

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 18/08/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

RAQUEL BARROSO PARRA DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA BAIXA DOSE DE BIFOSFONATO DE ALTA POTÊNCIA
ASSOCIADO À DROGA IMUNOSSUPRESSORA NO REPARO ÓSSEO
ALVEOLAR EM CAMUNDONGOS C57BL/6J**

Araçatuba
2022

RAQUEL BARROSO PARRA DA SILVA

**INFLUÊNCIA DA BAIXA DOSE DE BIFOSFONATO DE ALTA POTÊNCIA
ASSOCIADO À DROGA IMUNOSSUPRESSORA NO REPARO ÓSSEO
ALVEOLAR EM CAMUNDONGOS C57BL/6J**

Tese apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP como pré-requisito para obtenção do título de “Doutora em Odontologia” – Área de concentração em Implantodontia.

Orientadora: Prof.^a Assoc. Mariza Akemi Matsumoto

Coorientador: Prof. Ass. Dr. Antônio Hernandes Chaves Neto

Coorientadora: Prof.^a Dra. Claudia Cristina Bigueti

Araçatuba
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586i Silva, Raquel Barroso Parra da.
Influência da baixa dose de bifosfonato de alta potência associado à droga imunossupressora no reparo ósseo alveolar em camundongos C57BL/6J / Raquel Barroso Parra Silva. – Araçatuba, 2022
54 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Mariza Akemi Matsumoto
Coorientador: Prof. Antônio Hernandes Chaves Neto
Coorientadora: Profa. Claudia Cristina Bigueti

1. Ácido zoledrônico 2. Dexametasona 3. Osteonecrose
4. Regeneração óssea I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Eu dedico este momento a minha família em especial aos meus pais Marli e José, aos meus irmãos Rafael e André, a minha cunhada Mirela e a minha sobrinha Florença. Obrigada Senhor por mais essa conquista!

“Não tenho tempo para mais nada. Ser feliz me consome muito.”

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Primeiramente agradeço à Deus, pois só com a suas bençãos e infinito amor por seus filhos os sonhos podem se tornar realidade. Obrigado Senhor por me proporcionar tanta coisa que nunca nem imaginava que aconteceria. Agradeço por ter cumprido mais este objetivo na minha vida, onde por muitas vezes achei que fosse desistir. Obrigada Senhor!

Eu agradeço em primeiro lugar a Deus e a minha família em especial aos meus pais **Marli e José** que são a minha base de existência, minha fonte de inspiração. Ao meu **pai** minha maior fonte de inspiração profissional e pessoal. Homem de caráter íntegro. Te amo demais pai e obrigada por tudo que faz por mim. A minha mãe **Marli**, obrigada por ser meu exemplo de mulher guerreira, de amor incondicional, mãe, amiga. Agradeço todos os dias por você ter me escolhido como filha. Te amo muito e obrigada por tudo que faz por mim todos os dias da sua vida.

Ao meu irmão **Rafael** obrigada por seu carinho, amizade e parceria. Agradeço todos os dias a Deus pela sua existência, continue levando a vida com seu jeito único e honesto de ser, é e será sempre um exemplo para mim. A minha cunhada **Mirela H. Cacciatore** obrigada por estar sempre presente em nossas vidas e ainda nos presentear com um amor ainda maior, minha sobrinha **Florença**, amo vocês!

A minha grande amiga **Isabel**, a sua vontade de vencer as batalhas da vida é incentivadora. Sua garra me faz lembrar que desistir não é uma opção. Obrigado por toda amizade, carinho e companheirismo. A minha amiga **Joana B. Nasser**, agradeço pela sua amizade, por confiar em mim e mostrar que na vida podemos ser fortes até nos momentos mais difíceis. Um exemplo de pessoa que quero levar sempre em minha vida. A minha amiga **Nathália**, uma

pessoa incrível, amiga, parceira, que a vida me trouxe; agradeço por toda a sua amizade e confiança.

A minha orientadora Prof^a. **Mariza Akemi Matsumoto** agradeço por toda dedicação da senhora para comigo. Eu só tenho a agradecer por todo ensinamento, amizade, respeito e carinho. A senhora é uma mulher incrível.

Aos meus coorientadores Prof **Antônio Chaves Neto** e a Prof^a **Claudia Cristina Bigueti** os meus mais sinceros agradecimentos por todos os ensinamentos e parcerias para comigo. Obrigada por tudo.

Aos membros da comissão examinadora do processo de defesa desta tese de doutorado, **Prof. Assoc. Edilson Ervolino, Prof. Idelmo Rangel Garcia Júnior, Prof. Gabriel Mulinari e a Prof^a Isabela Zacarin Guiatti**, pela gentileza, prontidão e disponibilidade em estarem presentes neste momento.

Meus agradecimentos especiais a doutoranda **Kim Henderson**, agradeço pela sua amizade, agradeço por todas as conversas, científicas ou não, pelos conselhos e companhia durante as viagens e por toda parceria nesta pesquisa realizada; à aluna de iniciação científica **Ana Julia Moreno Barreto** agradeço por toda sua ajuda nas diversas etapas deste trabalho, agradeço também pela sua amizade que construímos.

Agradeço também ao meu amigo **Henrique Hadad** por toda parceria, a saudade está grande, mas a amizade só cresce. Agradeço a minha amiga que a pós-graduação me trouxe **Maísa Pereira**, o meu muito obrigada.

“Quem caminha sozinho pode até chegar mais rápido, mas aquele que vai acompanhado, com certeza vai mais longe.”

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba/UNESP - na pessoa do diretor Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara e do vice-diretor Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem, e do Coordenador do programa de pós-graduação Prof. André Luiz Fraga Briso.

À Pró-Reitoria de Pesquisa (PROPe-UNESP) pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao prédio 40, representados pelos docentes Prof. Dr Cláudio Aparecido Casatti, Prof. Dr. Edilson Ervolino, Prof^a. Dra. Alaíde Gonçalves e Prof^a Mariza Akemi Matsumoto, Prof. Dr. José Américo de Oliveira, Prof. Dr. Roelf Justino Cruz Rizzolo, Prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Prof^a. Dra. Roberta Okamoto. Obrigada por cada momento vivido neste departamento, o qual me acolheu de forma tão agradável e especial.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para a realização da pesquisa (Processo nº 2019/160673).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pela concessão de Bolsa de Doutorado (CAPES-DS; 01/03/2019 – 02/02/2022)

Agradeço ao meu grupo de pesquisa: Ana Julia Moreno Barreto, Ana Carolina Becher, Gustavo Baroni Simionato, Andre Hergesel Oliva, Ana Carolina Zucon Bacelar, Danilo Chizolilni Masocatto, Juliana Silveira Meira, Nataira Regina Momesso, Ramez Hassan Mahmoud, Vinicius Matheus Rosa, Ana Claudia Rodrigues, Samyra Y. T. Dote, Kim Henderson. Agradeço muito a vocês por toda a ajuda e por todos os momentos de aprendizagem que tivemos juntos.

Ao Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, representado pelos docentes da Disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior, Prof. Dr. Osvaldo Magro filho, Prof. Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Prof. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi, Dra. Daniela Ponzoni, Prof. Dr. Francisley Ávila Souza e Prof. Dr. Leonardo Faverani, obrigada por todo ensinamento e convivência nesses anos. Vocês são meus maiores exemplos.

Aos meus amigos de pós-graduação Lara Cervantes, Luara Colombo, William Phillipis, Thiago Machado, Laís Sara Egas, Rodrigo Capalbo, Henrique Hadad, Rames Hassan Mahmoud, meu muito obrigada por toda a convivência e por cada momento agradável vivido.

A todos os colegas do Mestrado e Doutorado, eu só tenho a agradecer por todos os momentos vivenciados na pós-graduação.

Aos funcionários e amigos da FOA-UNESP, pelo trabalho extremamente competente que desempenharam. À vocês o meu carinho e eterna admiração.

Aos funcionários da secretaria da pós-graduação em nome de Valéria, Lilian e Cristiane, pela disponibilidade, atenção e educação. Obrigada por me ajudarem com tanta dedicação e competência.

Agradeço aos Professores Ass. André Luís Shinohara e Tit. Jesus Carlos Andreo da Disciplina de Anatomia da Faculdade de Odontologia de Bauru – Fob/Usp, pela concessão do laboratório de microscopia durante o período da pandemia.

Agradeço ao Prof. Tit. Marco Antonio Hungaro Duarte da disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru – Fob/Usp, pela concessão do uso do aparelho de microtomografia computadorizada.

Ao biotério do prédio 31, onde pude deixar meus animais durante o período da realização da minha pesquisa, meu profundo respeito, por servirem à ciência com suas próprias vidas.

Ao departamento de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, pela concessão do uso do laboratório de microscopia e a mestrande Ana Claudia Rodrigues por toda ajuda e dedicação.

“Posso todas as coisas naquele que me fortalece.”

Filipenses 4.13

SILVA, R. B. P. **Influência da baixa dose de bifosfonato de alta potência associado à droga imunossupressora no reparo ósseo alveolar em camundongos C57BL/6J**. 54 f. 2022. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

RESUMO

Os efeitos sistêmicos causados pelos bifosfonato nitrogenados (BFn) ainda permanecem pouco conhecidos, especialmente no que diz respeito à sua relação com o sistema imunológico dos pacientes que fazem uso dessa droga de modo prolongado. Na maioria das vezes, a indicação do uso contínuo dos BFns ocorre como terapia adjuvante ao tratamento de neoplasias malignas associados às drogas imunossupressoras, o que aumenta consideravelmente o risco para o desenvolvimento das osteonecroses dos maxilares relacionado ao uso de BPns (OMIMs). O objetivo do presente trabalho foi investigar as concentrações plasmáticas de marcadores ósseos, bem como a microarquitetura óssea dos alvéolos dentários pós-exodontia de camundongos tratados com BFn de alta potência com ou sem associação de droga imunossupressora. Foram utilizados 60 camundongos machos da linhagem C57BL6/J, com idades entre 8 a 10 semanas, pesando cerca de 28 gramas, divididos em quatro grupos de acordo com o tratamento: C – controle, 0,05ml de soro fisiológico 0,9% via intraperitoneal (IP), DEXA – 5mg/Kg de dexametasona (IP), ZOL – 50 µg/kg de ácido zoledrônico, e DEXA+ZOL – 5mg/Kg de dexametasona + 50 µg/kg de ácido zoledrônico 1 vez ao dia por cada semana. Após quatro semanas de tratamento, todos os animais foram submetidos à exodontia do incisivo superior direito, continuando até o período de eutanásia de 30 dias pós-exodontia, quando coletou-se o sangue para as análises de cálcio, fosfato, TRAP e FAL, bem como as maxilas com os alvéolos para análises microtomográfica (microCT). Os dados quantitativos foram submetidos ao teste One Way ANOVA seguido de Tukey, considerando-se $p \leq 0,05$. Os resultados demonstraram que o grupo DEXA exibiu níveis plasmáticos de cálcio e TRAP significativamente mais elevados em comparação com os grupos ZOL e DEXA+ZOL, e significativamente mais elevados de fosfato que o grupo ZOL ($p \leq 0,05$). Não foram detectadas diferenças nos níveis da FAL. A análise pelo microCT revelou menor porção óssea (BV/TV), % e espessura de trabéculas (Tb.Th, mm) no grupo DEXA em comparação com os demais. Não foram observadas diferenças significantes referentes a número (Tb.N) e separação de trabéculas (Tb.Sp). Histologicamente o grupo DEXA+ZOL apresentaram alvéolos preenchidos por tecido ósseo maduro em meio a medula óssea

predominantemente constituída por tecido conjuntivo, enquanto ZOL os alvéolos apresentavam preenchidos por trabéculas ósseas = com numerosas lacunas vazias de osteócitos. Com base nesses dados, conclui-se que, embora a administração do ZOL interfira com marcadores sistêmicos de turnover ósseo, sua administração não afetou os parâmetros morfológicos de reparo ósseo alveolar, mesmo em associação com a dexametasona. Por outro lado, o uso isolado de dexametasona induziu alterações sistêmicas e locais no tecido ósseo, provocando um atraso no reparo pós-exodontias quando utilizada de forma isolada.

Palavras-chave: Ácido Zoledrônico. Dexametasona. Osteonecrose. Regeneração óssea.

SILVA, R. B. P. **Influence of low dose high potency bisphosphonate associated with immunosuppressive drug on alveolar bone repair in C57BL/6J mice.** 54 f. 2022. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

ABSTRACT

The systemic effects caused by nitrogenous bisphosphonates (BFn) are still poorly understood, especially with regard to their relationship with the immune system of patients who use this drug for a long time. Most of the time, the indication of continuous use of BPns occurs as an adjuvant therapy to the treatment of malignant neoplasms associated with immunosuppressive drugs, which considerably increases the risk for the development of osteonecrosis of the jaws related to the use of BPns (OMIMs). The aim of the present study was to investigate the plasma concentrations of bone markers, as well as the bone microarchitecture of post-extraction dental alveoli in mice treated with high-potency BFn with or without immunosuppressive drug association. Sixty male mice of the C57BL6/J strain, aged between 8 and 10 weeks, weighing about 28 grams, were divided into four groups according to treatment: C – control, 0.05ml of 0.9% saline via intraperitoneal (IP), DEXA – 5mg/kg dexamethasone (IP), ZOL – 50 µg/kg zoledronic acid, and DEXA+ZOL – 5mg/kg dexamethasone + 50 µg/kg zoledronic acid once a day for each week. After four weeks of treatment, all animals underwent extraction of the upper right incisor, continuing until the euthanasia period of 30 days post-extraction, when blood was collected for the analysis of calcium, phosphorus, TRAP and FAL, as well as as the jaws with the alveoli for microtomographic analysis (microCT). Quantitative data were submitted to the One Way ANOVA test followed by Tukey, considering $p \leq 0.05$. The results demonstrated that the DEXA group exhibited significantly higher plasma levels of calcium and TRAP compared to the ZOL and DEXA+ZOL groups, and significantly higher phosphate than the ZOL group ($p \leq 0.05$). No differences were detected in FAL levels. MicroCT analysis revealed lower bone proportion (BV/TV), % and thickness of trabeculae (Tb.Th, mm) in the DEXA group compared to the others. No significant differences were observed regarding the number (Tb.N) and separation of trabeculae (Tb.Sp). Histologically, the DEXA+ZOL group presented alveoli filled with mature bone tissue in the midst of bone marrow predominantly constituted by connective tissue, while the ZOL alveoli were filled with bone trabeculae = with numerous empty spaces of osteocytes. Based on these data, it is concluded that, although the administration of ZOL interferes with systemic markers of bone

turnover, its administration did not affect the morphological parameters of alveolar bone repair, even in association with dexamethasone. On the other hand, the isolated use of dexamethasone induced systemic and local changes in bone tissue, causing a delay in post-exodontia repair when used alone.

Keywords: Zoledronic acid. Dexamethasone. Osteonecrosis. Bone regeneration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma do tempo de trabalho em dias .	26
Figura 2	Aspecto morfológico microscópico do grupo Controle 30 dias.	48
Figura 3	Aspecto morfológico microscópico do grupo Dexametasona 30 dias.	48
Figura 4	Aspecto morfológico microscópico do grupo Zoledronato 30 dias.	49
Figura 5	Aspecto morfológico microscópico do grupo Dexametazona + Zoledronato 30 dias.	49
Figura 6	Concentrações plasmáticas de (A) cálcio (mg/dL) e (B) fósforo (mg/dL), dos camundongos nos quatro grupos analisados no período após 30 dias.	50
Figura 7	Atividade enzimática da (A) fosfatase alcalina (FAL) (U/L) e (B) fosfatase ácida resistente a tártaro (TRAP) (U/L), dos camundongos nos quatro grupos analisados no período após 30 dias.	50
Figura 8	Alvéolos escaneados e reconstruídas pelo software CTvox. A- Grupo Controle 30 dias; B- Grupo Dexametasona 30 dias; C- Grupo Ácido zoledrônico 30 dias; D- Grupo Ácido Zoledrônico + Dexametasona	51
Figura 9	(*) Diferenças estatísticas entre os grupos. Teste de ANOVA seguido por Tukey para os parâmetros BV/TV, Tb.Th, Tb.N, Tb.Sp com nível de significância de 5% (p<0,05).	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Média e Desvio Padrão da quantificação dos parâmetros obtidos pela análise bioquímica	52
Tabela 2	Valores de Média e Desvio Padrão da quantificação dos parâmetros - volume ósseo expresso (%), espessura trabecular (mm), número de trabéculas (mm) e separação trabecular (mm), do processo alveolar analisado em microCT.	52

LISTA DE ABREVIATURAS

BF	Bifosfonatos
BFn	Bifosfonato nitrogenado
BV/TV	Porcentagem de volume ósseo, <i>bone tissue/tissue volum</i>
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional para o controle Experimental de animal do Brasil
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético, <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
FAL	Fosfatase alcalina, <i>alkaline phosphatase</i>
FOA-UNESP	Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
HE.....	Hematoxilina-eosina
MICRO CT.....	Microtomografia computadorizada
OMIMs	Osteonecrose dos maxilares associada por terapia medicamentosa
p-NP	p- nitrofenil
p-NPP	p- nitrofenil fosfato
RANKL.....	Ligante do receptor ativador do fator nuclear κ - β , <i>receptor activator of nuclear factor kappa-β ligand</i>
ROI	Região de interesse, <i>region of interest</i>
SP	São Paulo, Brasil
Tb.N.....	Número de trabéculas ósseas, <i>trabecular number</i>
Tb.Sp	Separação de trabéculas ósseas, <i>trabecular separation</i>
Tb.Th.....	Espessura de trabéculas ósseas, <i>trabecular thickness</i>
TRAP.....	Fosfatase ácida resistente ao tartarato, <i>tartrate-resistant acid ho</i>
ZOL.....	Ácido zoledrônico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	OBJETIVO.....	22
3	MATERIAL E MÉTODO.....	25
3.1	Modelo animal e design experimental	25
3.2	Procedimentos histotécnicos	26
3.3	Análise histopatológica descritiva.....	26
3.4	Análise Bioquímica	27
3.5	Concentrações plasmáticas de cálcio e fosfato inorgânico.....	27
3.6	Atividade de TRAP e FAL de plasma.....	27
3.7	Análise por microtomografia computadorizada (Micro-ct)	28
3.8	Análise estatística.....	29
4	RESULTADOS.....	30
4.1	Análise histopatológica descritiva.....	31
4.2	Análise bioquímica.....	31
4.2.1	Cálcio e Fosfato.....	31
4.2.2	Fosfatase Alcalina e Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato.....	32
4.3	Microtomografia computadorizada	32
5	DISCUSSÃO.....	34
6	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXOS.....	59

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO*

Os bifosfonatos são agentes antirreabsortivos análogos ao pirofosfato, que tem sido utilizado para diferentes patologias ósseas, como osteoporose, metástases ósseas, doença de Paget e demais doenças de caráter osteolítico (Guyatt et al., 2002; Close et al., 2006; Zhang et al., 2012; Hagiwara et al., 2014; Fung et al., 2017). Os bifosfonatos conhecidos como nitrogenados (BFn) tem sido amplamente utilizado na prática clínica, dando destaque não apenas a osteoporose como o câncer e ou mielomas múltiplos (Yoshioka et al., 2022). Os BFn, como por exemplo o ácido zoledrônico (ZOL) são medicamentos antirreabsortivos com função inibitória da atividade osteoclástica. Contudo, apesar de apresentar grandes vantagens e benefícios no tratamento de distúrbios esqueléticos, o seu uso contínuo pode levar ao desenvolvimento de um quadro clínico conhecido como osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos (OMIM). Apesar do amplo uso dos BFn, a OMIM foi primeiramente relatada em 2003, sendo observado exposições ósseas intraorais naqueles pacientes que recebiam altas doses de BFn para o tratamento de câncer, sendo não tão frequente naqueles para osteoporose (Marx, 2003; Yoshioka et al., 2022).

O mecanismo de ação dos BFn tem sido amplamente estudado e consiste em diminuir a taxa de remodelamento ósseo e impedir que os osteoclastos realizem absorção óssea (Russell et al., 2008; Soares et al., 2018; Agwu & Umar, 2020). Isto ocorre por meio da interferência que estas drogas causam na síntese da via mevalonato, a qual regula a biossíntese de proteínas isoprenóides para modificação lipídica de GTPases, como a farnesildifosfato e a geranilgeranildifosfato, e impede a organização do citoesqueleto dos osteoclastos (Rogers et al., 2011), e conseqüentemente a formação da borda corrugada, estrutura essencial para o processo de reabsorção e do tráfego vesicular, levando-os à apoptose (Anderson & Freedman, 2020; Villatoro-Villar & Kwok, 2021). No entanto, de modo contrário, o uso em curto prazo dos BFn apresenta efeito anti-apoptótico sobre os osteócitos e osteoblastos pela ativação da quinase ERK (Loiselle et al., 2013). Devido a estes eventos, o

* Normalizado de acordo com a Archives of Oral Biology - <https://www.elsevier.com/journals/archives-of-oral-biology/0003-9969/guide-for-authors>

processo de remodelação do tecido ósseo é alterado, resultando em importantes modificações na microarquitetura óssea.

Embora os benefícios dos BFn sejam bem conhecidos, efeitos colaterais tardios importantes foram relatados, principalmente relacionados a terapias de longa duração e altas doses (Bamias et al., 2005; Fung et al., 2015). Esses efeitos colaterais dos BFn, podem ser agrupados nas categorias de reações de fase aguda, efeitos gastrointestinais, efeitos colaterais renais e a osteonecrose dos maxilares (Marx, 2003; Diel et al., 2007; Walter et al., 2007; Basso et al., 2020).

A incidência das OMIMs após o tratamento com BFn está relacionada ao tipo de medicamento, frequência, dosagem e método de administração (Fung et al., 2015). A osteonecrose dos maxilares é definida como uma área de exposição na região maxilofacial que persiste por mais de 8 semanas, comumente relacionada à pacientes submetidos ao tratamento com bisfosfonatos (BF) ou seja, uma reação adversa ao medicamento, descrita como a progressiva destruição e morte do osso que acomete a mandíbula e maxila de pacientes expostos ao tratamento com medicamentos conhecidos por aumentar o risco de doença, na ausência de um tratamento de radiação anterior” (Campisi et al., 2020).

A maioria dos casos de osteonecrose dos maxilares associados à bifosfonatos (OMIMs) são relatados após a administração intravenosa de BFn, como o ácido zoledrônico (Marx et al., 2005; Soares et al., 2018). O ácido zoledrônico é comumente utilizado no tratamento de paciente com metástase óssea e também é um medicamento altamente eficaz para osteoporose (Shuai et al., 2015) e devido a sua alta afinidade pela hidroxiapatita do osso, ele é rapidamente retirado da circulação sistêmica e local, aderindo-se a superfície óssea, particularmente nos sítios de atividade osteoclástica (Yamamoto-Silva et al., 2013).

Na instalação das OMIMs, observa-se uma descompensação no reparo para um contexto pró-inflamatório exacerbado. Os macrófagos ativados, assim como os osteoclastos, também apresentam a formação de uma borda corrugada a fim de se aderirem à superfície a ser fagocitada, desenvolvendo fagossomas e liberando enzimas lisossomais, além de produzirem a enzima Fosfatase ácida Resistente ao Tartarato (TRAP), necessária nos processos inflamatórios (Bune et al., 2001). Devido a isto, também são capazes de internalizar drogas

como os BFn (Coxon et al., 2008), o que possivelmente possa causar alterações importantes em sua função.

Os glicocorticoides são hormônios esteroides que suprimem a inflamação através de mecanismos celulares. O principal mecanismo de ação anti-inflamatória dos corticoides é o bloqueio duplo da cascata do ácido araquidônico, por meio da indução da lipocortina, que age inibindo a fosfolipase A2 e da inibição das ciclooxigenases (COX), que possuem papel crucial na mediação da inflamação ao produzirem prostaglandinas e prostaciclina. Além disso, agem nas células sanguíneas, reduzindo o número de macrófagos, eosinófilos e linfócitos e suas ações (Billington et al., 2017). Possuem efeito inibidor da função de fibroblastos, com menor produção de colágeno e glicosaminoglicanos e certa redução na cicatrização e reparo (Billington et al., 2017). Apesar dos supostos efeitos benéficos que a administração de anti-inflamatórios teria na OMIMs, fármacos dessa classe têm sido associados a um maior risco de desenvolvimento de osteonecrose, pois seu efeito supressor reduz a renovação do tecido ósseo em longo prazo, o que pode contribuir para a alteração na cicatrização e induzir a necrose (Oliveira et al., 2017).

A dexametasona (DEXA) é um glicocorticóide muito receitado pela sua biodisponibilidade e alto poder anti-inflamatório, contudo, é bastante relacionada a complicações esqueléticas (Billington et al., 2017.) A ação dos glicocorticóides na perda óssea ocorre nos processos de neoformação e de reabsorção. Na neoformação óssea, este efeito está relacionado a diminuição da quantidade e atividade dos osteoblastos, enquanto na reabsorção, provoca aumento na proliferação e diferenciação de precursores de osteoclastos (Hachemi et al., 2018).

Atualmente a administração do zoledronato em pacientes com osteoporose vem se tornando uma escolha terapêutica muito utilizada para o tratamento desta condição. (Yang et al., 2015; Shiraki et al., 2017). Acomete com maior frequência o sexo feminino (73%), com idade avançada (em média acima de 66 anos). Há uma predileção pela ocorrência na mandíbula, e procedimentos odontológicos invasivos, como exodontias dentais e cirurgias orais menores, contudo, são tidos como os principais fatores desencadeadores da OMIM (Walter et al., 2016).

Assim sendo, pacientes que fazem ou fizeram uso crônico de BFn e que fazem uso da DEXA serão cada vez mais comuns no consultório odontológico.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o ZOL altera significativamente o *turnover* ósseo quando administrado isoladamente e/ou associado à dexametasona no protocolo utilizado. De modo interessante, a administração do ZOL não interfere de modo importante no processo de reparo ósseo alveolar mesmo em associação com a dexametasona, a qual provoca importante atraso neste processo quando utilizada de forma isolada.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- Advani, S., LaFrancis, D., Bogdanovic, E., Taxel, P., Raisz, L. G., & Kream, B. E. (1997). Dexamethasone suppresses in vivo levels of bone collagen synthesis in neonatal mice. *Bone*, 20(1), 41–46.
- Agwu, N. P., & Umar, A. M. (2020). The role of bisphosphonates in the management of bone metastasi. *International Journal of Medical Science*, 7(10), 5-11. <https://doi.org/10.14445/23939117/IJMS-V7I10P102>
- Ali-Erdem, M., Burak-Cankaya, A., Cemil-Isler, S., Demircan, S., Soluk, M., Kasapoglu, C., & Korhan-Oral, C. (2011). Extraction socket healing in rats treated with bisphosphonate: animal model for bisphosphonate related osteonecrosis of jaws in multiple myeloma patients. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 16(7), e879–e883. <https://doi.org/10.4317/medoral.17150>.
- Allen, M. R., Chu, T. M., & Ruggiero, S. L. (2013). Absence of exposed bone following dental extraction in beagle dogs treated with 9 months of high-dose zoledronic acid combined with dexamethasone. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 71(6), 1017–1026. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.11.016>
- Anderson, P. A., & Freedman, B. A. (2020). Bisphosphonates do not impair spinal fusion. *Neurosurgical Focus*, 49(2), E13. <https://doi.org/10.3171/2020.5.FOCUS20413>
- Bamias, A., Kastritis, E., Bamia, C., Mouloupoulos, L. A., Melakopoulos, I., Bozas, G., Koutsoukou, V., Gika, D., Anagnostopoulos, A., Papadimitriou, C., Terpos, E., & Dimopoulos, M. A. (2005). Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. *Journal of Clinical Oncology*, 23(34), 8580–8587. <https://doi.org/10.1200/JCO.2005.02.8670>
- Barba-Recreo, P., Del Castillo Pardo de Vera, J. L., García-Arranz, M., Yébenes, L., & Burgueño, M. (2014). Zoledronic acid-related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*, 42, 744–750.

- Basso, F. G., Panasani, T. N., Cardoso, L. M., Hebling, J., Real, R. P. V., & Costa, C. A. S. (2020). Influence of bisphosphonates on the behavior of osteoblasts seeded onto titanium discs. *Brazilian Dental Journal*, 31(3), 304-309. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202003128>
- Bi, Y., Gao, Y., Ehrchiou, D., Cao, C., Kikuri, T., Le, A., Shi, S., & Zhang, L. (2010). Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *The American Journal of Pathology*, 177(1), 280–290. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090592>
- Biasotto, M., Chiandussi, S., Zacchigna, S., Moimas, S., Dore, F., Pozzato, G., Cavalli, F., Zanconati, F., Contardo, L., Giacca, M., & Di Lenarda, R. (2010). A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 39(5), 390–396. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00878.x>
- Billington, E. O., Horne, A., Gamble, G. D., Maslowski, K., House, M., & Reid, I. R. (2017). Effect of single-dose dexamethasone on acute phase response following zoledronic acid: a randomized controlled trial. *Osteoporosis International*, 28(6), 1867–1874. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-3960-0>
- Bouxsein, M. L., Boyd, S. K., Christiansen, B. A., Guldberg, R. E., Jepsen, K. J., & Müller, R. (2010). Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. *The Journal of Bone and Mineral Research*, 25(7), 1468-1486. <https://doi.org/10.1002/jbmr.141>
- Brasilino, M., Stringhetta-Garcia, C. T., Pereira, C. S., Pereira, A., Stringhetta, K., Leopoldino, A. M., Crivelini, M. M., Ervolino, E., Dornelles, R., de Melo Stevanato Nakamune, A. C., & Chaves-Neto, A. H. (2018). Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves bone formation in the alveolar socket healing after tooth extraction in rats. *Clinical Oral Investigations*, 22, 1449-1461. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2249-1>
- Bune, A. J., Hayman, A. R., Evans, M. J., & Cox, T.M. (2001). Mice lacking tartrate-resistant acid phosphatase (Acp 5) have disordered macrophage inflammatory responses and reduced clearance of the pathogen, *Staphylococcus aureus*. *Immunology*, 102(1), 103-113. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.2001.01145.x>

Campisi, G., Mauceri, R., Bertoldo, F., Bettini, G., Biasotto, M., Colella, G., Consolo, U., Di Fede, O., Favia, G., Fusco, V., Gabriele, M., Lo Casto, A., Lo Muzio, L., Marcianò, A., Mascitti, M., Meleti, M., Mignogna, M. D., Oteri, G., Panzarella, V., Romeo, U., ... Bedogni, A. (2020). Medication-Related Osteonecrosis of Jaws (MRONJ) Prevention and Diagnosis: Italian Consensus Update 2020. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(16), 5998. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165998>

Chaves-Neto, A. H., Sasaki, K. T., & Nakmune, C. M. S. (2011). Protein phosphatase activities in the serum and saliva of healthy children. *RPG Revista da Pós-Graduação*, 18(2), 90-95.

Close, P., Neuprez, A., & Reginster, J. Y. (2006). Developments in the pharmacotherapeutic management of osteoporosis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 7(12), 1603–1615. <https://doi.org/10.1517/14656566.7.12.1603>

Connerty, H. V., & Briggs, A. R. (1966). Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complexone. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 290-296. <https://doi.org/10.1093/ajcp/45.3.290>

Coxon, F. P., Thompson, K., Roelofs, A. J., Ebetino, F. H., & Rogers, M. J. (2008). Visualizing mineral binding and uptake of bisphosphonate by osteoclasts and non-resorbing cells. *Bone*, 42(5), 848-60. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.12.225>

Daly, J. A., & Ertingshausen, G. (1972). Direct method for determining inorganic phosphate in serum with "centrifichem." *Clinical Chemistry*, 18, 263-5.

de Lima, T. S., de O P Ribeiro, A., Santos, V., de Costa Neto, O. C., Marques, D. O., Queiroz, T. P., Visconti, M. A., & Esteves, J. C. (2020). Effects of different pre-operative doses of dexamethasone on alveolar repair in rats. *Archives of Oral Biology*, 110, 104624. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.104624>

Diel, I. J., Bergner, R., & Grotz, K. A. (2007). Adverse effects of bisphosphonates: current issues. *The Journal of Supportive Oncology*, 5(10), 475-482.

- Durmus, M., Karaaslan, E., Ozturk, E., Gulec, M., Iraz, M., Edali, N., & Ersoy, M. O. (2003). The effects of single-dose dexamethasone on wound healing in rats. *Anesthesia and Analgesia*, 97(5), 1377–1380. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000080611.29106.9E>
- Frenkel, B., White, W. & Tuckermann, J. (2015). Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 872, 179–215. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2895-8_8
- Fung, P. L., Nicoletti, P., Shen, Y., Porter, S., & Fedele, S. (2015). Pharmacogenetics of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 27, 537-546. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2015.06.005>
- Fung, P., Bedogni, G., Bedogni, A., Petrie, A., Porter, S., Campisi, G., Bagan, J., Fusco, V., Saia, G., Acham, S., Musto, P., Petrucci, M. T., Diz, P., Colella, G., Mignogna, M. D., Pentenero, M., Arduino, P., Lodi, G., Maiorana, C., Manfredi, M., ... Fedele, S. (2017). Time to onset of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a multicentre retrospective cohort study. *Oral Diseases*, 23(4), 477–483. <https://doi.org/10.1111/odi.12632>
- Guyatt, G. (2002). Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. *Endocrine Reviews*, 23, 495-578. <https://doi.org/10.1210/edrv.23.4.0486>
- Hachemi, Y., Rapp, A. E., Picke, A. K., Weidinger, G., Ignatius, A., & Tuckermann, J. (2018). Molecular mechanisms of glucocorticoids on skeleton and bone regeneration after fracture. *Journal of Molecular Endocrinology*, 61(1), R75–R90. <https://doi.org/10.1530/JME-18-0024>
- Hagiwara, M., Delea, T. E., Cong, Z., & Chung, K. (2014). Utilization of intravenous bisphosphonates in patients with bone metastases secondary to breast, lung, or prostate cancer. *Support Care Cancer*, 22, 103. <https://doi.org/10.1007/s00520-013-1951-z>
- Hofbauer, L. C., Gori, F., Riggs, B. L., Lacey, D. L., Dunstan, C. R., Spelsberg, T. C., & Khosla, S. (1999). Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology*, 140(10), 4382–4389. <https://doi.org/10.1210/endo.140.10.7034>

- Hokugo, A., Christensen, R., Chung, E. M., Sung, E. C., Felsenfeld, A. L., Sayre, J. W., Garrett, N., Adams, J. S., & Nishimura, I. (2010). Increased prevalence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with vitamin D deficiency in rats. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(6), 1337–1349. <https://doi.org/10.1002/jbmr.23>.
- Huang, X. L., Liu, C., Shi, X. M., Cheng, Y. T., Zhou, Q., Li, J. P., & Liao, J. (2022). Zoledronic acid inhibits osteoclastogenesis and bone resorptive function by suppressing RANKL-mediated NF- κ B and JNK and their downstream signalling pathways. *Molecular Medicine Reports*, 25(2), 59. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12575>
- Kim, D., Nguyen, Q. T., Lee, J., Lee, S. H., Janocha, A., Kim, S., Le, H. T., Dvorina, N., Weiss, K., Cameron, M. J., Asosingh, K., Erzurum, S. C., Baldwin, W. M., 3rd, Lee, J. S., & Min, B. (2020). Anti-inflammatory Roles of Glucocorticoids Are Mediated by Foxp3+ Regulatory T Cells via a miR-342-Dependent Mechanism. *Immunity*, 53(3), 581–596.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.002>
- Li, J., Wang, X., Zhou, C., Liu, L., Wu, Y., Wang, D., & Jiang, H. (2012). Perioperative glucocorticosteroid treatment delays early healing of a mandible wound by inhibiting osteogenic differentiation. *Injury*, 43(8), 1284–1289. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2012.04.014>
- Loiselle, A. E., Jiang, J. X., & Donahue, H. J. (2013). Gap junction and hemichannel functions in osteocytes. *Bone*, 54(2), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.08.132>
- López-Jornet, P., Camacho-Alonso, F., Martínez-Canovas, A., Molina-Miñano, F., Gómez-García, F., & Vicente-Ortega, V. (2011). Perioperative antibiotic regimen in rats treated with pamidronate plus dexamethasone and subjected to dental extraction: a study of the changes in the jaws. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 69(10), 2488–2493. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2011.02.059>
- Marx, R. E. (2003). Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of jaws: a growing epidemic. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 61(9), 1115–1117. [https://doi.org/10.1016/s0278-2391\(03\)00720-1](https://doi.org/10.1016/s0278-2391(03)00720-1)

Marx, R. E., Sawatari, Y., Fortin, M., & Broumand, V. (2005). Bisphosphonate induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: Risk factors, recognition, prevention, and treatment. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 63, 1567. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2005.07.010>

Mergoni, G., Vescovi, P., Passerini, P., Maestri, R., Corradi, D., Sala, R., & Govoni, P. (2019). Effects of zoledronic acid and dexamethasone on early phases of socket healing after tooth extraction in rats: a preliminary macroscopic and microscopic quantitative study. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 24(3), e339–e345. <https://doi.org/10.4317/medoral.22883>

Oliveira, C. C., Barros Silva, P. G., Ferreira, A., Jr, Gonçalves, R. P., Sousa, F. B., Mota, M., & Alves, A. (2017). Effects of dexamethasone and nimesulide on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: An experimental study. *Archives of Oral Biology*, 83, 317-26. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.08.016>

Piemontese, M., Xiong, J., Fujiwara, Y., Thostenson, J. D., & O'Brien, C. A. (2016). Cortical bone loss caused by glucocorticoid excess requires RANKL production by osteocytes and is associated with reduced OPG expression in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 311(3), E587–E593. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00219.2016>

Rogers, M. J., Crockett, J. C., Coxon, F. P., & Mönkkönen, J. (2011). Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone*, 49(1), 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2010.11.008>

Russell, R. G., Watts, N. B., Ebtino, F. H., & Rogers, M. J. (2008). Mechanisms of action of bisphosphonates: Similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporosis International*, 19(6), 733-59. <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0540-8>

Shiraki, M., Tanaka, S., Suzuki, H., Ueda, S., & Nakamura, T. (2017). Safety, pharmacokinetics, and changes in bone metabolism associated with zoledronic acid treatment in Japanese patients with primary osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 35(6), 675–684. <https://doi.org/10.1007/s00774-016-0806-3>

- Shuai, B., Shen, L., Yang, Y., Ma, C., Zhu, R., & Xu, X. (2015) Assessment of the impact of zoledronic acid on ovariectomized osteoporosis model using micro-CT scanning. *PLoS One*, 10, e0132104. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132104>
- Soares, M., Van Dessel, J., Jacobs, R., da Silva Santos, P. S., Cestari, T. M., Garlet, G. P., Duarte, M., Imada, T., Lambrichts, I., & Rubira-Bullen, I. (2018). Zoledronic acid induces site-specific structural changes and decreases vascular area in the alveolar bone. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 76(9), 1893–1901. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2018.03.007>
- Sonis, S. T., Watkins, B. A., Lyng, G. D., Lerman, M. A., & Anderson, K. C. (2009). Bony changes in the jaws of rats treated with zoledronic acid and dexamethasone before dental extractions mimic bisphosphonate-related osteonecrosis in cancer patients. *Oral Oncology*, 45(2), 164–172. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2008.04.013>
- Villataro-Villar, M., & Kwoh, C. K. (2021). Bisphosphonates, bone and joint pain. *Current Osteoporosis Reports*, 19, 417-428. <https://doi.org/10.1007/s11914-021-00687-7>
- Walter, C., Al-Nawas, B., Wolff, T., Schiegnitz, E., & Grötz, K. A. (2016). Dental implants in patients treated with antiresorptive medication - a systematic literature review. *International Journal of Implant Dentistry*, 2(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s40729-016-0041-7>
- Walter, C., Grotz, K. A., Kunkel, M., & Al-Nawas, B. (2007). Prevalence of bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw within the field of osteonecrosis. *Support Care Cancer*, 15(2), 197-202. <https://doi.org/10.1007/s00520-006-0120-z>
- Walter, C., Klein, M. O., Pabst, A., Al-Nawas, B., Duschner, H., & Ziebart, T. (2010). Influence of bisphosphonates on endothelial cells, fibroblasts, and osteogenic cells. *Clinical Oral Investigations*, 14(1), 35-41. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0266-4>
- Yamamoto-Silva, F. P., Bradaschia-Correa, V., Lima, L. A., & Arana-Chavez, V. E. (2013). Ultrastructural and immunohistochemical study of early repair of alveolar sockets after the extraction of molars from alendronate-treated rats. *Microscopy Research and Technique*, 76(6), 633-40. <https://doi.org/10.1002/jemt.22210>

Yang, H., Pan, H., Yu, F., Chen, K., Shang, G., & Xu, Y. (2015). A novel model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(5), 5161–5167.

Yoshioka, R., Mine, Y., Kaku, M., Nikawa, H., & Murayama, T. (2022). Lansoprazole and zoledronate delays hard tissue healing of tooth extraction sockets in dexamethasone-treated mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 150, 112991. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112991>

Zhang, J., Wang, R., Zhao, Y. L., Sun, X. H., Zhao, H. X., Tan, L., Chen, D. C., & Hai-Bin, X. (2012). Efficacy of intravenous zoledronic acid in the prevention and treatment of osteoporosis: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(9), 743–748. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(12\)60118-7](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(12)60118-7)