, Generali L, Sandoni L, Pozzi S, Grande A. From Osteoclast Differentiation to Osteonecrosis of the Jaw: Molecular and Clinical Insights. *Int J Mol Sci*. 2019 Oct;20(19). doi:10.3390/ijms20194925 PubMed PMID: 31590328.
7. El- Sayed NF, El-Hussieny M, Mansour ST, Fouad MA, Saad MA, Ewies EF. Farnesyl pyrophosphate synthase inhibitors with antiosteoporosis efficacy in ovariectomized rats: A mixed binding approach beyond bisphosphonates. *Eur J Med Chem*. 2024 Oct;276:116679. doi:10.1016/j.ejmech.2024.116679
8. Wan JT, Sheeley DM, Somerman MJ, Lee JS. Mitigating osteonecrosis of the jaw (ONJ) through preventive dental care and understanding of risk factors. *Bone Res*. 2020;8(1):14. doi:10.1038/s41413-020-0088-1
9. Chang J, Hakam AE, McCauley LK. Current Understanding of the Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaw. *Curr Osteoporos Rep*. 2018;16(5):584–95. doi:10.1007/s11914-018-0474-4
10. Zirk M, Wenzel C, Buller J, Zöller JE, Zinser M, Peters F. Microbial diversity in infections of patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. *Clin Oral Investig*. 2019 May 1;23(5):2143–51. doi:10.1007/s00784-018-2655-z
11. Wei X, Pushalkar S, Estilo C, Wong C, Farooki A, Fornier M, et al. Molecular profiling of oral microbiota in jawbone samples of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis*. 2012/03/23. 2012 Sep;18(6):602–12. doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01916.x PubMed PMID: 22443347.
12. Ewald F, Wuesthoff F, Koehnke R, Friedrich RE, Gosau M, Smeets R, et al. Retrospective analysis of bacterial colonization of necrotic bone and antibiotic resistance in 98 patients with medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *Clin Oral Investig*. 2020/10/02. 2021 May;25(5):2801–9. doi:10.1007/s00784-020-03595-9 PubMed PMID: 33006027.
13. Ziebart T, Halling F, Heymann P, Neff A, Blatt S, Jung J, et al. Impact of Soft Tissue Pathophysiology in the Development and Maintenance of Bisphosphonate-Related

- Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ). *Dent J (Basel)*. 2016 Oct 25;4(4):36. doi:10.3390/dj4040036 PubMed PMID: 29563478.
14. Magalhães JMI, da Motta Silveira FM, Regueira LS, de Lima e Silva DF, de Andrade Veras SR, de Mello MJG. Pentoxifylline and tocopherol as prophylaxis for osteonecrosis of the jaw due to bone-modifying agents in patients with cancer submitted to tooth extraction: a case series. *Supportive Care in Cancer*. 2023 Aug 12;31(8):462. doi:10.1007/s00520-023-07906-0
 15. 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. doi:https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.10.014
 16. Faverani L, Cruz S, Delanora L, Delamura I, Silva M, Fonseca E Santos J, et al. Management of medication-related osteonecrosis of the jaw through the association of surgical treatment with local and systemic adjuvant therapies: a case series with follow-ups of up to 3 years. *Quintessence Int*. 2025 Sep 18;56(8):654–66. doi:10.3290/j.qi.b6376673 PubMed PMID: 40673802.
 17. Besi E, Pitros P. The role of leukocyte and platelet-rich fibrin in the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw, in patients requiring dental extractions: an observational study. *Oral Maxillofac Surg*. 2024 Jan 6;28(2):785–93. doi:10.1007/s10006-023-01204-z
 18. Delanora LA, de Lima Neto TJ, da Rocha TE, Silveira GRC, Levin L, Shibli JA, et al. Systemic Ozone Therapy Improves Oral Hard and Soft Tissue Healing in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ): A Study in Senescent Female Rats. *Biomedicines*. 2025 May 20;13(5):1248. doi:10.3390/biomedicines13051248
 19. Di Fede O, Del Gaizo C, Panzarella V, La Mantia G, Tozzo P, Di Grigoli A, et al. Ozone Infiltration for Osteonecrosis of the Jaw Therapy: A Case Series. *J Clin Med*. 2022 Sep 9;11(18):5307. doi:10.3390/jcm11185307 PubMed PMID: 36142954.
 20. Kurokawa S, Yagyu T, Funayama N, Imada M, Kirita T. Prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with basic fibroblast growth factor: an experimental study in rats. *Odontology*. 2025 Oct 20;113(4):1427–35. doi:10.1007/s10266-025-01073-w
 21. Dong X, Chen S, He Y, Zhang Y. Prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw in mice by adipose-derived stem cells associated with activated autophagic flux. *J Dent Sci*. 2024 Oct;19(4):2106–13. doi:10.1016/j.jds.2024.05.003
 22. Alabdali SA, Alabdali AA, Alnoaman SQ, Abuasida A, Balelah S, Almuzaini A, et al. Antiresorptive medication-related osteonecrosis of the jaw: Incidence and preventive measures utilization in cancer patients. *Saudi Dent J*. 2024 Dec;36(12):1635–40. doi:10.1016/j.sdentj.2024.12.005
 23. Bedogni A, Mauceri R, Fusco V, Bertoldo F, Bettini G, Di Fede O, et al. Italian Position Paper (SIPMO-SICMF) on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ). 2023. doi:10.32388/PBUJ6Z
 24. Ahadian S, Sadeghian RB, Salehi S, Ostrovidov S, Bae H, Ramalingam M, et al. Bioconjugated Hydrogels for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Bioconjug Chem*. 2015 Oct 21;26(10):1984–2001. doi:10.1021/acs.bioconjchem.5b00360
 25. Sala RL, Kwon MY, Kim M, Gullbrand SE, Henning EA, Mauck RL, et al. (*) Thermosensitive Poly(N-vinylcaprolactam) Injectable Hydrogels for Cartilage Tissue Engineering. *Tissue Eng Part A*. 2017/04/06. 2017 Sep;23(17–18):935–45. doi:10.1089/ten.tea.2016.0464 PubMed PMID: 28384053.

26. Klouda L, Mikos AG. Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008;68(1):34–45. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.02.025>
27. Vihola H, Laukkanen A, Valtola L, Tenhu H, Hirvonen J. Cytotoxicity of thermosensitive polymers poly(N-isopropylacrylamide), poly(N-vinylcaprolactam) and amphiphilically modified poly(N-vinylcaprolactam). *Biomaterials*. 2005;26(16):3055–64. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.008>
28. Srivastava A, Kumar A. Thermoresponsive poly(N-vinylcaprolactam) cryogels: synthesis and its biophysical evaluation for tissue engineering applications. *J Mater Sci Mater Med*. 2010;21(11):2937–45. doi:10.1007/s10856-010-4124-3
29. Mombelli A, Feloutzis A, Brägger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. *Clin Oral Implants Res*. 2001 Aug 1;12(4):287–94. doi:<https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2001.012004287.x>
30. de Avila ED, Castro AGB, Tagit O, Krom BP, Löwik D, van Well AA, et al. Anti-bacterial efficacy via drug-delivery system from layer-by-layer coating for percutaneous dental implant components. *Appl Surf Sci*. 2019;488:194–204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.05.154>
31. Mohiuddin K, Ravindra S, Ahmed MG, Murthy S, Smitha BR. Single use of tetracycline with and without diclofenac sodium as local drug delivery in pocket therapy: a clinico-microbiological study. *J Investig Clin Dent*. 2011 Nov 1;2(4):280–6. doi:<https://doi.org/10.1111/j.2041-1626.2011.00077.x>
32. Park JB. Effects of Doxycycline, Minocycline, and Tetracycline on Cell Proliferation, Differentiation, and Protein Expression in Osteoprecursor Cells. *Journal of Craniofacial Surgery* [Internet]. 2011;22(5). Available from: https://journals.lww.com/jcraniofacialsurgery/Fulltext/2011/09000/Effects_of_Doxycycline,_Minocycline,_and.65.aspx
33. Schiodt M, Otto S, Fedele S, Bedogni A, Nicolatou-Galitis O, Guggenberger R, et al. Workshop of European task force on medication-related osteonecrosis of the jaw—Current challenges. *Oral Dis*. 2019 Oct 1;25(7):1815–21. doi:<https://doi.org/10.1111/odi.13160>
34. Beth-Tasdogan NH, Mayer B, Hussein H, Zolk O. Interventions for managing medication-related osteonecrosis of the jaw. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Oct 6;10(10):CD012432–CD012432. doi:10.1002/14651858.CD012432.pub2 PubMed PMID: 28983908.
35. Ristow O, Rückschloß T, Schnug G, Moratin J, Bleymehl M, Zittel S, et al. Comparison of Different Antibiotic Regimes for Preventive Tooth Extractions in Patients with Antiresorptive Intake-A Retrospective Cohort Study. *Antibiotics (Basel)*. 2023 Jun 1;12(6):997. doi:10.3390/antibiotics12060997 PubMed PMID: 37370316.
36. Monjo M, Rubert M, Wohlfahrt JC, Rønold HJ, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. In vivo performance of absorbable collagen sponges with rosuvastatin in critical-size cortical bone defects. *Acta Biomater*. 2010;6(4):1405–12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.09.027>
37. Ibrahim HK, Fahmy RH. Localized rosuvastatin via implantable bioerodible sponge and its potential role in augmenting bone healing and regeneration. *Drug Deliv*. 2016 Nov 21;23(9):3181–92. doi:10.3109/10717544.2016.1160458
38. Rezazadeh M, Parandeh M, Akbari V, Ebrahimi Z, Taheri A. Incorporation of rosuvastatin-loaded chitosan/chondroitin sulfate nanoparticles into a thermosensitive hydrogel for bone tissue engineering: preparation, characterization, and cellular behavior. *Pharm Dev Technol*. 2019 Mar 16;24(3):357–67. doi:10.1080/10837450.2018.1484765

39. Gautam K, Kapoor A, Mathur S, Ali AR, Choudhary A, Shekhawat A. Comparative Evaluation of Autogenous Bone Graft and Autologous Platelet-Rich Fibrin with and Without 1.2 mg in situ Rosuvastatin Gel in the Surgical Treatment of Intrabony Defect in Chronic Periodontitis Patients. *Contemp Clin Dent*. 2022/03/23. 2022;13(1):69–77. doi:10.4103/ccd.ccd_740_20 PubMed PMID: 35466293.
40. Türier A, Durmuslar MC, Sener I, Misir AF, Önger ME. The Effect of Local Rosuvastatin on Mandibular Fracture Healing. *Journal of Craniofacial Surgery* [Internet]. 2016;27(8). Available from: https://journals.lww.com/jcraniofacialsurgery/Fulltext/2016/11000/The_Effect_of_Local_Rosuvastatin_on_Mandibular.94.aspx
41. Medeiros SF, Barboza JCS, Ré MI, Giudici R, Santos AM. Solution polymerization of N-vinylcaprolactam in 1,4-dioxane. Kinetic dependence on temperature, monomer, and initiator concentrations. *J Appl Polym Sci*. 2010 Oct 5;118(1):229–40. doi:https://doi.org/10.1002/app.32204
42. Zancanela DC, Funari CS, Herculano RD, Mello VM, Rodrigues CM, Borges FA, et al. Natural rubber latex membranes incorporated with three different types of propolis: Physical-chemistry and antimicrobial behaviours. *Materials Science and Engineering: C*. 2019;97:576–82. doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.042
43. Sani ES, Lara RP, Aldawood Z, Bassir SH, Nguyen D, Kantarci A, et al. An Antimicrobial Dental Light Curable Bioadhesive Hydrogel for Treatment of Peri-Implant Diseases. *Matter*. 2019/09/11. 2019 Oct 2;1(4):926–44. doi:10.1016/j.matt.2019.07.019 PubMed PMID: 31663080.
44. Tan H, Jin D, Qu X, Liu H, Chen X, Yin M, et al. A PEG-Lysozyme hydrogel harvests multiple functions as a fit-to-shape tissue sealant for internal-use of body. *Biomaterials*. 2019;192:392–404. doi:https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.10.047
45. Pham TN, Jiang YS, Su CF, Jan JS. In situ formation of silver nanoparticles-contained gelatin-PEG-dopamine hydrogels via enzymatic cross-linking reaction for improved antibacterial activities. *Int J Biol Macromol*. 2020;146:1050–9. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.230
46. Gmur R, Guggenheim B. Antigenic heterogeneity of *Bacteroides intermedius* as recognized by monoclonal antibodies. *Infect Immun*. 1983;42(2):459–70. doi:10.1128/iai.42.2.459-470.1983 PubMed PMID: 6196291.
47. Dini C, Costa RC, Bertolini M, Shibli JA, Feres M, Klein MI, et al. In-vitro polymicrobial oral biofilm model represents clinical microbial profile and disease progression during implant-related infections. *J Appl Microbiol*. 2023;134(11):1–14. doi:10.1093/jambio/lxad265 PubMed PMID: 37951291.
48. Dini C, Yamashita KM, Sacramento CM, Borges MHR, Takeda TTS, Silva JP dos S, et al. Tailoring magnesium-doped coatings for improving surface and biological properties of titanium-based dental implants. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2025;246(November 2024). doi:10.1016/j.colsurfb.2024.114382
49. Percie du Sert N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey MT, Baker M, et al. The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Br J Pharmacol*. 2020 Aug;177(16):3617–24. doi:10.1111/bph.15193 PubMed PMID: 32662519.
50. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 2014 Mar;14:43. doi:10.1186/1471-2288-14-43 PubMed PMID: 24667063.
51. Silva PG de B, Praxedes Neto RA de LP, Lima LA, Lemos JVM, Rodrigues MIDQ, Alves APNN, et al. Photodynamic therapy and photobiomodulation therapy in zoledronic acid-induced osteonecrosis in rats. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;38:102889. doi:https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.102889

52. Toro LF, de Mello-Neto JM, Santos FFV Dos, 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. *Sci Rep*. 2019 Jan 10;9(1):22. doi:10.1038/s41598-018-37063-y PubMed PMID: 30631095.
53. 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. *J Photochem Photobiol B*. 2018;184:7–17. doi:https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.004
54. Ramalho-Ferreira G, Faverani LP, Grossi-Oliveira GA, Okamoto T, Okamoto R. Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. *J Biomed Opt*. 2015 Mar;20(3):38003. doi:10.1117/1.JBO.20.3.038003 PubMed PMID: 25813805.
55. LUVIZUTO ER, QUEIROZ TP, DIAS SMD, OKAMOTO T, DORNELLES RCM, GARCIA IR, et al. 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:https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2009.11.001
56. 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. doi:10.1016/j.bone.2018.10.014
57. Haraji A, Rakhshan V. Single-Dose Intra-Alveolar Chlorhexidine Gel Application, Easier Surgeries, and Younger Ages Are Associated With Reduced Dry Socket Risk. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014;72(2):259–65. doi:https://doi.org/10.1016/j.joms.2013.09.023
58. Muñoz-Cámara D, Pardo-Zamora G, Camacho-Alonso F. Postoperative effects of intra-alveolar application of 0.2% chlorhexidine or 1% hyaluronic acid bioadhesive gels after mandibular third molar extraction: a double-blind randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*. 2021;25(2):617–25. doi:10.1007/s00784-020-03522-y
59. 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 Jul;25(7):1468–86. doi:10.1002/jbmr.141 PubMed PMID: 20533309.
60. Isabella Zacarin Guiati, Edilson Ervolino. Avaliação do emprego da curcumina associada ao diodo emissor de luz durante o reparo alveolar em ratas com alto risco para a osteonecrose dos maxilares. 2022.
61. Rao K, Rao K, Ha CS. Stimuli Responsive Poly(Vinyl Caprolactam) Gels for Biomedical Applications. *Gels*. 2016 Jan 25;2(1):6. doi:10.3390/gels2010006
62. Zhuo S, Halligan E, Tie BSH, Breheny C, Geever LM. Lower Critical Solution Temperature Tuning and Swelling Behaviours of NVCL-Based Hydrogels for Potential 4D Printing Applications. *Polymers (Basel)*. 2022 Aug 2;14(15):3155. doi:10.3390/polym14153155
63. Voycheva C, Slavkova M, Popova T, Tzankova D, Stefanova D, Tzankova V, et al. Thermosensitive Hydrogel-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles for Parenteral Application of Chemotherapeutics. *Gels*. 2023 Sep 21;9(9):769. doi:10.3390/gels9090769
64. Khan S, Rehman A, Badshah SF, Shazly GA, Metouekel A, Dabiellil F. Fabrication and *in vitro* evaluation of pH/thermo dual responsive hydrogels as controlled ibuprofen sodium *in situ* depot. *Des Monomers Polym*. 2025 Dec 31;28(1):1–15. doi:10.1080/15685551.2024.2442118

65. Chen Y, Sheng W, Lin J, Fang C, Deng J, Zhang P, et al. Magnesium Oxide Nanoparticle Coordinated Phosphate-Functionalized Chitosan Injectable Hydrogel for Osteogenesis and Angiogenesis in Bone Regeneration. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2022 Feb 16;14(6):7592–608. doi:10.1021/acsami.1c21260
66. Tie BSH, Halligan E, Zhuo S, Keane G, Geever L. Synthesis of NVCL-NIPAM Hydrogels Using PEGDMA as a Chemical Crosslinker for Controlled Swelling Behaviours in Potential Shapeshifting Applications. *Gels*. 2023 Mar 20;9(3):248. doi:10.3390/gels9030248
67. Türer A, Coşkun Türer Ç, Durmuşlar MC, Balli U, Önger ME. The influence of oral administration of rosuvastatin on calvarial bone healing in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2016;44(9):1327–32. doi:https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.04.021
68. Kostrzębska A, Pączek K, Weselak A, Musiał W. Effect of Hydrogel Substrate Components on the Stability of Tetracycline Hydrochloride and Swelling Activity against Model Skin Sebum. *Int J Mol Sci*. 2023 Jan 31;24(3):2678. doi:10.3390/ijms24032678
69. Cho J, Feldman G, Tomlinson R, Taub D, Diecidue R. Medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) systemic review: mevalonate pathway mechanisms explored. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2024 Oct;138(4):475–83. doi:10.1016/j.oooo.2024.05.014
70. Chin KY, Ekeuku SO, Trias A. The Role of Geranylgeraniol in Managing Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Front Pharmacol*. 2022 May 4;13. doi:10.3389/fphar.2022.878556
71. Doppelt O, Cohen G, Tamari T, Elimelech R, Sabbah N, Zigdon-Giladi H. Endothelial progenitors increase vascularization and improve fibroblasts function that prevent medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis*. 2020 Oct 1;26(7):1523–31. doi:https://doi.org/10.1111/odi.13412
72. Chang J, Hakam AE, McCauley LK. Current Understanding of the Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaw. *Curr Osteoporos Rep*. 2018 Oct 28;16(5):584–95. doi:10.1007/s11914-018-0474-4
73. Zahedipour F, Butler AE, Rizzo M, Sahebkar A. Statins and angiogenesis in non-cardiovascular diseases. *Drug Discov Today*. 2022 Oct;27(10):103320. doi:10.1016/j.drudis.2022.07.005
74. Lin M, Liu Y, Gao J, Wang D, Xia D, Liang C, et al. Synergistic Effect of Co-Delivering Ciprofloxacin and Tetracycline Hydrochloride for Promoted Wound Healing by Utilizing Coaxial PCL/Gelatin Nanofiber Membrane. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 8;23(3):1895. doi:10.3390/ijms23031895
75. Hassan R, Ahmed NF, Hussein SI. Histological, immunohistochemical and radiographic evaluation of Amitriptyline administration on the periodontium of albino rats (An experimental study). *Saudi Dent J*. 2022 Sep;34(6):449–57. doi:10.1016/j.sdentj.2022.06.010
76. Ulu A, Aygün T, Birhanlı E, Ateş B. Preparation, characterization, and evaluation of multi-biofunctional properties of a novel chitosan-carboxymethylcellulose-Pluronic P123 hydrogel membranes loaded with tetracycline hydrochloride. *Int J Biol Macromol*. 2022 Dec;222:2670–82. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.10.049
77. WERNER S, GROSE R. Regulation of Wound Healing by Growth Factors and Cytokines. *Physiol Rev*. 2003 Jul;83(3):835–70. doi:10.1152/physrev.2003.83.3.835
78. Kim HY, Jung YS, Park W, Choi YJ, Kim JY. Can medication-related osteonecrosis of the jaw be attributed to specific microorganisms through oral microbiota analyses? A

- preliminary study. *BMC Oral Health*. 2024 Feb 1;24(1):160. doi:10.1186/s12903-024-03945-z
79. Kövér Z, Gajdács M, Polgár B, Szabó D, Urbán E. The Microbiological Background of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ): Clinical Evidence Based on Traditional Culture and Molecular Biological Detection Methods. *Antibiotics*. 2025 Feb 15;14(2):203. doi:10.3390/antibiotics14020203
 80. Kövér Z, Bán Á, Gajdács M, Polgár B, Urbán E. Role of *Actinomyces* spp. and related organisms in the development of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): Clinical evidence based on a case series. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2023 Dec 21;13(4):125–34. doi:10.1556/1886.2023.00041
 81. Kusumoto J, Muraki Y, Iwata E, Matsumura M, Furudoi S, Akashi M. Involvement of resistant bacteria in the severity of refractory osteonecrosis of the jaw. *Clin Oral Investig*. 2025 Sep 16;29(10):454. doi:10.1007/s00784-025-06547-3
 82. Ramachandran VS, Rathakrishnan M, Ravindran MB, Alagarsamy V. Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Mangosteen, Triphala, Chitosan, and 2% Chlorhexidine on Mono- and Dual-Species Biofilms of – and *Candida albicans*: An in Vitro Study. *Eur Endod J*. 2022 Mar 14;7(1):58–66. doi:10.14744/eej.2021.70783
 83. Wassel M, Radwan M, Elghazawy R. Direct and residual antimicrobial effect of 2% chlorhexidine gel, double antibiotic paste and chitosan- chlorhexidine nanoparticles as intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* in primary molars: an in-vitro study. *BMC Oral Health*. 2023 Aug 4;23(1):296. doi:10.1186/s12903-023-02862-x
 84. Shrivastava PK, Mahmood A, Datta S, Sengar P, Sybil D. Tetracycline impregnated bone grafts in the management of peri-implantitis and guided bone regeneration around dental implants: A systematic review. *Saudi Dent J*. 2022/11/08. 2022 Dec;34(8):689–98. doi:10.1016/j.sdentj.2022.11.003 PubMed PMID: 36570584.
 85. Warner AJ, Hathaway-Schrader JD, Lubker R, Davies C, Novince CM. Tetracyclines and bone: Unclear actions with potentially lasting effects. *Bone*. 2022 Jun;159:116377. doi:10.1016/j.bone.2022.116377
 86. Camacho-Alonso F, Martínez-Ortiz C, Plazas-Buendía L, Mercado-Díaz AM, Vilaplana-Vivo C, Navarro JA, et al. Bone union formation in the rat mandibular symphysis using hydroxyapatite with or without simvastatin: effects on healthy, diabetic, and osteoporotic rats. *Clin Oral Investig*. 2020 Apr 11;24(4):1479–91. doi:10.1007/s00784-019-03180-9
 87. Adamičková A, Chomaničová N, Gažová A, Maďarič J, Červenák Z, Valášková S, et al. Effect of Atorvastatin on Angiogenesis-Related Genes VEGF-A, HGF and IGF-1 and the Modulation of PI3K/AKT/mTOR Transcripts in Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Curr Issues Mol Biol*. 2023 Mar 10;45(3):2326–37. doi:10.3390/cimb45030150