



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

LAÍS KAWAMATA DE JESUS

**Avaliação peri-implantar de implantes instalados em
alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido
zoledrônico**

Araçatuba - SP
2024

LAÍS KAWAMATA DE JESUS

**Avaliação peri-implantar de implantes instalados em
alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido
zoledrônico**

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

Área de Concentração: Implantodontia

Orientador: Prof. Dr. Francisley Ávila Souza

Araçatuba - SP
2024

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

J58a Jesus, Laís Kawamata de.
Avaliação peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido zole-drônico / Laís Kawamata de Jesus. – Araçatuba, 2024
109 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Francisley Ávila Souza

1. Osteonecrose 2. Fotoquimioterapia 3. Doxíciclina
4. Materiais biocompatíveis 5. Alvéolo dental 6. Osseo-integração I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho aos meus pais, **Milton Santiago de Jesus Filho** e **Olga Tiyoko Kawamata de Jesus**, meus maiores incentivadores. Agradeço por todo apoio, incentivo, educação, disciplina e base que me deram para me tornar a pessoa que sou hoje. Obrigada por acreditarem em mim e por não medirem esforços para que meus sonhos se realizassem, sem vocês nada disso seria possível. Todo meu amor, respeito, admiração e gratidão. Amo muito vocês!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço primeiramente **aos Grandes Mestres da Honmon Butsuryu Shu (HBS), Nitiren Daibossatsu, Nitiryu Daishounin, Nissen Shounin e Nissui Shounin**, por me guiarem com sabedoria, força e bençãos em toda minha jornada. Por toda resiliência, proteção e iluminação em momentos difíceis, também pelos momentos de alegria, conquistas, crescimento e por me proporcionarem aprendizado constante com encontros incríveis durante na minha caminhada. **ARIGATAI, NAMUMYOUHOURENGUEKYOU!**

Aos meus pais, **Milton Santiago de Jesus Filho e Olga Tiyoko Kawamata de Jesus**, que além de pais são pessoas incríveis e exemplares. Obrigada por serem minha base, abrigo e sempre estarem ao meu lado, por toda dedicação, amor, carinho, apoio, educação, disciplina, orientação e por vibrar comigo todas as nossas conquistas. Eu sou e serei eternamente grata por tudo que fizeram e que ainda vão fazer por mim. Não existem palavras para agradecer ou expressar o quanto vocês são importantes e essenciais na minha vida. Tudo que faço é por vocês. Vocês são minha maior fonte de inspiração para me tornar uma pessoa melhor a cada dia. Amo muito vocês!

A todos os meus **Familiares**, pela confiança, incentivo, apoio e por acompanharem minhas conquistas e crescimento, sempre torcendo pela minha felicidade e sucesso. Vocês fazem toda minha dedicação e empenho valer a pena. Obrigada por participar e compartilhar tantos momentos especiais. Sou muito feliz e grata por terem vocês comigo. Amo muito vocês!

Ao meu **orientador e Professor Dr. Francisley Ávila Souza**, a quem agradeço pelos 10 anos de convívio e trabalho. Obrigada por toda dedicação, paciência, apoio, respeito e confiança. Obrigada por me proporcionar inúmeras oportunidades e por partilhar conhecimentos essenciais para o meu desenvolvimento e crescimento profissional e também pessoal. Sou muito grata e feliz por ter feito parte do grupo de pesquisa do professor, onde tanto aprendi e tive a oportunidade de conviver com pessoas incríveis durante minha trajetória. Minha eterna gratidão ao Prof. Dr. Francisley Ávila Souza, obrigada por me acolher durante tanto tempo e por toda positividade!

À **Professora Dra. Roberta Okamoto**, por todas as orientações e coordenadas de metodologia de pesquisa desde 2015, por sempre estar disposta a ajudar, ensinar e por toda prontidão em atender as minhas dúvidas. Muito obrigada Professora Dra. Roberta Okamoto, serei eternamente grata, obrigada por tanto e principalmente por partilhar seus conhecimentos, a senhora é inspiradora!

Ao **Professor Dr. Juliano Milanezi de Almeida**, por ter me acolhido na disciplina de Periodontia com tanta atenção, carinho e confiança, por todo suporte e auxílio durante a execução do Projeto do Doutorado. Muito obrigada Professor Dr. Juliano Milanezi de Almeida por todo conhecimento compartilhado e por ser esse Professor e pessoa incrível, o senhor é admirável!

Ao **Professor Dr. Paulo Sergio Perri de Carvalho**, pelas parcerias em Projetos de Pesquisas realizadas com o Prof. Dr. Francisley Ávila Souza, onde tive a oportunidade de participar e aprender com o Professor, pela disponibilidade em nos ajudar, ensinar e por nos receber na sua Clínica Odontológica ou Cursos para atender nossas dúvidas. Embora não tenhamos contato diretamente, acompanho a trajetória acadêmica e profissional do senhor e sei dos grandes feitos admiráveis e fantásticos durante toda sua carreira. Muito obrigada, Professor Dr. Paulo Sergio Perri de Carvalho, por toda disposição em ensinar e por sempre estar contribuindo com novos Projetos de Pesquisa para o grupo de pesquisa do Prof. Dr. Francisley Ávila Souza.

Ao **meu amigo e Professor Dr. Henrique Hadad**, que foi essencial durante toda minha trajetória na Pós-Graduação. Eu só tenho a agradecer por amenizar os dias difíceis e por melhorar os dias bons, sempre com um bom cafezinho e boas conversas. Obrigada por toda ajuda, apoio, conhecimento compartilhado, companheirismo, confiança e principalmente pela amizade que construímos durante esses 6 anos, você foi e sempre será fundamental, saiba que sempre estrei torcendo pelo seu crescimento e sucesso, independente da distância, você é incrível. Muito obrigada amigo e Professor Dr. Henrique Hadad, eu não tenho palavras para expressar meus eternos agradecimentos, obrigada por vivenciar e partilhar momentos memoráveis durante nossa caminhada na Pós-Graduação, você é um exemplo de dedicação, responsabilidade e competência! Conte sempre comigo!

Ao **Professor Dr. Fellippo Ramos Verri**, pelas oportunidades criadas desde 2017 com treinamento técnico na disciplina de Reabilitação Oral durante a Graduação até os dias de hoje na disciplina de Implantodontia na Pós-Graduação, Especialização e Aperfeiçoamento. Muito obrigada Professor Dr. Fellippo Ramos Verri, por me apresentar e incentivar o meu crescimento profissional clínico na área da Implantodontia, o seu cuidado e atenção com os alunos e pacientes é admirável, uma pessoa com coração enorme e sempre disposto a ajudar, obrigada por tanto Professor!

À **Professora Dra. Sandra Helena Penha de Oliveira**, pela oportunidade de acompanhar e realizar análises *in vitro* em seu laboratório de cultura de células. Muito obrigada Professora Dra. Sandra Helena Penha de Oliveira, por todos os ensinamentos e ajuda durante o período que passei com a Professora. Tenho um carinho e uma admiração enorme pela senhora, desde a Graduação. Muito obrigada por todo suporte e conversas que já tivemos. Aproveito também para agradecer seus alunos, em especial o **Dr. Victor Gustavo Balera Brito** e a **Dra. Sabrina Cruz Tfaile Fransnelli**.

À **Letícia Gabriella de Souza Rodrigues**, por toda disponibilidade em me ajudar sempre e pelas companhias em congressos. Muito obrigada Letícia, por me fazer rir e me animar! Foi e é uma honra participar e acompanhar seu crescimento pessoal e profissional, continue sendo essa pessoa alegre e alto astral!

À **Maria Eduarda de Freitas Santana Oliveira**, por toda ajuda, auxílio e até por doar seu tempo para que esse Projeto fosse realizado, principalmente pelas vezes que fomos para Araraquara. Agradeço também pela amizade de construirmos, pelas conversas e por me aguentar. Muito obrigada Maria, sou muito feliz e grata por ter sua amizade e em saber que posso contar com você para qualquer coisa!

À **Maísa Pereira da Silva**, por todo auxílio e participação presencial e até mesmo a distância durante a realização Projeto. Muito obrigada Maísa, por toda prontidão em ajudar, pelos ensinamentos e pela amizade!

À **Luara Teixeira Colombo, Henrique Hadad, Ana Flávia Piquera Santos e Rodrigo Capalbo da Silva**, por terem me acolhido tão bem desde o meu primeiro dia na Pós-Graduação em 2019. Fui muito feliz convivendo e trabalhando

com vocês. Agradeço por todos os momentos memoráveis que vivemos dentro e fora do grupo de pesquisa, aprendi e cresci muito com vocês. Contem comigo sempre, vocês são incríveis e foram o início de tudo que vivi na Pós-Graduação!

A todos que passaram ou que fazem parte do grupo de pesquisa com quem pude compartilhar diversos momentos desde a Iniciação Científica em 2015 até os dias de hoje, **Caroline Loureiro, Ana Flávia Piquera Santos, Rodrigo Capalbo da Silva, Lia Kobayashi Oliveira, Katia Gonçalves de Jesus, Luara Teixeira Colombo, Henrique Hadad, Lara Cristina Cunha Cervantes, Nelson Padilha Silva, Máisa Pereira da Silva, Paulo Matheus Honda Tavares, Maria Eduarda de Freitas Santana Oliveira, Letícia Gabriella de Souza Rodrigues, Harrisson Lucho Mamani Valeriano e Mateus Torres e Silva**. Muito obrigada por toda ajuda e apoio durante essa minha trajetória na pesquisa científica na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOA/UNESP).

A todos os alunos do grupo de pesquisa da Pós-Graduação que participaram durante a realização deste Projeto de Pesquisa, **Henrique Hadad, Ana Flávia Piquera Santos, Nelson Padilha Silva, Máisa Pereira da Silva, Paulo Matheus Honda Tavares, Maria Eduarda de Freitas Santana Oliveira, Letícia Gabriella de Souza Rodrigues, Harrisson Lucho Mamani Valeriano e Mateus Torres e Silva**. Muito obrigada por toda ajuda e constantes auxílios na execução desde Projeto. Serei eternamente grata a vocês, principalmente pelo empenho e dedicação de todos no dia da cirurgia experimental, vocês foram essenciais para que esse Projeto fosse realizado!

Aos alunos de Iniciação Científica, **Beatriz Ramos de Medeiros, Beatriz Costa Lau, Júlia Vieira Pietro Bão, Lilian Maria de Matos Paulino, Igor de Oliveira Antonelli, Brittnie Johnson, Ana Laura Gavaldão Santana Moreira, Anna Luisa Ferreira Perri** e em especial à **Maria Fernanda Bessi Falcone**. Agradeço a todos por toda disponibilidade, comprometimento e auxílio na realização deste Projeto, sem vocês a realização deste Projeto seria muito mais difícil. Obrigada por tanto!

Aos amigos que a Pós-Graduação me proporcionou, **Henrique Hadad, Henrique Rinaldi Matheus, Ana Flávia Piquera Santos, Rodrigo Capalbo da**

Silva, Luara Teixeira Colombo, Karen Rawen Tonini, Vinícius Ferreira Bizelli, Hiskell Francine Fernandes e Oliveira, Raquel Barroso Parra da Silva, Jaqueline Suemi Hassumi, Lia Kobayashi Oliveira, Máisa Pereira da Silva, Maria Eduarda de Freitas Santana Oliveira, Paulo Matheus Honda Tavares, Letícia Gabriella de Souza Rodrigues, Izabella Sol, Natália dos Santos Sanches, Martina Andreia Lage Nunes, Maria Cristina Ruiz Voms Stein, Sara Alves Berton, Ana Carla Gonçalves de Souza, Luana Ferreira Oliveira, Giovanni Gaetano Sacilotto e Caroline Liberato Marchioli. Muito obrigada por compartilharmos momentos incríveis e por toda ajuda, cuidado e carinho que tiveram comigo durante a Pós-Graduação, aprendi muito com cada um de vocês!

Aos Professores da Disciplina da Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba e do Programa de Pós-Graduação, **Prof. Dr. Osvaldo Magro Filho, Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior, Profa. Dra. Alessandra Marcondes Aranega, Profa. Dra. Daniela Ponzoni, Profa. Dra. Ana Paula Farnezi Bassi, Prof. Dr. Francisley Ávila Souza, Prof. Dr. Leonardo Perez Faverani, Profa. Dra. Roberta Okamoto, Profa. Dra. Mariza Akemi Matsumoto, Prof. Dr. Wirley Gonçalves Assunção, Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri e Prof. Dr. Victor Eduardo de Souza Batista**, por todo conhecimento compartilhado, muito obrigada a todos pelo convívio! Aproveito também para agradecer **todos os Pós-Graduandos de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Implantodontia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA/UNESP)**, pelo convívio e aprendizados.

A todos **Professores**, que passaram pela minha vida desde o maternal até a Pós-Graduação, que fizeram parte da minha formação educacional e intelectual. Obrigada por me inspirarem a ser uma pessoa melhor, pelos inúmeros ensinamentos e principalmente por acreditarem na educação do país. Minha eterna gratidão a todos(as) Professores(as)!

Aos meus amigos de Graduação e que hoje são amigos de profissão, **Erika Kiyoko Chiba, Lara Mariano Pinheiro, Roberta Yoko Kanda, Marina Araujo Cavinatti, Letícia de Freitas Mendes Brasil, Karen Lumi Nakasato e Pedro Henrique Chaves de Oliveira**, por toda amizade, companheirismo e apoio durante tantos anos. Sou muito grata e privilegiada por poder contar com a amizade de

vocês. Obrigada por sempre torcerem por mim, estarei sempre torcendo daqui por vocês. Conte comigo sempre!

À **família do Prof. Dr. Francisley Ávila Souza** em nome da sua esposa **Heloisa Helena Nimia** e filhos **Marina Nimia Ávila Souza e Eduardo Nimia Ávila Souza**, por sempre me receberem muito bem em sua casa e família, por todo cuidado e carinho. Meus eternos agradecimentos, tenho um enorme carinho pela família de vocês!

A **todas as pessoas** que direta ou indiretamente participaram da minha formação e deste Projeto para que essa nova conquista se realizasse. Meu muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

À *Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOA/UNESP)* na pessoa do atual diretor **Professor Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem** e vice-diretor **Professor Associado Luciano Tavares Angelo Cintra**, pela atenção e competência na formação de profissionais, pesquisadores e pessoas formadoras de opiniões. Me sinto grata, honrada e realizada por toda minha trajetória profissional construída nessa Universidade.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Odontologia** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)” em nome do atual coordenador, **Professor Titular Wirley Gonçalves Assunção** e vice-coordenadora **Professora Titular Roberta Okamoto**. Aproveito para agradecer também à **Seção Técnica de Pós-Graduação** em nome pessoal da **Cristiane Regina Lui Matos, Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto, Lilian Sayuri Mada Pinheiro, Elis Andréa Pinto e Lucas Sousa da Rocha**, por toda atenção, disponibilidade e paciência em todas as etapas da Pós-Graduação.

À **Secção Técnica de Biblioteca** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)”, em nome da **Diretora Técnica de Biblioteca e Documentação, Ana Cláudia Martins Grieger Manzatti**, pela disponibilidade e prontidão em me ajudar durante toda a Pós-Graduação.

À **Secção Técnica e Administrativa do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)”, em nome do **Renato Gomes de Oliveira, Paulo Roberto Gratão, Marco Aurélio de Oliveira Ianner e Fausto Daniel de Oliveira Canuto**, pelo suporte, apoio, orientações e ajuda durante esses 10 anos de convívio.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pelo apoio financeiro concedido por meio do **Processo nº 2021/03851-8**, durante os dois últimos anos de Doutorado e que permitiu a realização desse Projeto de Pesquisa.

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

Ao **Centro de Nanotecnologia e Engenharia Tecidual – CNET da Universidade de São Paulo (USP – Ribeirão Preto)** em nome do doutorando **Henrique Luis Piva**, por todo auxílio na realização da análise de microscopia eletrônico de varredura e espectroscopia de raios X por energia dispersiva (MEV-EDS).

À empresa **A.S.Technology Componentes Especiais LTDA, Titaniumfix**, por viabilizar e disponibilizar todos os implantes instalados nesse projeto de pesquisa.

Ao **Laboratório para Estudo de Tecidos Mineralizados** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)”, na pessoa da **Professora Dra. Roberta Okamoto**, por toda ajuda e prontidão em contribuir com este e tantos outros trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa. Aproveito para agradecer as alunas de Pós-Graduação, **Naara Gabriela Monteiro, Paula Buzo Frigério e Bruna Kaori Namba Inoue**.

Ao **Biotério Central** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)” em nome do **Senhor João Batista Alves Correa**, por fornecer os animais para esta pesquisa.

Ao Laboratório Multiusuário de Imagens (ImaLab) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOAr/UNESP)”, em nome do **Professor Dr. Elcio Marcantonio Junior, da Servidora Técnica Suleima Ferreira e Dra. Paula Aboud Barbugli**, por toda ajuda e auxílio na realização das análises de tecidos mineralizados deste Projeto de Pesquisa.

A todos os **Pacientes** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho (FOA/UNESP)” que foram atendidos por mim desde 2013, onde eu pude aprimorar minhas habilidades e me

tornei uma cirurgiã dentista mais capacitada e humana. Obrigada por toda confiança depositada.

“Não dependa do sentimento que faz pensar existir o amanhã. O aprendizado é um fato que deve acontecer hoje.”

Nissen Shounin V.56

RESUMO

JESUS, L. K. **Avaliação peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido zoledrônico.** 2024. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Objetivo: Avaliar o comportamento mecânico e biológico do tecido ósseo peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido zoledrônico (ZA).

Materiais e métodos: 144 ratos *Wistar* machos receberam 8 aplicações de ZA (0,035 mg/kg) via caudal com intervalos de 15 dias. Após a quarta aplicação foi realizada a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo e os animais foram divididos em 6 grupos de acordo com tratamento alveolar (1) GS: coágulo sanguíneo – sem aplicações de ZA; (2) GZ: coágulo sanguíneo; (3) GB: β -tricálcio-fosfato (β -TCP); (4) GBD: β -TCP + gel de doxiciclina a 10% (DOX10%); (5) GBDP: β -TCP + DOX10% + terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e (6) GDP: DOX10% + aPDT. Após 28 dias das exodontias, foram realizadas fotografias dos aspectos clínicos e foi instalado um implante (2.2x4mm) nos alvéolos reparacionais. Passados mais 28 dias foram realizadas análises dos aspectos clínicos peri-implantares, biomecânica, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de raios X por energia dispersiva (MEV-EDS) dos implantes removidos, microtomográfica (micro-CT), microscopia confocal a laser, histométrica, histológica qualitativa e imunoistoquímica. Os valores foram submetidos à análise estatística, considerando $P < 0.05$.

Resultados: O ZA induziu a MRONJ e a MRONJ peri-implantar. O grupo GDP (2.982 ± 1.105 ; $P > 0.05$) apresentou maior valor de torque de remoção em relação a GZ, GB, GBD e GBDP. A MEV-EDS após remoção, GDP apresentou maiores picos de fósforo (0.688 ± 0.136 ; $P > 0.05$) e cálcio (0.656 ± 0.184 ; $P > 0.05$) com distribuição mais homogênea de material biológico, proveniente do reparo peri-implantar. Para os parâmetros micro-CT, GDP apresentou maiores valores para porcentagem de volume ósseo (17.253 ± 2.247 ; $P > 0.05$) e número trabecular (0.969 ± 0.057 ; $P > 0.05$), e menores valores para separação trabecular (1.398 ± 0.032 ; $P > 0.05$) e porcentagem de porosidade total (82.747 ± 2.247 ; $P > 0.05$) em

relação a GB, GBD e GBDP. Os grupos tratados com ZA apresentaram uma dinâmica óssea comprometida, enquanto GDP demonstrou maiores valores de taxa de aposição mineral diária (11.769 ± 0.581 ; $P > 0.05$) e extensão linear de contato osso e implante (28.719 ± 3.260 ; $P > 0.05$), quando comparado com GZ, GB, GBD e GBDP. Além disso, GDP apresentou maior porcentagem de área óssea (26.834 ± 0.993 ; $P > 0.05$) peri-implantar quando comparado com GBDP. Na histologia, GDP demonstrou tecido ósseo com vitalidade, porém com alteração morfológica dos osteócitos, microfissuras ósseas e infiltrado inflamatório peri-implantar. Para a análise imunoistoquímica de GDP demonstrou ausência de atividades osteoclásticas com imunomarcção semelhantes ao grupo GS.

Conclusão: O ZA induziu a MRONJ e a MRONJ peri-implantar e a associação de doxiciclina com aPDT proporcionou melhor comportamento mecânico e biológico no tecido ósseo peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ZA.

Palavras-chave: osteonecrose; fotoquimioterapia; doxiciclina; materiais biocompatíveis; alvéolo dental; osseointegração.

ABSTRACT

JESUS, L. K. **Peri-implant evaluation of implants placed in the repair socket of rats treated with zoledronic acid.** 2024. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2024.

Objective: To evaluate the mechanical and biological behavior of peri-implant bone tissue of implants installed in the repair alveolus of rats treated with zoledronic acid (ZA).

Materials and Methods: 144 male *Wistar* rats received eight applications of ZA (0.035 mg/kg) via caudal route at 15-day intervals. After the fourth application, the first lower left molar was extracted, and the animals were divided into 6 groups according to alveolar treatment (1) GS: blood clot – without ZA applications; (2) GZ: blood clot; (3) GB: β -tricalcium phosphate (β -TCP); (4) GBD: β -TCP + doxycycline gel 10% (DOX10%); (5) GBDP: β -TCP + DOX10% + antimicrobial photodynamic therapy (aPDT); and (6) GDP: DOX10% + aPDT. After 28 days of extractions, photographs of the clinical aspects were taken and an implant (2.2x4mm) was placed in the repair alveolus. After another 28 days, analyses of peri-implant clinical aspects, biomechanics, scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS) of the removed implants, microtomography (micro-CT), laser confocal microscopy, histometric, qualitative histological and immunohistochemical were performed. The values were subjected to statistical analysis, considering $P < 0.05$.

Results: The ZA induced MRONJ and peri-implant MRONJ. The GDP group (2.982 ± 1.105 ; $P > 0.05$) presented a higher removal torque value compared to GZ, GB, GBD and GBDP. The SEM-EDS after removal, GDP showed higher peaks of phosphorus (0.688 ± 0.136 ; $P > 0.05$) and calcium (0.656 ± 0.184 ; $P > 0.05$) with a more homogeneous distribution of the biological material, originating from peri-implant repair. For micro-CT parameters, GDP presented higher values for percentage of bone volume (17.253 ± 2.247 ; $P > 0.05$) and trabecular number (0.969 ± 0.057 ; $P > 0.05$), and lower values for trabecular separation (1.398 ± 0.032 ; $P > 0.05$) and percentage of total porosity (82.747 ± 2.247 ; $P > 0.05$) in relation to GB, GBD and GBDP. The groups treated with ZA showed compromised bone dynamics, while GDP demonstrated higher values of daily mineral apposition rate ($11.769 \pm$

0.581; $P > 0.05$) and linear extension of bone and implant contact (28.719 ± 3.260 ; $P > 0.05$) when compared with GZ, GB, GBD and GBDP. Furthermore, GDP presented a higher percentage of peri-implant bone area (26.834 ± 0.993 ; $P > 0.05$) when compared with GBDP. In histology, GDP demonstrated vital bone tissue, but with morphological alterations of osteocytes, bone microcracks and peri-implant inflammatory infiltrate. For immunohistochemical analysis, GDP demonstrated absence of osteoclastic activities with immunostaining similar to the GS group.

Conclusion: The ZA induced MRONJ and peri-implant MRONJ and the association of doxycycline with aPDT provided better mechanical and biological behavior in the peri-implant bone tissue of implants installed in the repair alveolus of rats treated with ZA.

Keywords: osteonecrosis; photochemotherapy; doxycycline; biocompatible materials; tooth socket; osseointegration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Fluxograma dos procedimentos cirúrgicos e aplicações de ZA ou NaCl 0,9%	33
Figura 2 Exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (A) sindesmotomia, seguido da luxação do dente e (B) exodontia do primeiro molar inferior esquerdo	34
Figura 3 Grupos experimentais de acordo com os tratamentos alveolares prévios (A) GS e GZ: coágulo sanguíneo; (B) GB: biomaterial; (C) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (D) GBDP: aplicação do protocolo da aPDT – [(D (a)) azul de metileno, [(D (b)) irradiação com o laser de baixa intensidade e [(D (c)) alvéolos preenchidos por biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GDP: aplicação do protocolo da aPDT e alvéolos preenchidos por gel de doxiciclina a 10% e (F) Sutura com fio de nylon 5-0	36
Figura 4 Osteotomia e instalação do implante (A) Fresa lança; (B) Fresa helicoidal e (C) Instalação do implante	37
Figura 5 Fluxograma das etapas de trabalho para metodologia de cortes mineralizados	38
Figura 6 Fluxograma da distribuição dos animais de acordo com as análises e grupos experimentais	39
Figura 7 Imagens representativas da caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação (A) MEV: 60x; (B) MEV: 200x; (C) MEV: 500x e (D) MEV: 2000x	47
Figura 8 Imagens representativas da análise de EDS dos elementos O e Ti nas superfícies dos implantes previamente a instalação (A) O: 100x; (B) Ti: 100x; (C) Sobreposição dos elementos O e Ti: 100x; (D) O: 2000x; (E) Ti: 2000x; (F) sobreposição dos elementos O e Ti: 2000x	48
Figura 9 Imagens representativas do mapeamento elementar das superfícies dos implantes previamente a instalação (A) MEV: 2000x; (B) O representado pela cor azul e (C) Ti representado pela cor vermelha	49
Figura 10 Imagem representativa dos aspectos clínicos dos alvéolos reparacionais de acordo com as terapias prévias nos diferentes grupos experimentais (A) GS: coágulo sanguíneo; (B) GZ: coágulo sanguíneo; (C) GB: biomaterial; (D) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GBDP:	50

aplicação de aPDT e biomaterial com gel de doxiciclina a 10% e (F) GDP: aplicação de aPDT e gel de doxiciclina a 10%

Figura 11 Gráfico representativo das classificações clínicas dos alvéolos reparacionais em relação ao número de amostras nos diferentes grupos experimentais 51

Figura 12 Imagem representativa dos aspectos clínicos peri-implantares de acordo com as terapias prévias nos diferentes grupos experimentais (A) GS: coágulo sanguíneo; (B) GZ: coágulo sanguíneo; (C) GB: biomaterial; (D) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GBDP: aplicação de aPDT e biomaterial com gel de doxiciclina a 10% e (F) GDP: aplicação de aPDT e gel de doxiciclina a 10% 52

Figura 13 Gráfico representativo das classificações clínicas peri-implantares em relação ao número de amostras nos diferentes grupos experimentais 53

Figura 14 Gráfico representativo dos valores médios e desvio padrão de torque de remoção (N.cm) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e #, quando comparado com GDP) 54

Figura 15 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GS (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS 55

Figura 16 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GZ (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS 56

Figura 17 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GB (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS 56

Figura 18 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GBD (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS 57

Figura 19 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GBDP (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS 57

Figura 20 Imagens representativas da caracterização topográfica dos 58

implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GDP (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS

Figura 21 Imagem representativa dos gráficos de acordo com a análise 60
semiquantitativa dos elementos em peso (%) presentes nas superfícies dos
implantes nos diferentes grupos experimentais (A) Carbono ($P < 0.05$,
*representado por **, quando comparado com GS e Δ , quando comparado
com GZ); (B) Oxigênio; (C) Fósforo ($P < 0.05$, *representado por **, quando
comparado com GS); (D) Enxofre ($P < 0.05$, *representado por Δ* , quando
comparado com GZ; #, quando comparado com GDP; \square , quando comparado
com GBD e •, quando comparado com GBDP); (E) Cálcio ($P < 0.05$,
*representado por **, quando comparado com GS) e (F) Titânio ($P < 0.05$,
representado por \square , quando comparado com GB)

Figura 22 Imagem representativa dos gráficos de acordo com os parâmetros 63
microtomográficos da microarquitetura óssea peri-implantar nos diferentes
grupos experimentais (A) Porcentagem de volume ósseo (BV/TV) ($P < 0.05$,
*representado por **, quando comparado com GS; Δ , quando comparado com
GZ e #, quando comparado com GDP); (B) Espessura trabecular (Tb.Th) (P
 < 0.05 , *representado por **, quando comparado com GS e Δ , quando
comparado com GZ); (C) Número trabecular (Tb.N) ($P < 0.05$, *representado*
*por **, quando comparado com GS; Δ , quando comparado com GZ e #,
quando comparado com GDP); (D) Separação trabecular (Tb.Sp) ($P < 0.05$,
representado por #, quando comparado com GDP; \square , quando comparado
com GB; \square , quando comparado com GBD e •, quando comparado com
GBDP) e (E) Porcentagem de porosidade total (Po.(tot)) ($P < 0.05$,
*representado por **, quando comparado com GS; #, quando comparado com
GDP; \square , quando comparado com GB; \square , quando comparado com GBD e •,
quando comparado com GBDP)

Figura 23 Imagens representativas das reconstruções em 3D de todos os 64
grupos experimentais por meio do software CTvox – Bruker (SkyScan,
Versão 2.7.)

Figura 24 Gráfico representativo dos dados histométricos medidos na 65
interface osso e implante dos fluorocromos calceína e vermelho de alizarina
nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, *representado por \star* , quando

comparado com GS e □, quando comparado com GZ em relação ao fluorocromo vermelho de alizarina; ◇, quando comparado com GZ e □, quando comparado com GBD em relação ao fluorocromo calceína; ▽, quando comparado a precipitação do fluorocromo calceína em relação ao vermelho de alizarina dentro do mesmo grupo e ⊗, quando comparado a precipitação do fluorocromo vermelho de alizarina em relação a calceína dentro do mesmo grupo)

Figura 25 Gráfico representativo da taxa de aposição mineral ($\mu\text{m}/\text{dia}$) calculada através das imagens de fluorocromos (calceína e vermelho de alizarina) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; #, quando comparado com GDP; □, quando comparado com GB e •, quando comparado com GBDP)

Figura 26 Imagem representativa do turnover ósseo peri-implantar calculada através das imagens de fluorocromos nos diferentes grupos experimentais (A) Calceína; (B) Vermelho de alizarina; (C) Sobreposição dos fluorocromos (Aumento de 10x com barra de escala: 200 μm)

Figura 27 Gráfico representativo da extensão linear de contato osso e implante (%) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e #, quando comparado com GDP)

Figura 28 Gráfico representativo da área óssea (%) presente na região peri-implantar nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; Δ, quando comparado com GZ e #, quando comparado com GDP)

Figura 29 Imagens representativas dos cortes mineralizados corados com azul de Stevenel e fucsina ácida nos diferentes grupos experimentais (Aumento de 20x com barra de escala: 100 μm)

Figura 30 Imagens representativas dos aspectos histológicos peri-implantares coradas com H&E nos diferentes grupos experimentais (A) Aumento de 20x (barra de escala: 100 μm) e (B) aumento de 40x (barra de escala: 50 μm) (Representadas por setas azuis, osteócitos; setas brancas, lacunas vazias; setas pretas, osteonecrose com formação de sequestro ósseo e setas amarelas, infiltrado inflamatório)

Figura 31 Imagens representativas das imunomarcações para OCN, OPN,

RANKL e TRAP nos diferentes grupos experimentais em aumento de 20x
(Representadas por setas azuis, OCN; setas amarelas, OPN; setas verdes,
RANKL e setas pretas, TRAP. Barra de escala: 100 μ m)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Escores representativos das imunomarcações para as proteínas 75
OCN, OPN, RANKL e TRAP nos diferentes grupos experimentais (*Marcação
ausente, escore “0”; discreta, escore “1”; moderada escore “2”; intensa
escore “3”*)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
μA	Microampère
μm	Micrômetro
$\mu\text{m}/\text{dia}$	Micrômetro por dia
μm^2	Micrômetro quadrado
AAOMS	Associação Americana de Cirurgiões Bucomaxilofaciais
Al	Alumínio
AO	Área óssea
aPDT	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
BP	Bifosfonatos
BV/TV	Porcentagem de volume ósseo
C	Carbono
Ca	Cálcio
cc	Centímetros cúbicos
cm^2	Centímetro quadrado
Cu	Cobre
EDS	Espectroscopia de raios X por energia dispersiva
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELCOI	Extensão linear de contato osso e implante
g	Gramma
GB	Grupo Biomaterial
GBD	Grupo Biomaterial + Doxíciclina
GBDP	Grupo Biomaterial + Doxíciclina + aPDT
GDP	Grupo Doxíciclina + aPDT
GS	Grupo Soro controle negativo
GZ	Grupo Zoledronato controle positivo
H&E	Hematoxilina e eosina
InGaAlP	Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo
J	Joule
J/cm^2	Joule por centímetro quadrado
kV	Quilovolt
MAR	Taxa de aposição mineral

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mg/kg	Miligrama por quilograma
micro-CT	Microtomográfica
ml	Mililitro
ml/kg	Mililitro por quilograma
mm	Milímetro
mm ³	Milímetro cúbico
MRONJ	Osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos
mW	Megawatt
N.cm	Newton por centímetro
NaCl 0,9%	Soro fisiológico
nm	Nanómetro
O	Oxigênio
°C	Grau Celsius
OCN	Osteocalcina
OPN	Osteopontina
P	Fósforo
pA	Picoampère
Po.(tot)	Porcentagem de porosidade total
PVPI	Iodopolividona
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B
ROI	Região de interesse
S	Enxofre
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação trabecular
Tb.Th	Espessura trabecular
Ti	Titânio
Ti-cp	Titânio comercialmente puro
TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
TV	Volume total
VOI	Volume de interesse
W/cm ²	Watt por centímetro quadrado
ZA	Ácido zoledrônico

α	Alfa
β -TCP	Beta-tricálcio fosfato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 OBJETIVO	311
3 MATERIAIS E MÉTODOS	322
3.1 Animais	32
3.2 Aplicação do Ácido Zoledrônico (ZA)	32
3.3 Extração Dentária	33
3.4 Grupos Experimentais	34
3.5 Instalação dos Implantes	36
3.6 Aplicação de Fluorocromos	37
3.7 Eutanásia e Coleta dos Espécimes	38
3.8 Caracterização Topográfica, Aspectos Clínicos e Análise Biomecânica	39
3.8.1 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação	39
3.8.2 Classificações dos aspectos clínicos	40
3.8.3 Análise biomecânica	41
3.8.4 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes removidos por meio do torque de remoção	41
3.9 Metodologia de Cortes Mineralizados	42
3.9.1 Análise microtomográfica (micro-CT)	42
3.9.2 Microscopia confocal a laser	43
3.9.3 Análise histométrica	43
3.10 Metodologia de Cortes Desmineralizados	44
3.10.1 Análise histológica qualitativa	44
3.10.2 Análise imunoistoquímica	45
3.11 Análise Estatística	46
4 RESULTADOS	47
4.1 Caracterização Topográfica, Aspectos Clínicos e Biomecânico	47
4.1.1 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação	47
4.1.2 Classificações dos aspectos clínicos	4949
4.1.3 Análise biomecânica	5353

4.1.4 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes removidos por meio do torque de remoção	54
4.2 Cortes Mineralizados	61
4.2.1 Análise microtomográfica (micro-CT)	61
4.2.2 Microscopia confocal a laser	64
4.2.3 Análise histométrica	69
4.3 Cortes Desmineralizados	72
4.3.1 Análise histológica qualitativa	72
4.3.2 Análise imunoistoquímica	75
5 DISCUSSÃO	77
6 CONCLUSÃO	85
REFERÊNCIAS	86
ANEXOS	109

1 INTRODUÇÃO*

Os bifosfonatos (BP), análogos sintéticos do pirofosfato, são medicamentos que agem na inibição da reabsorção óssea, suprimindo as atividades dos osteoclastos e conseqüentemente afetando a remodelação óssea (Cremers, Drake, Ebetino, Bilezikian, Russell, 2019; Guyatt et al., 2002; Ruggiero & Drew 2007; Sigua-Rodriguez, Costa Ribeiro, Brito, Alvarez-Pinzon, Albergaria-Barbosa, 2014). Atualmente essa classe de medicamentos é comumente prescrita para tratamento de vários distúrbios ósseos metabólicos, incluindo a osteoporose, doença de Paget, hipercalcemia maligna, distúrbios na medula óssea e doenças metástases ósseas de alguns tipos de tumores malignos (Adler et al., 2016; Cremers et al., 2019; Kuroshima, Sasaki, Sawase, 2019; McClung, 2003; Otto, Pautke, Van den Wyngaert, Niepel, Schiødt, 2018; Timchenko, 2022).

No entanto, vários estudos têm relatado o efeito dos BP com o desenvolvimento da osteonecrose dos maxilares induzida por medicamentos (MRONJ) (Dimopoulos et al., 2006; Marx, 2003; Ruggiero & Woo, 2008; Ruggiero, Dodson, Aghaloo, Carlson, Ward, Kademani, 2022; Ruggiero et al., 2014). Embora a etiopatologia da MRONJ não esteja completamente elucidada, artigos apontam que a maior parte dos casos são desencadeadas por procedimentos cirúrgicos invasivos como as exodontias, instalações de implantes dentários, traumas, doenças periodontais, próteses desadaptadas e infecções odontogênicas que levam ao rompimento da mucosa oral (Dodson, 2015; Fung et al., 2017; Heggendorn et al., 2016; Marx, 2003; Matsumoto et al., 2017; Pelaz et al., 2015; Ruggiero et al., 2009; Ruggiero et al., 2014; Ruggiero et al., 2022).

Em 2003, foi registrado o primeiro caso de exposição óssea mandibular associada ao uso de BP (Marx, 2003). De acordo com a Associação Americana de Cirurgiões Bucomaxilofaciais (American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons - AAOMS) a MRONJ foi definida e caracterizada como uma lesão bucal com exposição óssea exclusivamente dos ossos maxilares, persistindo por mais de oito semanas em pacientes com histórico de uso de medicamentos antirreabsortivos ou em combinações com imunomoduladores ou antiangiogênicos e ausência de

* Normalizado de acordo com o author guidelines do Clinical Oral Implants Research <https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/16000501/homepage/forauthors.html>

radioterapia prévia na região maxilofacial (Pelaz et al., 2015; Ruggiero & Drew, 2007; Ruggiero et al., 2022; Sigua-Rodriguez et al., 2014). Além disso, a literatura esclarece que altas concentrações e uso prolongado de BP em pacientes que fazem uso via endovenosa apresentam maiores riscos de desenvolver a MRONJ quando comparado com administração via oral (Dimopoulos et al., 2006; Marx, 2003; Ruggiero & Woo, 2008; Ruggiero et al., 2014; Ruggiero et al., 2022).

No presente momento, ainda não existe um protocolo definitivo para a prevenção e tratamento da MRONJ. No entanto, encontram-se na literatura várias abordagens de tratamentos, desde terapias mais conservadoras até as mais invasivas ou até mesmo associando ambas as terapias (Bacci, Cerrato, Bardhi, Frigo, Djaballah, Sivoletta, 2022; Beth-Tasdogan, Mayer, Hussein, Zolk, 2027; Campisi et al., 2020). Dentro das modalidades de prevenção e tratamento encontradas na literatura incluem a antibioticoterapia, oxigenoterapia hiperbárica, laserterapia, plasma rico em plaquetas, ozonioterapia, terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) e a ressecção cirúrgica (Freiberger et al., 2012; Khan et al., 2015; Mauceri et al., 2018; Momesso, Lemos, Santiago-Júnior, Faverani, Pellizzer, 2020; Pereira-Silva et al., 2024; Toro et al., 2019; Wilde et al., 2011).

Grande parte dos casos da MRONJ são tratadas com terapias conservadoras como é o caso da antibioticoterapia tópica ou sistêmica (Nelson & Levy, 2011). Dentre elas destaca-se a doxiciclina, que é um antibiótico derivado das tetraciclinas e apresenta ação antibacteriana, inibindo a síntese de proteínas bacterianas gram-positivas e gram-negativas (Nelson & Levy, 2011), anti-inflamatória (Golub et al., 1983) e anticolagenase (Golub, Evans, McNamara, Lee, Ramamurthy, 1994; Monk, Shalita, Siegel, 2011). Outra terapia coadjuvante é aPDT (Carrera et al., 2016; Statkiewicz et al., 2018; Wang, Huang, Wang, Lyu, Hamblin, 2016), a qual apresenta efeitos benéficos e grande potencial no tratamento e prevenção da MRONJ (Abel Mahedi Mohamed, Nielsen, Schiodt, 2018; Castro, Ribeiro Jr, Carli, Pereira, Sperandio, Hanemann, 2016; Ervolino et al., 2019; Minamisako, Ribeiro, Lisboa, Mariela Rodríguez Cordeiro, Grando, 2016; Poli, Souza, Maiorana, 2018; Silva et al., 2022). E os biomateriais cerâmicos à base de β -tricálcio fosfato (β -TCP), tem apresentado resultados favoráveis para terapias prévias da MRONJ (Funayama, Yagyu, Imada, Ueyama, Nakagawa, Kirita, 2023; Hadad et al., 2022; Paulo et al., 2019). A AAOMS encoraja a exploração de novos protocolos e metodologias para

melhorar a prevenção da osteonecrose e defende medidas preventivas para o desenvolvimento da MRONJ, incluindo antibióticos e enxaguatórios bucais antimicrobianos (Ruggiero et al., 2022).

Atualmente, com o envelhecimento populacional e as alterações fisiológicas, principalmente de mulheres idosas osteoporóticas (Amin, McPartland, O'Sullivan, Silke, 2023; Dennison, Mohamed, Cooper, 2006; Matsumoto et al., 2017), a implantodontia vem enfrentando grandes desafios clínicos perante a necessidade de promover reabilitações implantossuportadas em pacientes que fazem uso contínuo de BP.

Embora existam estudos na literatura que demonstraram que a instalação de implantes dentários é um fator de risco para o desenvolvimento da MRONJ e conseqüentemente sobrevida dos implantes osseointegráveis em pacientes que fazem uso de medicamentos antitrombóticos (Altalhi et al., 2023; Ata-Ali, Ata-Ali, Peñarrocha-Oltra, Galindo-Moreno, 2016; Chadha, Ahmadi, Kumar, Sedghizadeh, 2013; de-Freitas, Lima, de-Moura, Veloso-Guedes, Simamoto-Júnior, de-Magalhães, 2016; Guazzo, Sbricoli, Ricci, Bressan, Piattelli, Iaculli, 2017; Owen & Bradley 2021; Sher, Kirkham-Ali, Luo, Miller, Sharma, 2021) e que até mesmo em implantes dentários já osseointegrados podem desenvolver a MRONJ peri-implantar (Giovannacci et al., 2016; Junquera, Pelaz, Gallego, García-Consuegra, Costilla, 2014; Kwon, Lee, Park, Choi, Rijal, Shin, 2014; Seki, Namaki, Kamimoto, Hagiwara, 2021) e a peri-implantite, também é considerado um fator de risco, devido a persistência de intensa inflamação causando perdas ósseas e aumento de tecido ósseo não vital peri-implantar (Pichardo, van der Hee, Fiocco, Appelman-Dijkstra, van Merkesteyn, 2020; Tempesta et al., 2022; Troeltzsch et al., 2016). Existem também artigos que relatam sucesso nas instalações de implantes dentários em pacientes que fazem uso de BP (Albandar, 2008; Bell & Bell, 2008; Famili, Quigley, Mosher, 2011; Fugazzotto, Lightfoot, Jaffin, Kumar, 2007; Grant, Amenedo, Freeman, Kraut, 2008; Otto et al., 2023; Torres et al., 2009). Logo, a literatura ainda é controversa e não apresenta clareza sobre sucessos e falhas nas instalações de implantes dentários em pacientes que fazem uso de BP.

No entanto, sabe-se que a taxa de sucesso para os implantes dentários em pacientes que fazem uso contínuo de BP pode variar dependendo do tipo de medicamento, frequência e modo de administração, sendo que por via oral

apresentam menores chances de desenvolver a MRONJ e falhas peri-implantares (Famili et al., 2011; Goss, Bartold, Sambrook, Hawker, 2010; Madrid & Sanz, 2009; Pazianas, Miller, Blumentals, Bernal, Kothawala, 2007). E a relação interdisciplinar entre os dentistas e médicos é essencial para a realização de um bom planejamento e tratamento individualizado, seguidos de acompanhamentos regulares pelo cirurgião-dentista para alcançar resultados prósperos peri-implantares.

E apesar de encontrar na literatura estudos em animais com resultados favoráveis para a prevenção e tratamento da MRONJ, nos quais mostram reparos alveolares saudáveis, com quantidade e qualidade de tecido ósseo, sem a presença da osteonecrose (Ervolino et al., 2019; Hadad et al., 2022; Silva et al., 2022; Statkievicz et al., 2018; Toro et al., 2019). Ainda existem limitações de estudos *in vivo* que investiguem a possibilidade de instalação de implantes em alvéolos reparacionais de animais tratados com BP.

Diante do exposto, a realização este estudo experimental, *in vivo*, torna-se relevante e necessário para proporcionar mais informações e resultados para a literatura, buscando esclarecer a possibilidade da instalação de implantes em osso alveolar reparacional de ratos tratados com ácido zoledrônico (ZA).

2 OBJETIVO

Avaliar o comportamento mecânico e biológico do tecido ósseo peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ácido zoledrônico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP (processo FOA nº 0884-2022 – Anexo A) e realizado seguindo as orientações da ARRIVE guidelines, de acordo com o Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório dos Institutos Nacionais de Saúde (NC3Rs Reporting Guidelines Working Group, 2010).

3.1 Animais

Cento e quarenta e quatro ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus albinus*, 3 meses de idade e peso entre 350–450g) fornecidos pelo Biotério Central da Universidade (FOA/UNESP) foram alojados (4 por caixa) em condições padrões de temperatura (25°C) em ambiente com luz controlada (12:12 horas claro: escuro), sem restrição alimentar e água *ad libitum*. O tamanho da amostra foi calculado pelo Power Test com nível de significância de 5% (desvio padrão de 2%), $\alpha = 0,05$ e poder de 80%. Assim, foram necessários oito ratos por grupo (n=8) para comparar os diferentes grupos (Hadad et al., 2022; Pereira-Silva et al., 2024).

3.2 Aplicação do Ácido Zoledrônico (ZA)

Todos os animais foram tratados com ZA (Zometa®, Novartis Biociências SA, São Paulo, Brasil), exceto os animais pertencentes ao grupo soro (GS) que receberam apenas aplicações de 0,2 ml de soro fisiológico (NaCl 0,9%) (Curra et al., 2016; Hadad et al., 2022).

Nos dias 15, 30, 45 e 60, previamente as exodontias do primeiro molar inferior esquerdo, foram administradas via caudal 04 aplicações de 0,035 mg/kg de ZA dissolvido em 0,2 ml de veículo de NaCl 0,9% em cada animal com intervalos de 15 dias entre as aplicações. E posteriormente, nos dias 75, 90, 105 e 120, foram realizadas mais 04 aplicações de ZA ou NaCl 0,9%. Logo, foram realizadas 08 aplicações de ZA ou NaCl 0,9% durante todo o experimento (Figura 1).

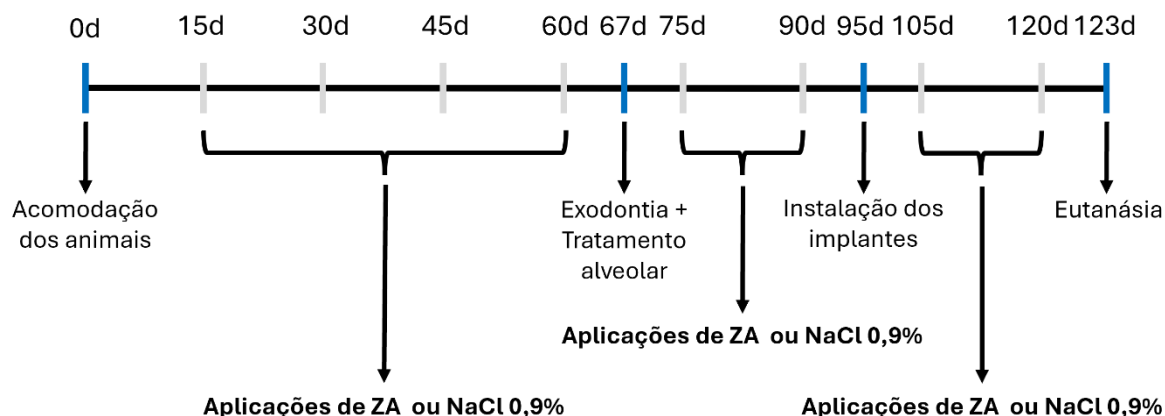


FIGURA 1 Fluxograma dos procedimentos cirúrgicos e aplicações de ZA ou NaCl 0,9%.

3.3 Extração Dentária

No dia 67, todos os animais foram submetidos a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (Hadad et al., 2022; Pereira-Silva et al., 2024; Statkiewicz et al., 2018; Toro et al., 2019). Anteriormente, os animais foram mantidos em jejum por doze horas antes do procedimento cirúrgico e posteriormente foram submetidos a anestesia geral sob sedação com aplicações intramusculares de 50 mg/kg de Cloridrato de Cetamina 10% (Cetamin® - Syntec, Tamboré, São Paulo, Brasil) e 5 mg/kg de Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazin® - Syntec, Tamboré, São Paulo, Brasil).

Logo após, foram posicionados em decúbito dorsal em um leito cirúrgico personalizado, seguido da antissepsia com Iodopolividona Tópico (PVPI 10%, Riodeine, Rioquímica, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil) e complementação anestésica local com Cloridrato de Mepivacaína 2% + Epinefrina 1:100.000 (Mepiadre® - DFL Indústria e Comércio S.A., Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brasil). E em seguida, foi realizado a sindesmotomia da inserção gengival foi realizada cuidadosamente, seguida da luxação dentária (Figura 2A) e exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (Figura 2B).

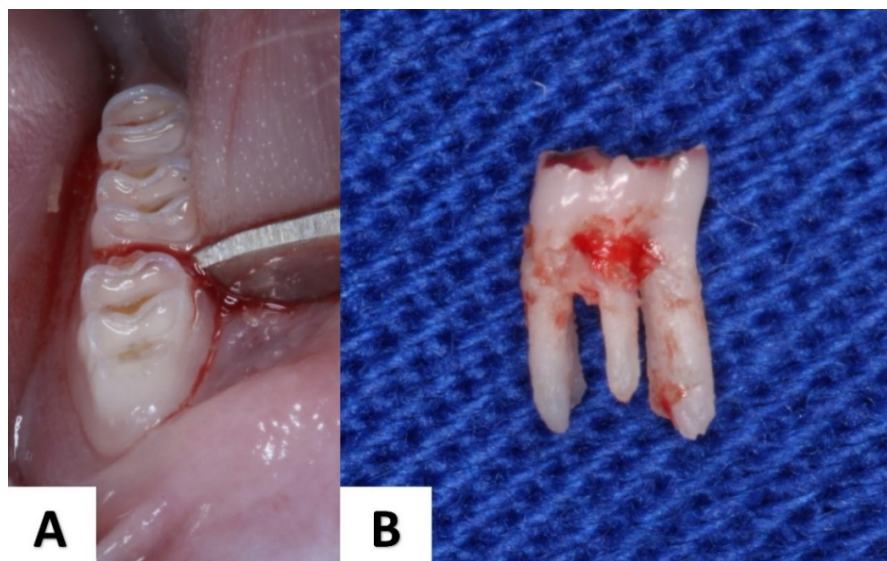


FIGURA 2 Exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (A) síndesmotomia, seguido da luxação do dente e (B) exodontia do primeiro molar inferior esquerdo.

3.4 Grupos Experimentais

Após as exodontias dos primeiros molares inferiores esquerdos, os animais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos, de acordo com tratamentos prévios para o preenchimento dos alvéolos:

- **Grupo Soro controle negativo (GS):** alvéolos preenchidos apenas por coágulo sanguíneo (Figura 3A);
- **Grupo Zoledronato controle positivo (GZ):** alvéolos preenchidos apenas por coágulo sanguíneo (Figura 3A);
- **Grupo Biomaterial (GB):** alvéolos preenchidos com aproximadamente 0.03 cc (centímetros cúbicos) de biomaterial a base de β -tricálcio fosfato (β -TCP) em pasta (Straumann® maxresorb® inject, Straumann Brasil Ltda., Curitiba, Paraná, Brasil) (Figura 3B);
- **Grupo Biomaterial + Doxiciclina (GBD):** alvéolos preenchidos com aproximadamente 0.03 cc da mistura na proporção de 1:1 de biomaterial a base de β -TCP em pasta e gel de doxiciclina a 10% (Figura 3C);

- **Grupo Biomaterial + Doxíciclina + aPDT (GBDP):** alvéolos preenchidos com 0,1 ml de azul de metileno por 60 segundos [Figura 3D (a)]. Posteriormente a ponta do laser foi posicionada em um único ponto central do local da exodontia, paralelamente ao longo eixo dos alvéolos [Figura 3D (b)]. Para a irradiação do laser de baixa intensidade foi utilizado o diodo laser de Alumínio-Gálio-Índio-Fósforo (InGaAlP) (660 nm; Thera Lase®, DMC Equipamentos Ltda®, SP, Brasil) com spot size de 0,0283 cm², com potência de 35 mW, modo de operação contínua, ponto de energia de 2,1 J/ponto por 60 segundos, densidade energia de 74,2 J/cm² e intensidade de potência de 1,23 W/cm² (Ervolino et al., 2019; Hadad et al., 2022). Em seguida os alvéolos foram preenchidos com aproximadamente 0.03 cc da mistura na proporção de 1:1 de biomaterial a base de β -TCP em pasta e gel de doxíciclina a 10% [Figura 3D (c)];

- **Grupo Doxíciclina + aPDT (GDP):** aplicação do protocolo da aPDT descrito acima e os alvéolos foram preenchidos com aproximadamente 0.03 cc de gel de doxíciclina a 10% (Figura 3E).

Após os tratamentos prévios empregados nos alvéolos, foram realizadas suturas com fio de nylon 5-0 (Figura 3F) (SHALON MEDICAL, São Luís de Montes Belos, Goiás, Brasil) e no pós-operatório imediato, todos os animais receberam via intramuscular 0,1 ml/kg de pentabiótico (Zoetis, Campinas, São Paulo Brasil) e 0,1 ml/kg de dipirona sódica (Zoetis, Campinas, São Paulo, Brasil).

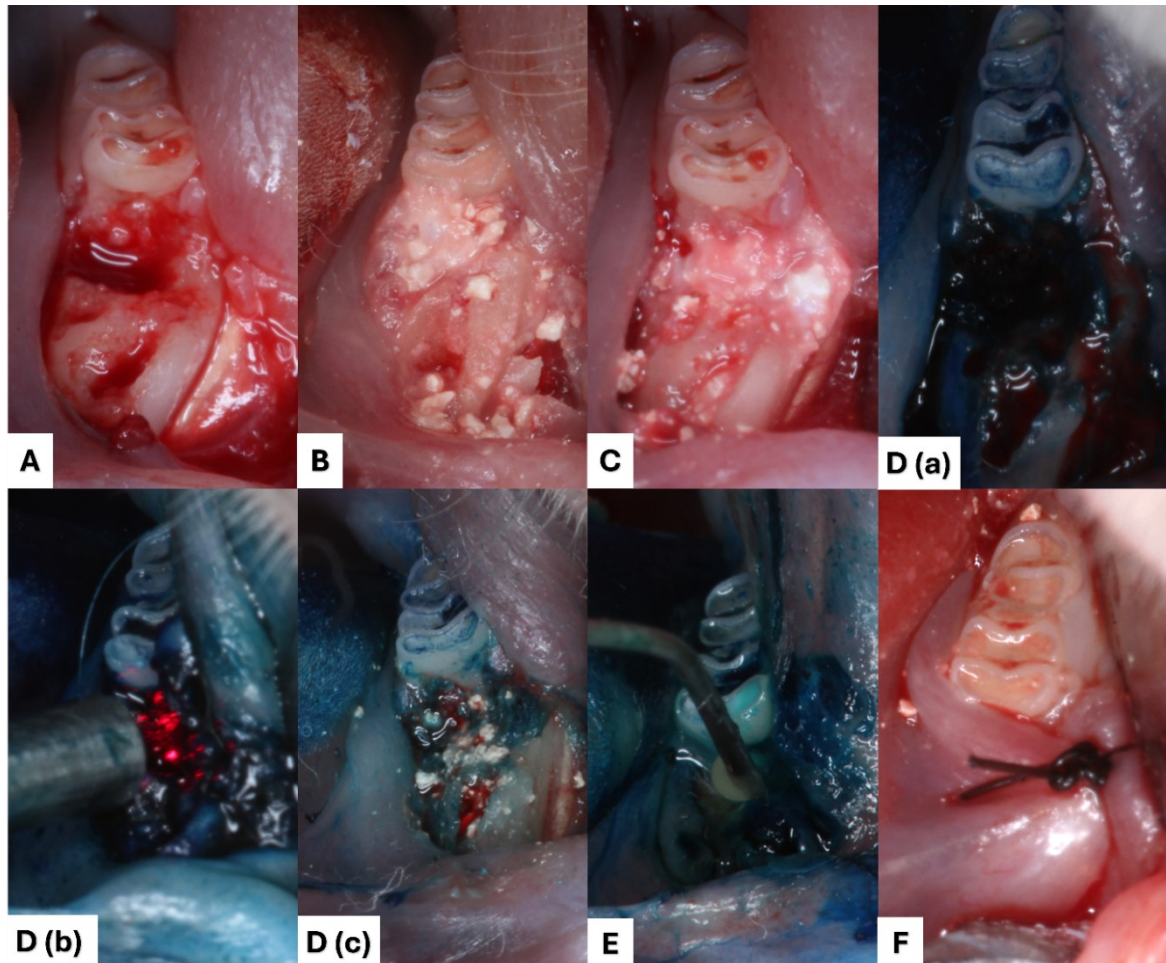


FIGURA 3 Grupos experimentais de acordo com os tratamentos alveolares prévios (A) GS e GZ: coágulo sanguíneo; (B) GB: biomaterial; (C) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (D) GBDP: aplicação do protocolo da aPDT – [(D (a)) azul de metileno, [(D (b)) irradiação com o laser de baixa intensidade e [(D (c)) alvéolos preenchidos por biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GDP: aplicação do protocolo da aPDT e alvéolos preenchidos por gel de doxiciclina a 10% e (F) Sutura com fio de nylon 5-0.

3.5 Instalação dos Implantes

No dia 95, após 28 dias das exodontias e tratamentos prévios dos alvéolos, todos os animais foram submetidos aos mesmos protocolos pré-operatório e pós-operatório descritos anteriormente.

Em seguida, as osteotomias foram realizadas com fresagens padronizadas na região do alvéolo reparacional. A perfuração inicial foi realizada com a fresa lança de

2 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade (Figura 4A), seguida da fresa helicoidal de 2 mm de diâmetro e 4 mm de profundidade (Figura 4B) e posteriormente foi instalado com auxílio de uma chave digital de 0.9 mm (A.S.Technology Componentes Especiais Ltda., Titaniumfix, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) um implante de titânio comercialmente puro (*Ti-cp*) com superfície modificada por duplo ataque ácido e com dimensões de 2.2 mm de diâmetro e 4 mm de comprimento (A.S.Technology Componentes Especiais LTDA, Titaniumfix, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) (Figura 4C) com ancoragem primária na região apical.

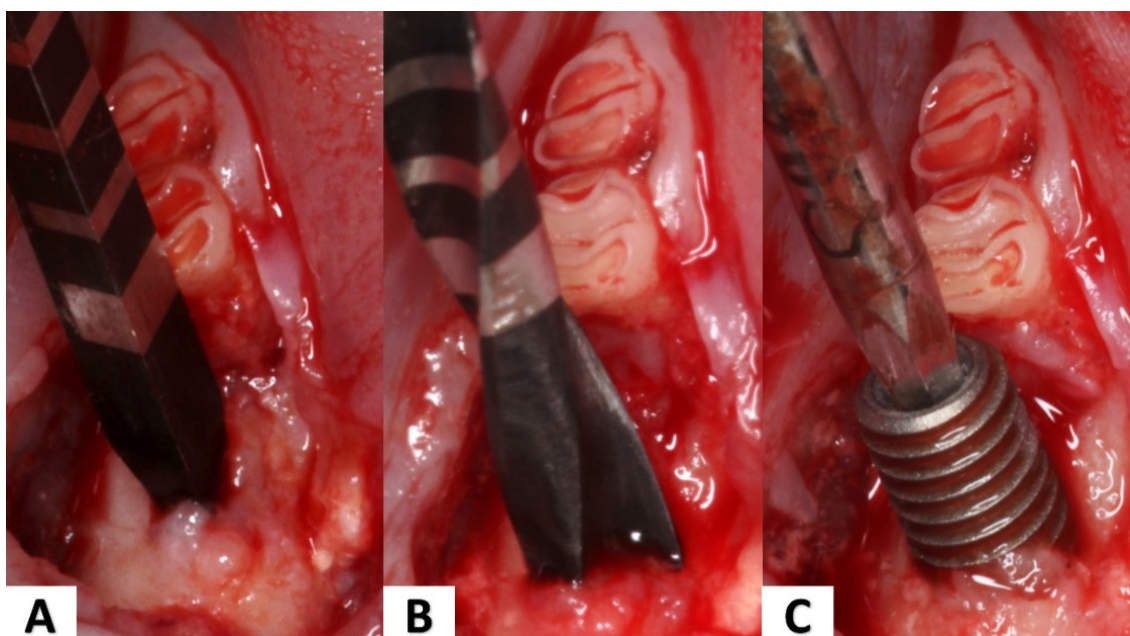


FIGURA 4 Osteotomia e instalação do implante (A) Fresa lança; (B) Fresa helicoidal e (C) Instalação do implante.

3.6 Aplicação de Fluorocromos

Para análise de epifluorescência, os 48 animais pertencentes a metodologia de cortes mineralizados, receberam aplicações via intramuscular de calceína (20 mg/kg) no dia 109 e de vermelho de alizarina (30 mg/kg) no dia 119 (Figura 5). As aplicações dos fluorocromos foram realizadas de acordo com estudos prévios

(Luvizuto, Dias, Okamoto, Dornelles, Okamoto, 2011; Ramalho-Ferreira, Faverani, Grossi-Oliveira, Okamoto, Okamoto, 2015).

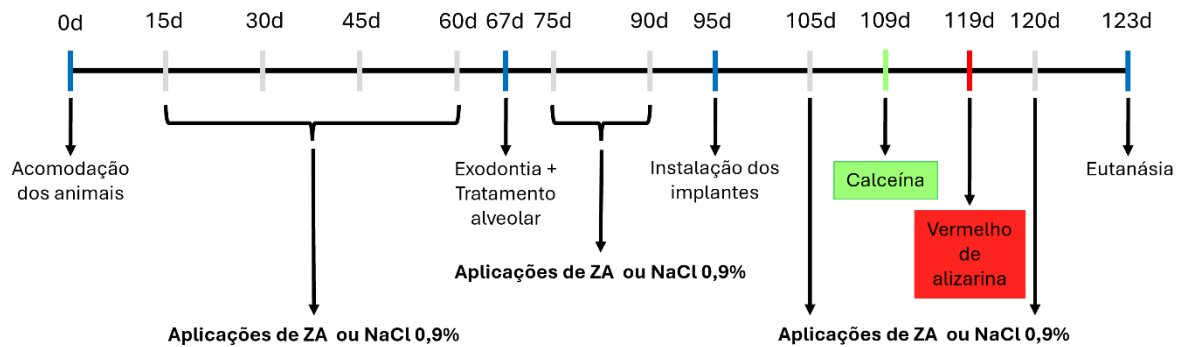


FIGURA 5 Fluxograma das etapas de trabalho para metodologia de cortes mineralizados.

3.7 Eutanásia e Coleta dos Espécimes

No dia 123, após 28 dias da instalação dos implantes, todos os animais foram submetidos à eutanásia com dose excessiva de tiopental sódico (150 mg/kg – Tiopentax®, Cristália Prod. Quím. Farm. Ltda., Itapira, São Paulo, Brasil) e cloridrato de lidocaína 2% (10 mg/kg – Xylestesin® 2%, Cristália Prod. Quím. Farm. Ltda., Itapira, São Paulo, Brasil).

Posteriormente foram realizadas as remoções das hemi-mandíbulas esquerdas de todos os animais e separadas de acordo com as análises (Figura 6).

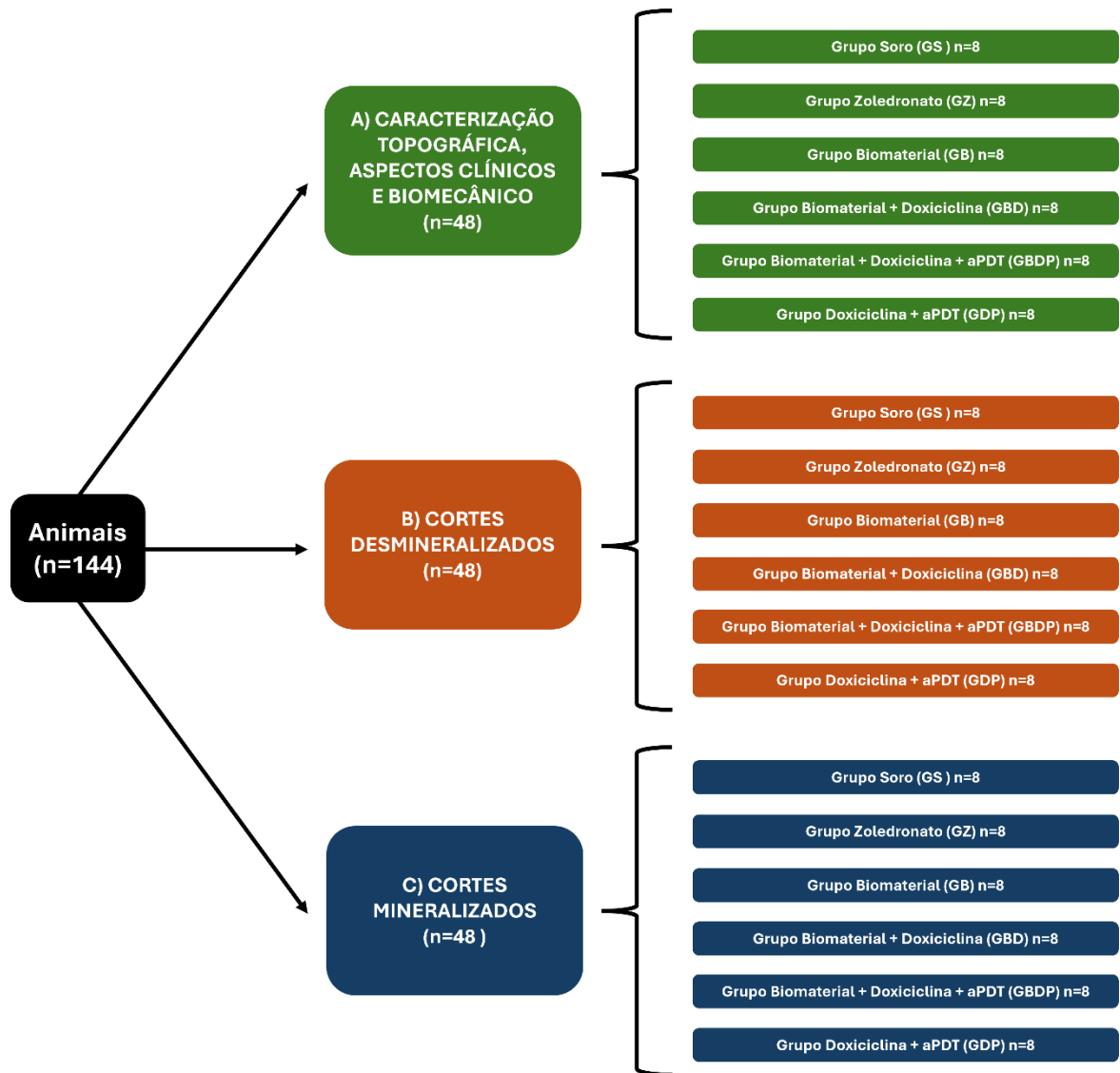


FIGURA 6 Fluxograma da distribuição dos animais de acordo com as análises e grupos experimentais.

3.8 Caracterização Topográfica, Aspectos Clínicos e Análise Biomecânica

3.8.1 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação

Os implantes foram montados diretamente em um stub de alumínio e fixados com fita de carbono, em seguida foram realizadas as análises topográficas das superfícies dos implantes por meio do microscópio eletrônico de varredura (MEV Prisma E – Thermo Scientific, Eindhoven, Holanda) (MEV) à baixo vácuo com uma

tensão de aceleração de 1.00 kV e uma corrente de feixe de 54 pA em diferentes aumentos. E posteriormente, foi realizada a análise semiquantitativa da composição química e mapeamento de elementos presentes nas superfícies dos implantes por meio da espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS) com uma tensão de aceleração de 20.00 kV e uma corrente de feixe de 16 nA (Queiroz, Souza, Guastaldi, Margonar, Garcia-Júnior, Hochuli-Vieira, 2013; Souza et al., 2013).

3.8.2 Classificações dos aspectos clínicos

Com o auxílio de uma câmera profissional Canon (Canon io5, lente EF 100mm f/2.8 macro e flash MR-14EX II Macro ring light) foram realizados registros dos aspectos clínicos da região do alvéolo reparacional do primeiro molar inferior esquerdo e da região peri-implantar. E posteriormente, os aspectos clínicos foram avaliados e classificados de acordo com a presença ou ausência de tecido ósseo exposto, incluindo características de reparo completo ou incompleto da mucosa oral, bem como sinais de infecções nas regiões avaliadas. Essas classificações foram adaptadas ao presente estudo com base em artigos previamente publicados (Ruggiero et al., 2022; Sharma, Hamlet, Vaquette, Petcu, Ramamurthy, Ivanovski, 2021).

Classificações clínicas dos alvéolos reparacionais:

- **Grau 0:** Mucosa oral íntegra e ausência de tecido ósseo exposto no local da exodontia;
- **Grau 1:** Ausência de tecido ósseo exposto com área de reparo indefinido no local da extração;
- **Grau 2:** Tecido ósseo exposto sem sinais de infecção no local da exodontia;
- **Grau 3:** Tecido ósseo exposto com sinais de infecção no local da exodontia;
- **Grau 4:** Tecido ósseo exposto com infecção que se estende além da região alveolar.

Classificações clínicas peri-implantares:

- **Grau 0:** Mucosa oral íntegra e ausência de tecido ósseo exposto peri-implantar;
- **Grau 1:** Ausência de tecido ósseo exposto, mas com sinais de infecção peri-implantar;
- **Grau 2:** Tecido ósseo exposto sem sinais de infecção peri-implantar;
- **Grau 3:** Tecido ósseo exposto com sinais de infecção peri-implantar;
- **Grau 4:** Tecido ósseo exposto com infecção que se estende além da região peri-implantar

3.8.3 Análise biomecânica

Todas as hemi-mandíbulas foram submetidas a análise biomecânica e por meio de um torquímetro digital (Homis Instrumentos De Medição Ltda., São Paulo, Brasil) acoplado à uma chave digital de 0.9mm (A.S.Technology Componentes Especiais Ltda., Titaniumfix, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) foi mensurado a força necessária para remoção dos implantes (N.cm) (Queiroz et al., 2013; Souza et al., 2013). Todos os valores obtidos foram tabulados e submetidos a análise estatística, considerando $P < 0.05$.

3.8.4 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes removidos por meio do torque de remoção

As análises topográficas das superfícies dos implantes removidos de cada grupo foram realizadas por meio do MEV. E o EDS avaliou a presença de tecido ósseo com a mensuração semiquantitativa dos elementos cálcio (Ca), fósforo (P), oxigênio (O), enxofre (S) e titânio (Ti) (Guler, Uraz, Hatipoğlu, Yalım, 2021; Ha, Eo, Sodnom-Ish, Mustakim, Myoung, Kim, 2023; Queiroz et al., 2013; Souza et al., 2013). Todos os valores obtidos foram tabulados e submetidos a análise estatística, considerando $P < 0.05$.

3.9 Metodologia de Cortes Mineralizados

3.9.1 Análise microtomográfica (micro-CT)

Após coleta das hemi-mandíbulas, os espécimes foram fixados em solução de formalina tamponada a 10% (Reagentes Analíticos, Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltda, Catanduva, São Paulo, Brasil) durante 24 horas, seguidas de banho em água corrente por 24 horas. Após a fixação, as peças foram armazenadas em álcool 70 para posterior análise micro-CT (Bouxsein, Boyd, Christiansen, Guldborg, Jepsen, Müller, 2010).

Por meio do microtomógrafo SkyScan (SkyScan 1272 Bruker MicroCT, Aatselaar, Bélgica, 2003) as hemi-mandíbulas foram escaneadas com uma energia de raio X de 90 kV, corrente de 110 μ A, filtro de Al 0.5mm + Cu 0.038, passo de rotação de 0.6 mm e tempo de aquisição de aproximadamente 2 horas e 3 minutos. As imagens obtidas foram reconstituídas pelo software NRecon (SkyScan, 2011; Versão 1.6.6.0. 64-bit), com smoothing de 5, correção dos anéis de artefato de 7, correção de Beam Hardening de 30% e a faixa de conversão foi determinada de acordo com cada imagem. No software Data Viewer (SkyScan, Versão 1.4.4 64-bit), as imagens foram reconstruídas, analisadas em três planos (transversal, sagital e coronal) e em seguida foi selecionado o volume de interesse (VOI).

Posteriormente, por meio do software CTAnalyser – CTAn (SkyScan, Versão 1.12.4.0 64-bit) a região de interesse (ROI) foi definida para avaliar e mensurar a microarquitetura óssea da região peri-implantar. Todas as imagens foram delimitadas e padronizadas entre escalas de cinza 90–25, com 200 cortes e volume total do tecido (TV) de 9.599mm³. Os parâmetros mensurados foram: **(1)** Porcentagem de volume ósseo em relação ao volume ósseo total – BV/TV (%); **(2)** Espessura trabecular – Tb.Th (mm); **(3)** Número de trabéculas – Tb.N (1/mm); **(4)** Separação trabecular – Tb.Sp (mm) e **(5)** Porcentagem de porosidade total – Po.(tot) (%). Todos os valores obtidos foram tabulados e submetidos a análise estatística, considerando $P < 0.05$. E em seguida, a reconstrução em 3D foi realizada no software CTvox (SkyScan, Versão 2.7 64-bit).

3.9.2 Microscopia confocal a laser

Após a realização da análise microtomográfica, as peças foram desidratadas em álcoois 70, 90 e 100, gradativamente. Ao término da desidratação, as peças foram imersas em uma mistura de álcool 100 e resina fotopolimerizável Technovit® 7200 (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Alemanha) em diferentes concentrações crescentes de resina até o momento que as peças foram imersas apenas em resina.

Em seguida, as hemi-mandíbulas com os implantes foram incluídas em resina fotopolimerizável Technovit® 7200 (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Alemanha) e posteriormente foram submetidas ao protocolo de cortes e desgastes nos equipamentos Sistema EXAKT de cortes não descalcificado (Exakt Saw 300CP/ Micro Grinder 400CS/ 520 Light Polymerization/ 530 Brck Drying) no Laboratório Multiusuário de Imagens da FOAr-UNESP (ImaLab). As lâminas obtidas no plano méso-distal peri-implantar com espessura de aproximadamente 80 µm foram capturadas no Microscópio de Fluorescência Confocal (Carl Zeiss LSM 800 com Airyscan) da Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP, utilizando uma objetiva de 10x e a partir das imagens obtidas dos fluorocromos foi realizado na região mais apical das espiras do implante a mensuração da calceína (osso velho) e vermelho de alizarina (osso novo) para avaliação da dinâmica óssea peri-implantar (µm²) no programa ZEN 3.5 (blue edition) e posteriormente foi realizado na mesma região peri-implantar a mensuração da taxa de aposição mineral – MAR (µ/dia), as imagens foram transportadas para o software de análise de imagens (ImageJ - Software de Processamento e Análise de Imagem) e por meio da ferramenta “straight”, segmento para linhas ou setas à mão livre, foram traçadas 5 medidas estendendo-se da margem externa do fluorocromo calceína em direção a margem externa do fluorocromo vermelho de alizarina, sendo o valor obtido, dividido por 10, que representa o intervalo de dias entre as aplicações dos dois fluorocromos (Dempster et al., 2013).

3.9.3 Análise histométrica

Após a realização da análise de microscopia confocal a laser, todas as lâminas foram coradas com azul de Stevenel e fucsina ácida. As imagens foram capturadas por meio do microscópio óptico (Leica DM4000 B LED, Heerbrugg

Switzerland) com o auxílio da lente objetiva Leica (2.5x/0.07, 10x/0.25, 20x/ 0.40 e 40x/0.65, 63x/0.75) acoplada a uma câmera de captura de imagem conectada ao computador (12th Gen Intel(R) Core (TM) i7-12700, 2.10 GHz, com sistema operacional Windows 10 Home Single Language) para processamento e análise de imagens no programa Leica Application Suite V4 (LAS V4.8).

As imagens capturadas foram transportadas para o software de análise de imagens (ImageJ - Software de Processamento e Análise de Imagem) e com a ferramenta “straight”, segmento para linhas ou setas à mão livre, foram realizadas as mensurações em porcentagem da extensão linear de contato osso e implante (ELCOI%) e da porcentagem de área óssea presente (AO%) na região mais apical das espiras do implante (Sisti, Piattelli, Guastaldi, Queiroz, De Rossi, 2013; Souza et al., 2014; Queiroz et al., 2017).

3.10 Metodologia de Cortes Desmineralizados

3.10.1 Análise histológica qualitativa

As hemi-mandíbulas foram removidas, fixadas em formalina tamponada a 10% (Reagentes Analíticos, Dinâmica Odonto-Hospitalar Ltda, Catanduva, São Paulo, Brasil) por 24 horas e na sequência iniciou-se o processo de descalcificação em solução de ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) e hidróxido de sódio a 20%.

Posteriormente foram desidratadas em uma sequência crescente de álcoois (70, 90, 95 e 100), seguida da diafanizados em xilol e embebidas com parafina para obtenção de cortes com 5 µm espessura por meio de micrótomo (RM2235, Leica Biosystems Nussloch GmbH 2017). Após a coloração com hematoxilina e eosina (H&E, Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA), as imagens foram capturadas por meio do microscópio óptico (Leica DM4000 B LED, Heerbrugg Switzerland) com o auxílio da lente objetiva Leica (2.5x/0.07, 10x/0.25, 20x/ 0.40 e 40x/0.65, 63x/0.75) acoplado a uma câmera de captura de imagem e conectado ao computador (12th Gen Intel(R) Core(TM) i7-12700, 2.10 GHz, com sistema operacional Windows 10 Home Single Language) para processamento e análise de imagens no programa

Leica Application Suite V4 (LAS V4.8). Após obtenção das imagens, foi realizada análise histológica qualitativa (Puttini et al., 2019; Hadad et al., 2022).

3.10.2 Análise imunoistoquímica

Os cortes seguintes das amostras coradas por hematoxilina-eosina foram coletados em lâminas silanizadas para posterior análise. O processamento imunoistoquímico foi realizado no Laboratório para o Estudo de Tecidos Mineralizados (LSMT) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP.

A atividade da peroxidase endógena foi inibida com peróxido de hidrogênio e as lâminas passaram pela etapa de recuperação antigênica com tampão fosfato citrato (ph 6.0). Os anticorpos primários utilizados foram contra osteocalcina (OCN), osteopontina (OPN), ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL) e fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) (Santa Cruz Biotechnology), com objetivo avaliar as respostas celulares quanto ao processo de mineralização óssea (OCN e OPN), remodelação óssea (RANKL) e atividades osteoclásticas (TRAP).

O método de detecção foi a imunoperoxidase, utilizando o anticorpo secundário biotinilado anti-cabra produzido em coelho (Pierce Biotechnology), a Estreptavidina e Biotina (DAKO Japan, Tóquio, Japão) foram utilizadas como amplificadoras e a Diaminobenzidina (DAKO Japan, Tóquio, Japão) como cromógeno. E para cada um dos anticorpos utilizados, foi avaliada a expressão destas proteínas semi-quantitativamente por meio de escores, de acordo com o número de células imunomarcadas na região peri-implantar (Hassumi et al., 2018; Oliveira et al., 2017), conforme apresentado abaixo:

- **Marcação ausente (escore “0”):** representa ausência de marcação positiva;
- **Marcação discreta (escore “1”):** quando 25% da área de interesse apresenta marcação positiva;
- **Marcação moderada (escore “2”):** quando 50% da área de interesse apresenta marcação positiva;
- **Marcação intensa (escore “3”):** quando 75% da área de interesse apresenta marcação positiva.

3.11 Análise Estatística

Por meio do software Sigma Plot 12.0 (Exakt Graph and Data Analysis) foram realizadas as análises estatísticas, considerando $P < 0.05$. Todos os valores obtidos foram tabulados e submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade de distribuição, seguido da verificação da homogeneidade de variância.

Os valores foram submetidos ao teste: **(1)** ANOVA One-way – análise biomecânica, EDS, parâmetros microtomográficos, MAR, ELCOI% e AO% e **(2)** ANOVA Two-way – dinâmica óssea. Posteriormente todos os dados foram submetidos ao teste de Tukey para múltiplas comparações.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização Topográfica, Aspectos Clínicos e Biomecânico

4.1.1 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação

As superfícies dos implantes demonstraram padrões topográficos de subtração com formações de microcavidades de diferentes profundidades e tamanhos, mantendo uma rugosidade homogênea (Figuras 7 e 9A).

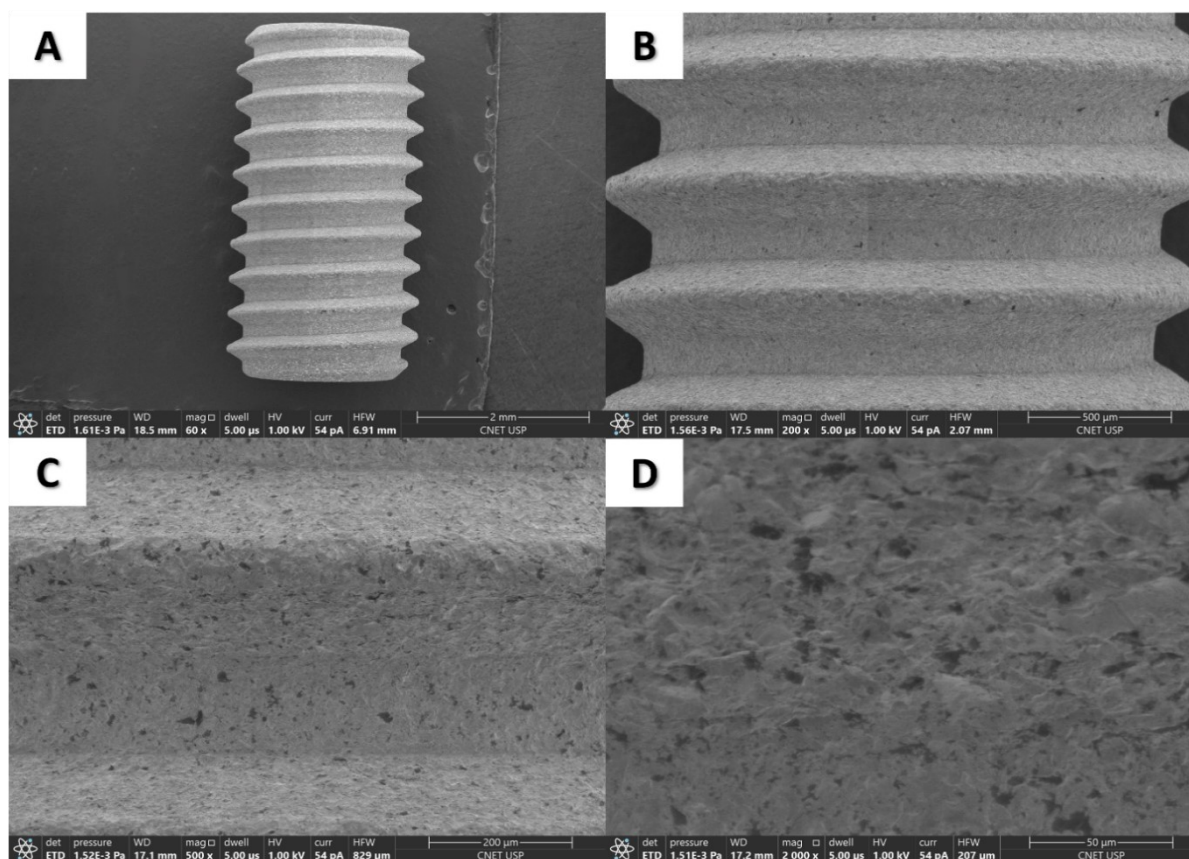


FIGURA 7 Imagens representativas da caracterização topográfica das superfícies dos implantes previamente a instalação (A) MEV: 60x; (B) MEV: 200x; (C) MEV: 500x e (D) MEV: 2000x.

O EDS detectou maior pico de Ti e menor pico de O (Figuras 8 e 9D) em toda a superfície do implante, além disso, foi realizado o mapeamento elemental, representado pela cor azul o O (Figura 9B) e o Ti pela cor vermelha (Figura 9C).

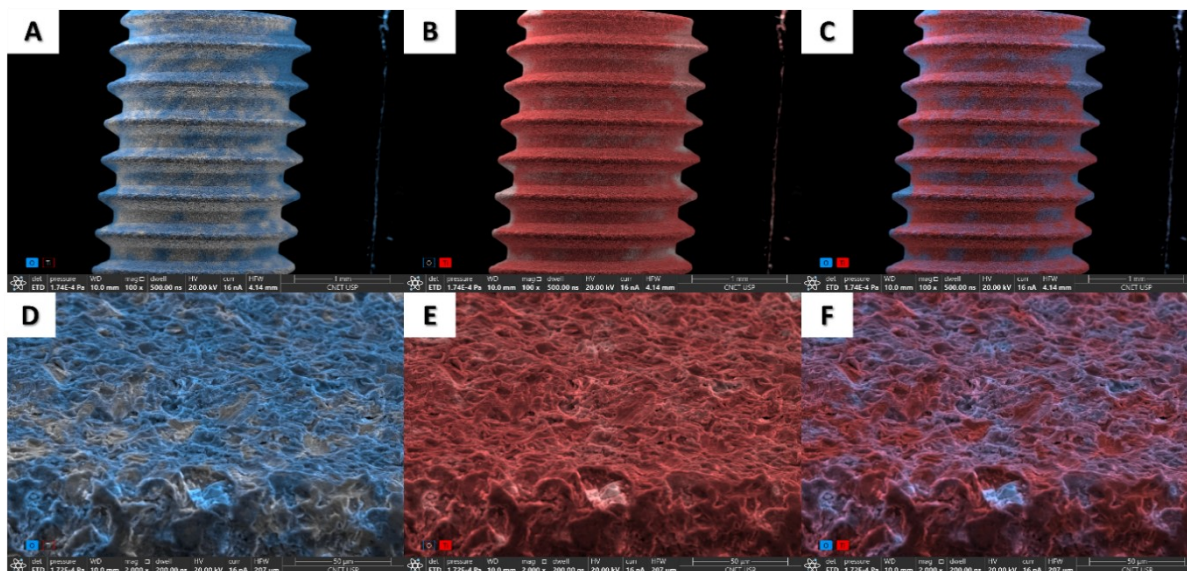


FIGURA 8 Imagens representativas da análise de EDS dos elementos O e Ti nas superfícies dos implantes previamente a instalação (A) O: 100x; (B) Ti: 100x; (C) Sobreposição dos elementos O e Ti: 100x; (D) O: 2000x; (E) Ti: 2000x; (F) sobreposição dos elementos O e Ti: 2000x.

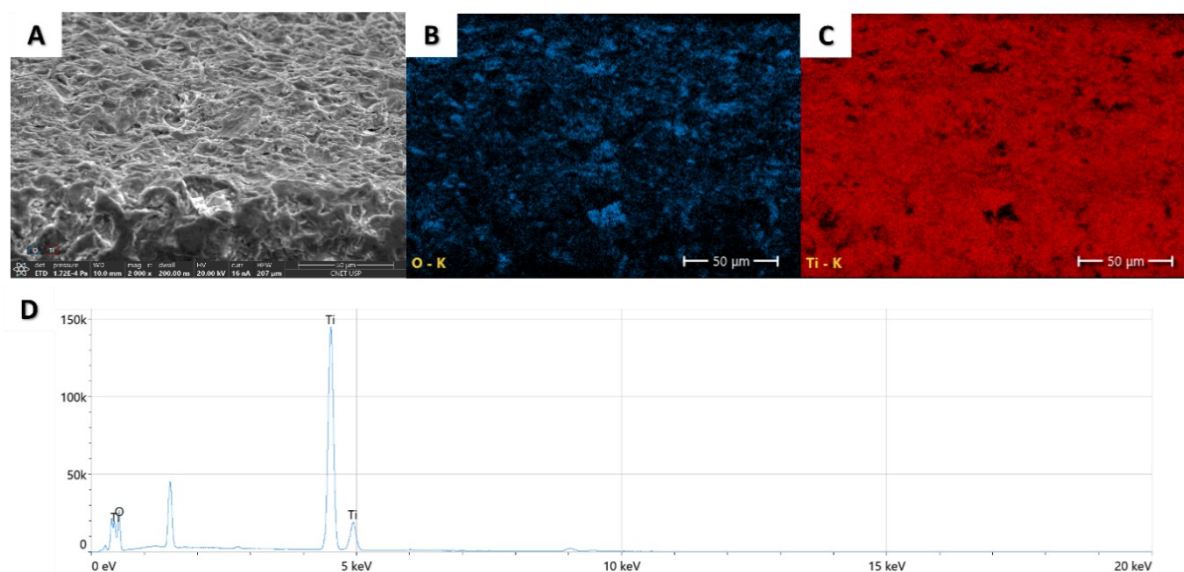


FIGURA 9 Imagens representativas do mapeamento elemental das superfícies dos implantes previamente a instalação (A) MEV: 2000x; (B) O representado pela cor azul e (C) Ti representado pela cor vermelha.

4.1.2 Classificações dos aspectos clínicos

Previamente as instalações dos implantes, todos os alvéolos reparacionais foram fotografados e posteriormente foram realizadas as classificações clínicas para cada grupo de terapias prévias alveolares (Figura 10).

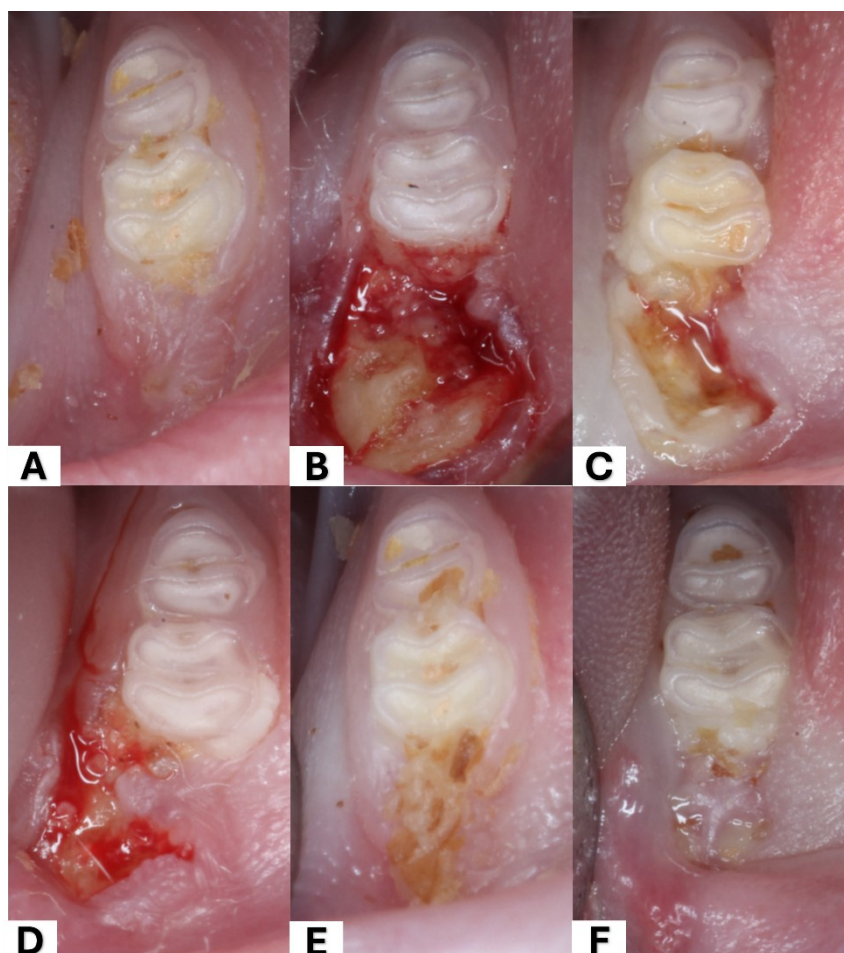


FIGURA 10 Imagem representativa dos aspectos clínicos dos alvéolos reparacionais de acordo com as terapias prévias nos diferentes grupos experimentais (A) GS: coágulo sanguíneo; (B) GZ: coágulo sanguíneo; (C) GB: biomaterial; (D) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GBDP: aplicação de aPDT e biomaterial com gel de doxiciclina a 10% e (F) GDP: aplicação de aPDT e gel de doxiciclina a 10%.

O grupo controle negativo GS apresentou melhores resultados para os aspectos clínicos dos alvéolos reparacionais com predominância para o grau 0 (n=5), diferentemente do grupo controle positivo GZ que exibiu maiores números de amostras para o grau 4 (n=6), com presença de tecido ósseo exposto e infecção que se estende além da região alveolar.

Os grupos GB, GBD, GBDP e GDP não apresentaram amostras com grau 4, no entanto GB apresentou maior quantidade de amostras para grau 3 (n=5), seguido

do GBD (n=4) e GBDP (n=1). Além disso, observou-se que GDP não apresentou nenhum espécime para grau 3 (n=0). (Figura 11).

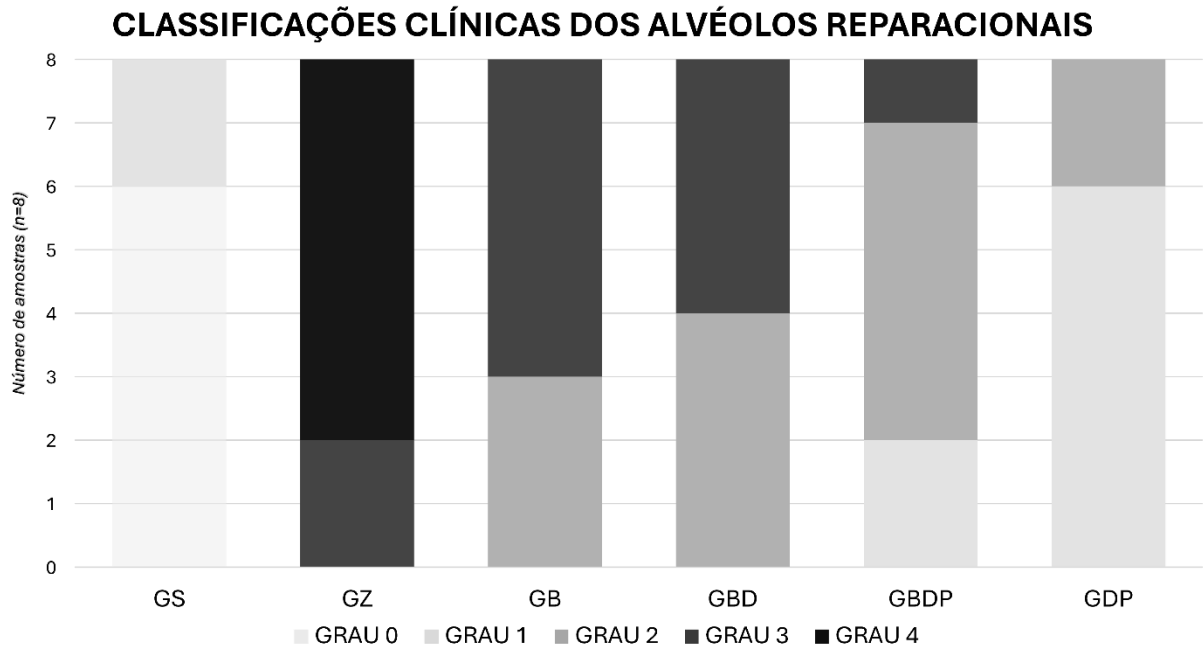


FIGURA 11 Gráfico representativo das classificações clínicas dos alvéolos reparacionais em relação ao número de amostras nos diferentes grupos experimentais.

Anteriormente a eutanásia, as regiões peri-implantares foram fotografadas e posteriormente foram realizadas as classificações dos aspectos clínicos (Figura 12).

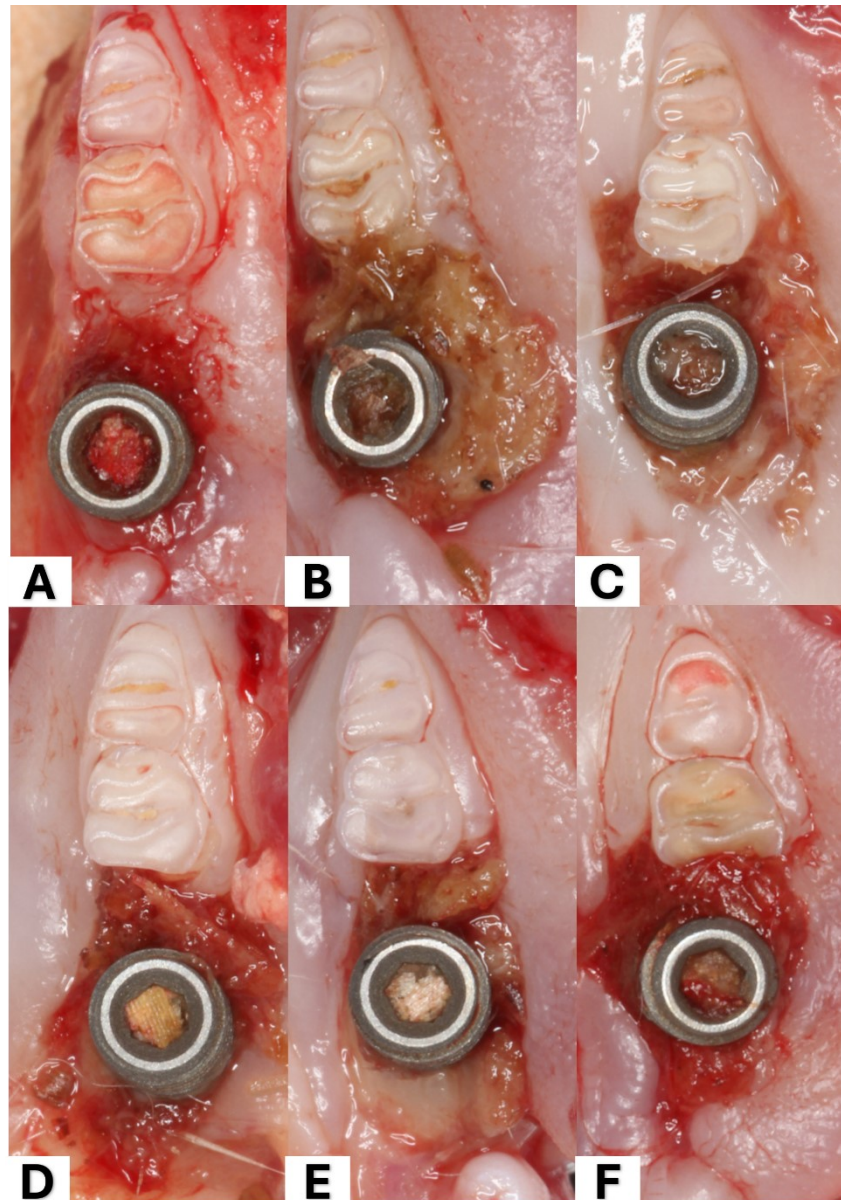


FIGURA 12 Imagem representativa dos aspectos clínicos peri-implantares de acordo com as terapias prévias nos diferentes grupos experimentais (A) GS: coágulo sanguíneo; (B) GZ: coágulo sanguíneo; (C) GB: biomaterial; (D) GBD: biomaterial e gel de doxiciclina a 10%; (E) GBDP: aplicação de aPDT e biomaterial com gel de doxiciclina a 10% e (F) GDP: aplicação de aPDT e gel de doxiciclina a 10%.

De forma geral, notou-se uma piora nos aspectos clínicos peri-implantares, principalmente nos grupos tratados com ZA (Figura 12). O grupo controle negativo GS continuou apresentando melhores para os aspectos peri-implantares com grau 1

(n=7) e o grupo controle positivo GZ manteve apresentando maior número de amostras para grau 4 (n=7), seguido do grupo GB (n=2).

Os grupos GBD e GDP apresentaram quantidades semelhantes para grau 2 (n=3) e grau 3 (n=5). E apesar do grupo GDP apresentar amostras para grau 2 (n=1) e grau 3 (n=3), metade das amostras foram classificadas com grau 1 (n=4), o que sugere ser a melhor terapia para as classificações peri-implantares quando comparado com os grupos tratados com ZA (Figura 13).

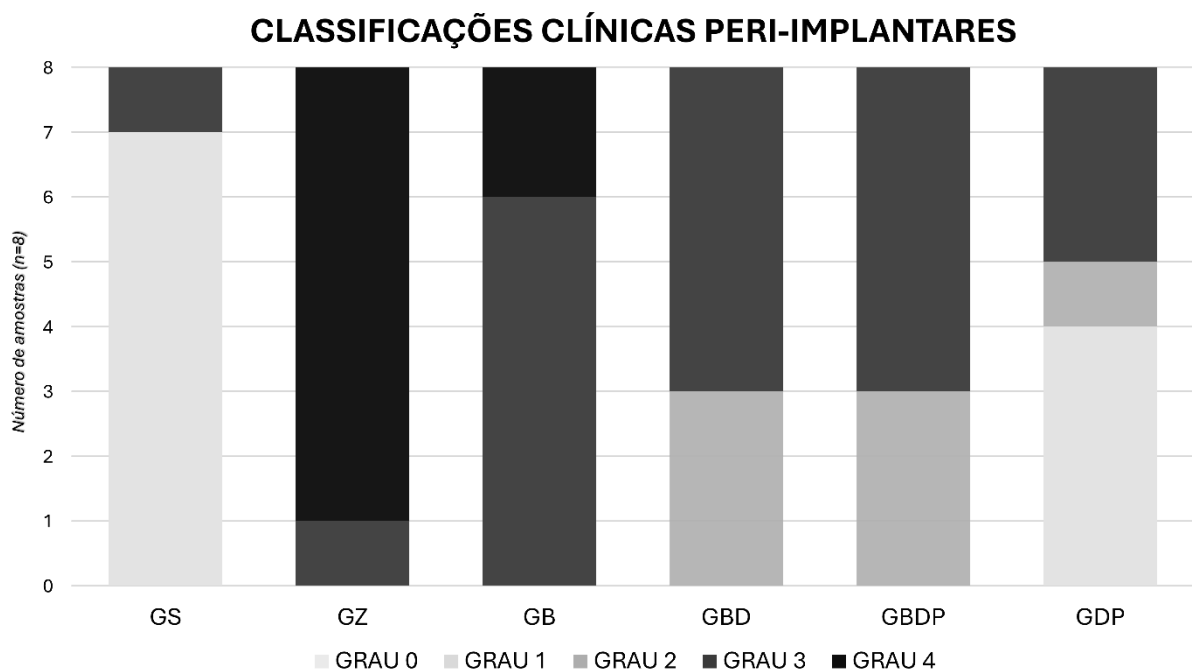


FIGURA 13 Gráfico representativo das classificações clínicas peri-implantares em relação ao número de amostras nos diferentes grupos experimentais.

4.1.3 Análise biomecânica

O grupo controle negativo GS (4.081 ± 0.950) apresentou valores significativamente maiores de torque de remoção (N.cm) quando comparado com o grupo controle positivo GZ (1.252 ± 0.044 ; $P < 0.001$), GB (2.096 ± 0.884 ; $P < 0.001$), GBD (2.382 ± 0.756 ; $P = 0.002$) e GBDP (2.331 ± 0.472 ; $P = 0.001$), porém sem diferença estatística para GDP (2.982 ± 1.105 ; $P = 0.091$). Além disso, o grupo GDP apresentou valores superiores de torque de remoção em relação os grupos

tratados com ZA, com diferença estatística para o grupo controle positivo GZ ($P = 0.001$) (Figura 14).

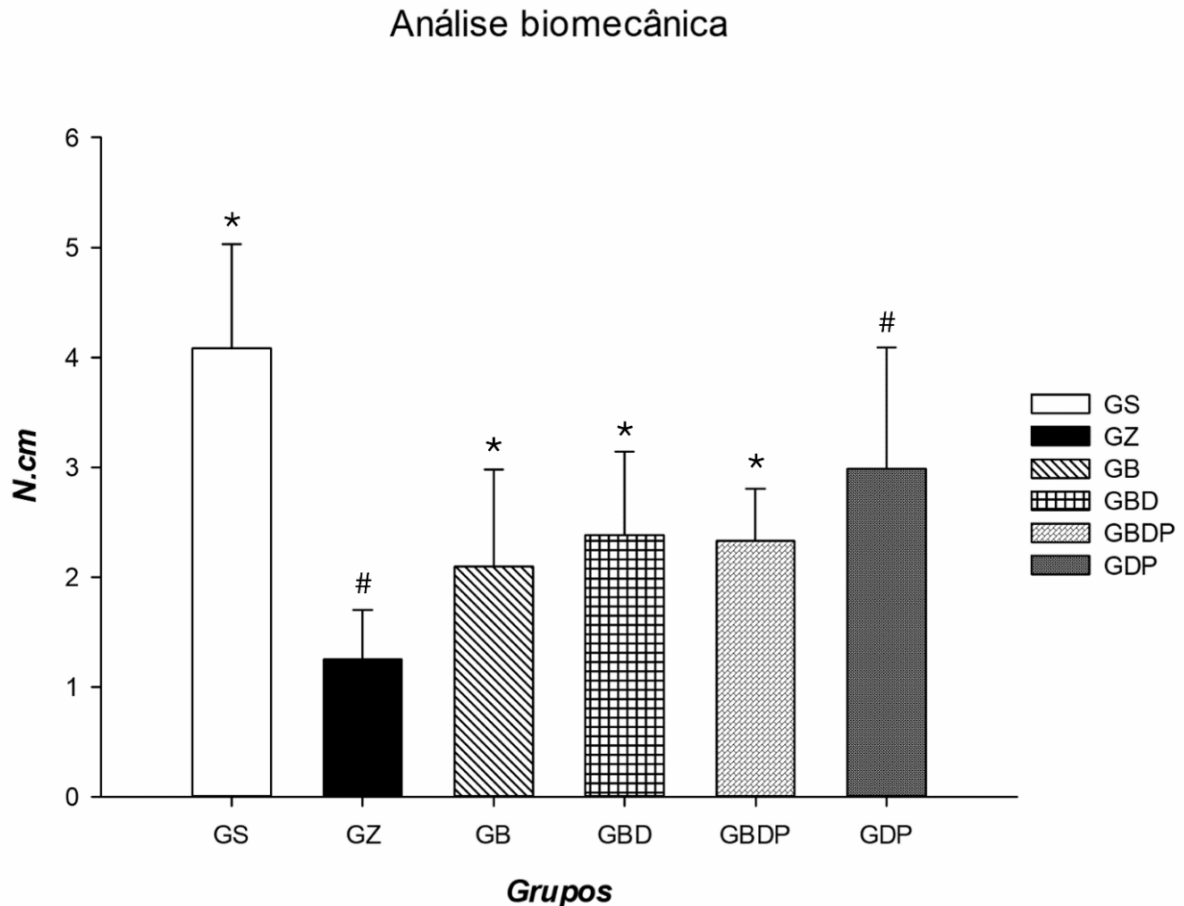


FIGURA 14 Gráfico representativo dos valores médios e desvio padrão de torque de remoção (N.cm) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e #, quando comparado com GDP).

4.1.4 Caracterização topográfica das superfícies dos implantes removidos por meio do torque de remoção

De forma geral, a MEV demonstrou maior quantidade de material biológico peri-implantar recobrando as regiões de sulcos das roscas dos implantes dentários. No entanto, o grupo controle negativo GS apresentou um recobrimento de forma mais homogênea (Figuras 15A, 15B e 15C), o grupo controle positivo GZ apresentou sobreposição nas regiões de sulcos e cristas (Figuras 16A, 16B e 16C), GB

apresentou menor quantidade de material biológico peri-implantar (Figuras 17A, 17B e 17C) e os grupos GBD, GBDP e GDP apresentaram sobreposições de material biológico, principalmente nas regiões de sulcos dos implantes dentários (Figuras 18A, 18B, 18C, 19A, 19B, 19C, 20A, 20B e 20C).

A análise de EDS detectou picos de C, O, P, Ca e Ti em todas as superfícies dos implantes removidos (Figuras 15D, 16D, 17D, 18D, 19D e 20D). No entanto, notou-se a presença do S nas superfícies dos implantes dos grupos que receberam aplicação de ZA (Figuras 16D, 17D, 18D, 19D e 20D).

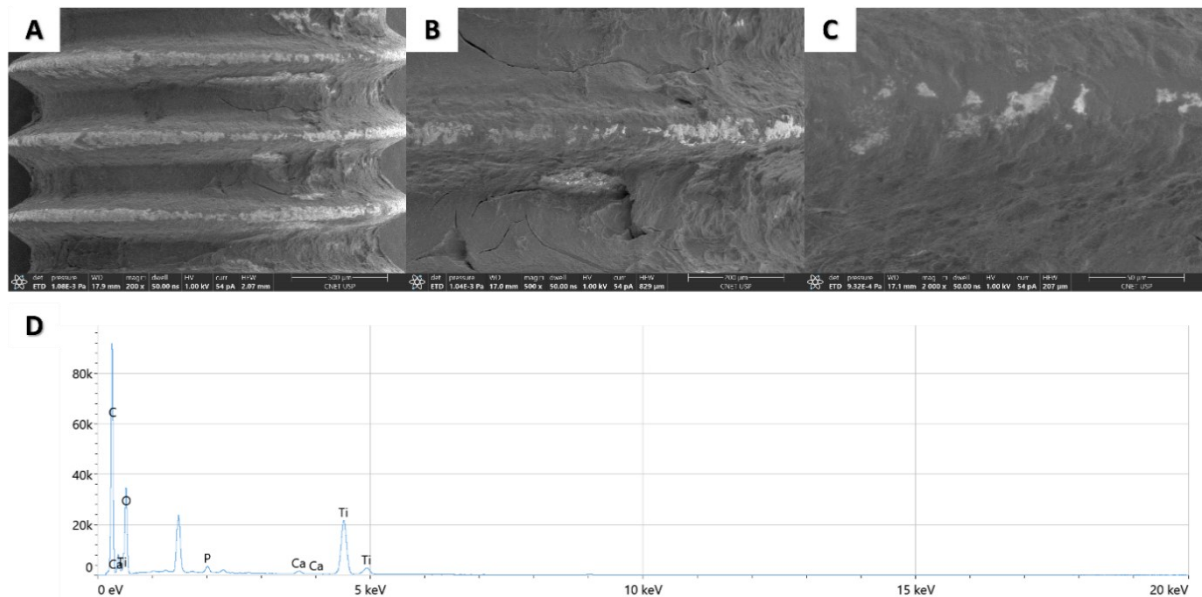


FIGURA 15 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GS (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

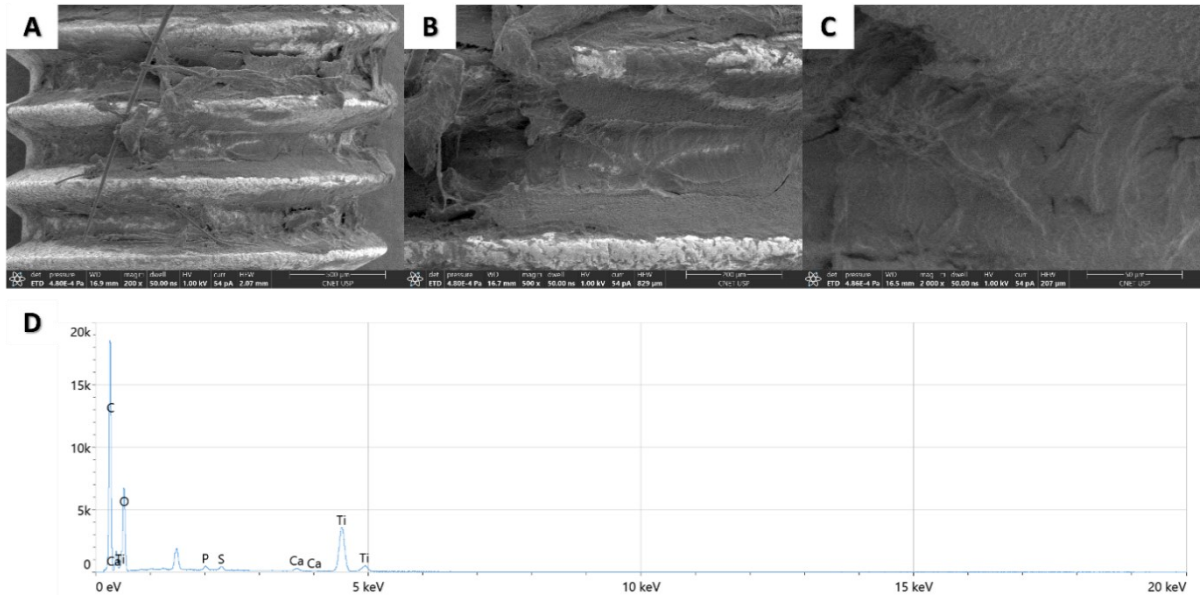


FIGURA 16 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GZ (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

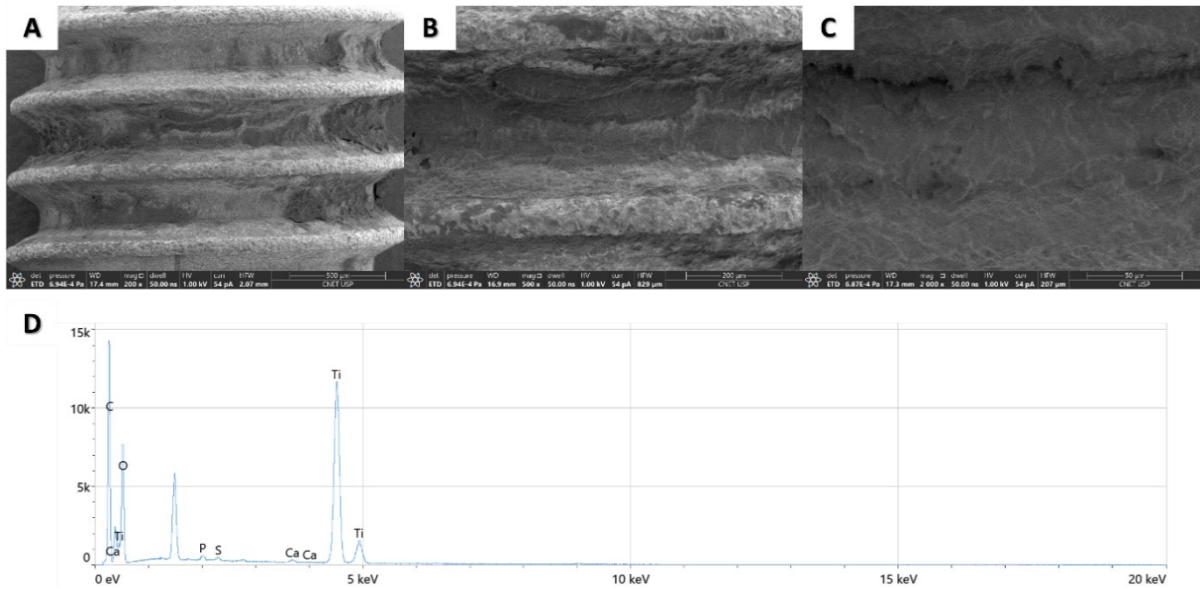


FIGURA 17 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GB (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

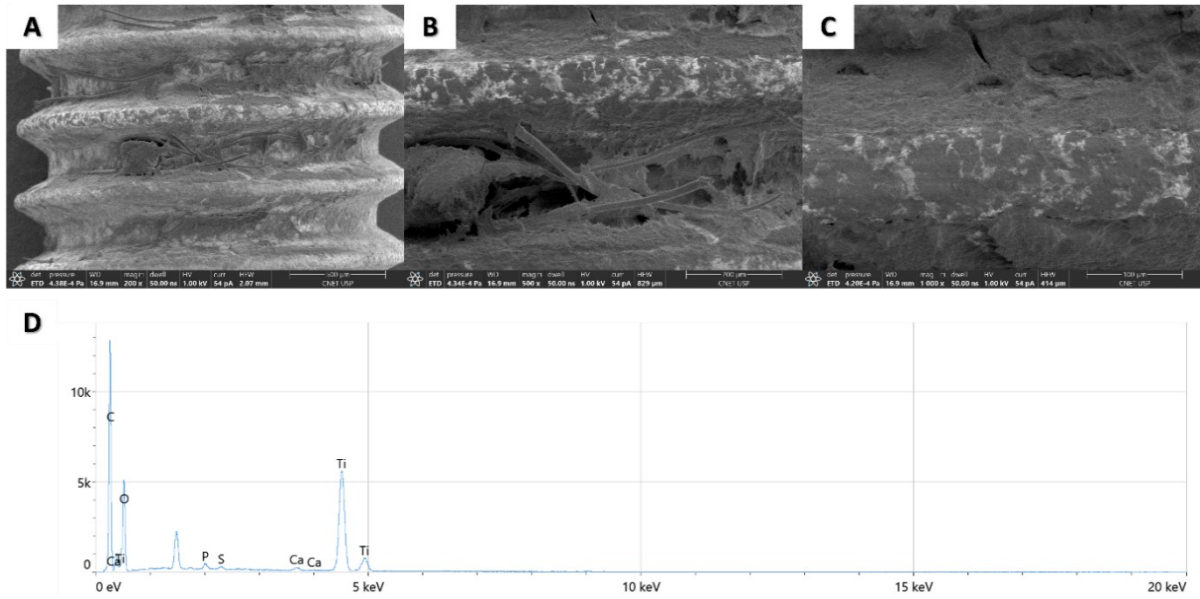


FIGURA 18 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GBD (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

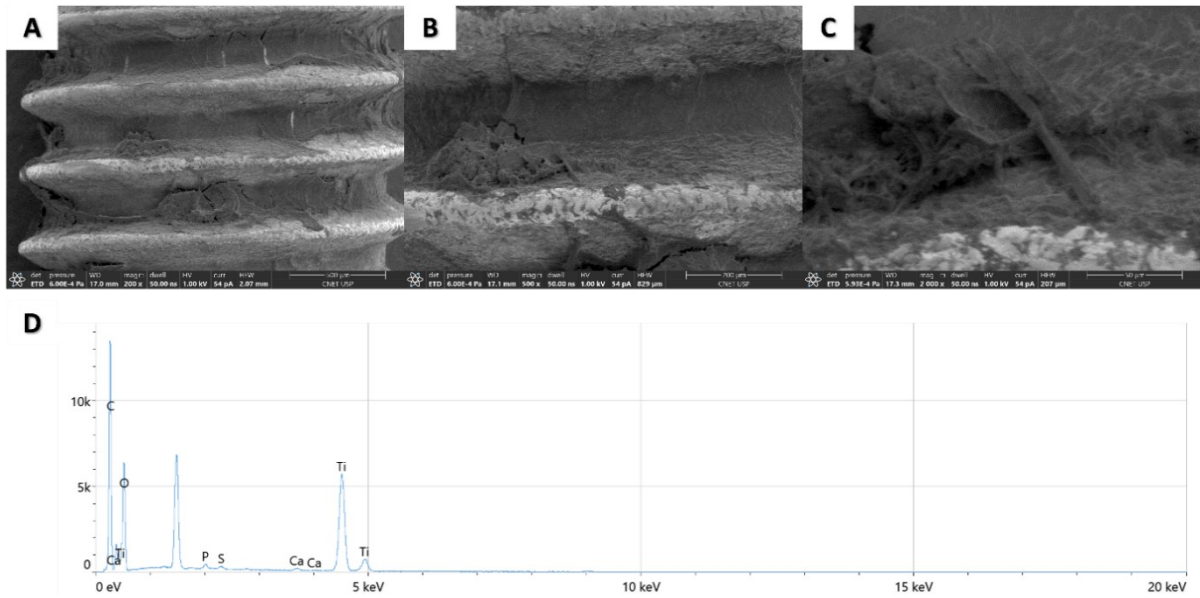


FIGURA 19 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GBDP (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

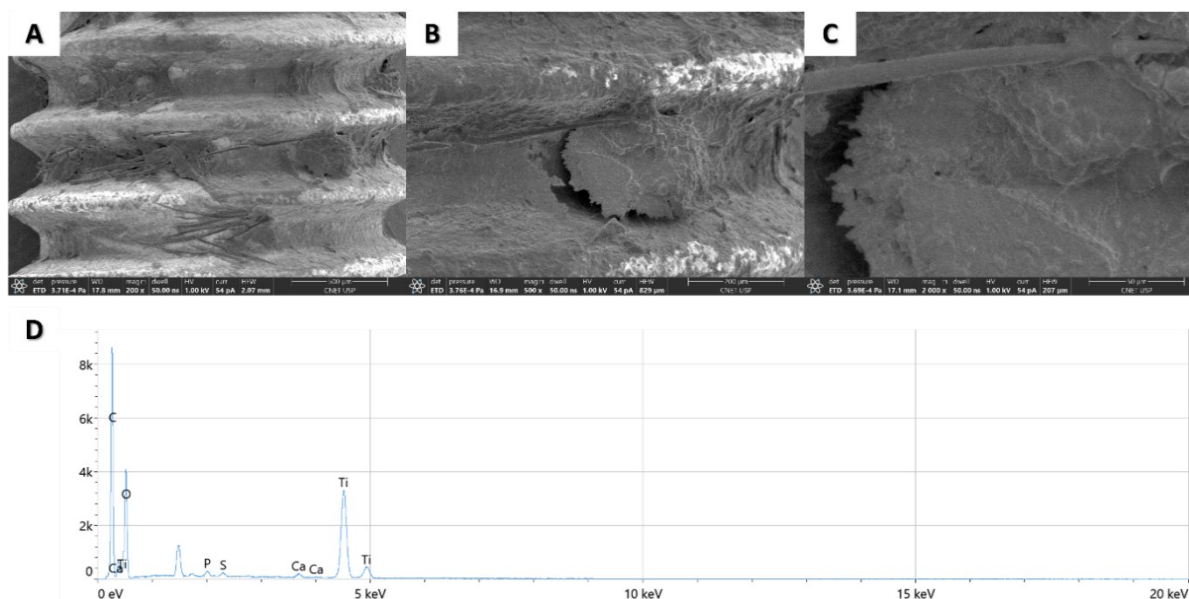


FIGURA 20 Imagens representativas da caracterização topográfica dos implantes removidos por meio do torque de remoção do grupo GDP (A) MEV: 200x; (B) MEV: 500x; (C) MEV: 2000x e (D) EDS.

A partir do EDS, foi realizado a mensuração semiquantitativa dos elementos C, O, P, S, Ca e Ti presentes nas superfícies dos implantes removidos para avaliar o material biológico peri-implantar (Figura 21).

- **C (% em peso):** os grupos controle negativo GS (35.831 ± 10.083) e controle positivo GZ (36.000 ± 6.738) apresentaram valores significativamente maiores de C quando comparado com GB (16.481 ± 5.590 ; $P < 0.001$ e $P < 0.001$) e sem diferença estatísticas para os grupos GBD (26.425 ± 9.255 ; $P = 0.266$ e $P = 0.248$), GBDP (25.306 ± 11.862 ; $P = 0.164$ e $P = 0.152$) e GDP (27.806 ± 6.316 ; $P = 0.437$ e $P = 0.414$), respectivamente (Figura 21A).

- **O (% em peso):** foram observados valores semelhantes, sem diferenças estatísticas entre os grupos ($P = 0,092$). O grupo controle negativo GS (46.281 ± 1.490) apresentou maiores valores, seguido do grupo GDP (45.744 ± 3.333), GBD (44.763 ± 1.920), GBDP (44.469 ± 3.581), GB (44.383 ± 5.676) e GZ (42.725 ± 1.827) (Figura 21B).

- **P (% em peso):** o grupo controle negativo GS (1.431 ± 0.403) apresentou valores significativamente superior quando comparado com o controle positivo GZ

(0.506 ± 0.215 ; $P < 0.001$), GB (0.388 ± 0.116 ; $P < 0.001$), GBD (0.519 ± 0.270 ; $P < 0.001$), GBDP (0.519 ± 0.270 ; $P < 0.001$) e GDP (0.688 ± 0.136 ; $P < 0.001$) (Figura 21C).

- **S (% em peso):** não foi encontrado no grupo controle negativo GS. No entanto o grupo controle positivo GZ (0.525 ± 0.175) apresentou valores superiores a GS ($P < 0.001$) e GB (0.171 ± 0.0749 ; $P < 0.001$). E os grupos GBD (0.306 ± 0.182), GBDP (0.269 ± 0.128) e GDP (0.344 ± 0.124) apresentaram diferenças estatísticas para GS ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$) (Figura 21D).

- **Ca (% em peso):** GS (1.350 ± 0.797) apresentou valores significativamente maiores quando comparado com GB (0.352 ± 0.144 ; $P = 0.002$), GBD (0.431 ± 0.271 ; $P = 0.002$), GBDP (0.488 ± 0.409 ; $P = 0.002$) e sem diferença estatística GZ ($0,456 \pm 0,172$; $P > 0.05$) e GDP (0.656 ± 0.184 ; $P > 0.05$) (Figura 21E).

- **Ti (%):** GB ($38,219 \pm 11,349$) apresentou valores superiores de Ti quando comparado com GS (15.094 ± 9.668 ; $P < 0,001$) e GZ (19.813 ± 7.107 ; $P = 0.010$). No entanto, sem diferenças estéticas para GBD (27.550 ± 10.228 ; $P = 0,309$), GBDP (28.900 ± 14.227 ; $P = 0.458$) e GDP (24.725 ± 6.474 ; $P = 0.107$) (Figura 21F).

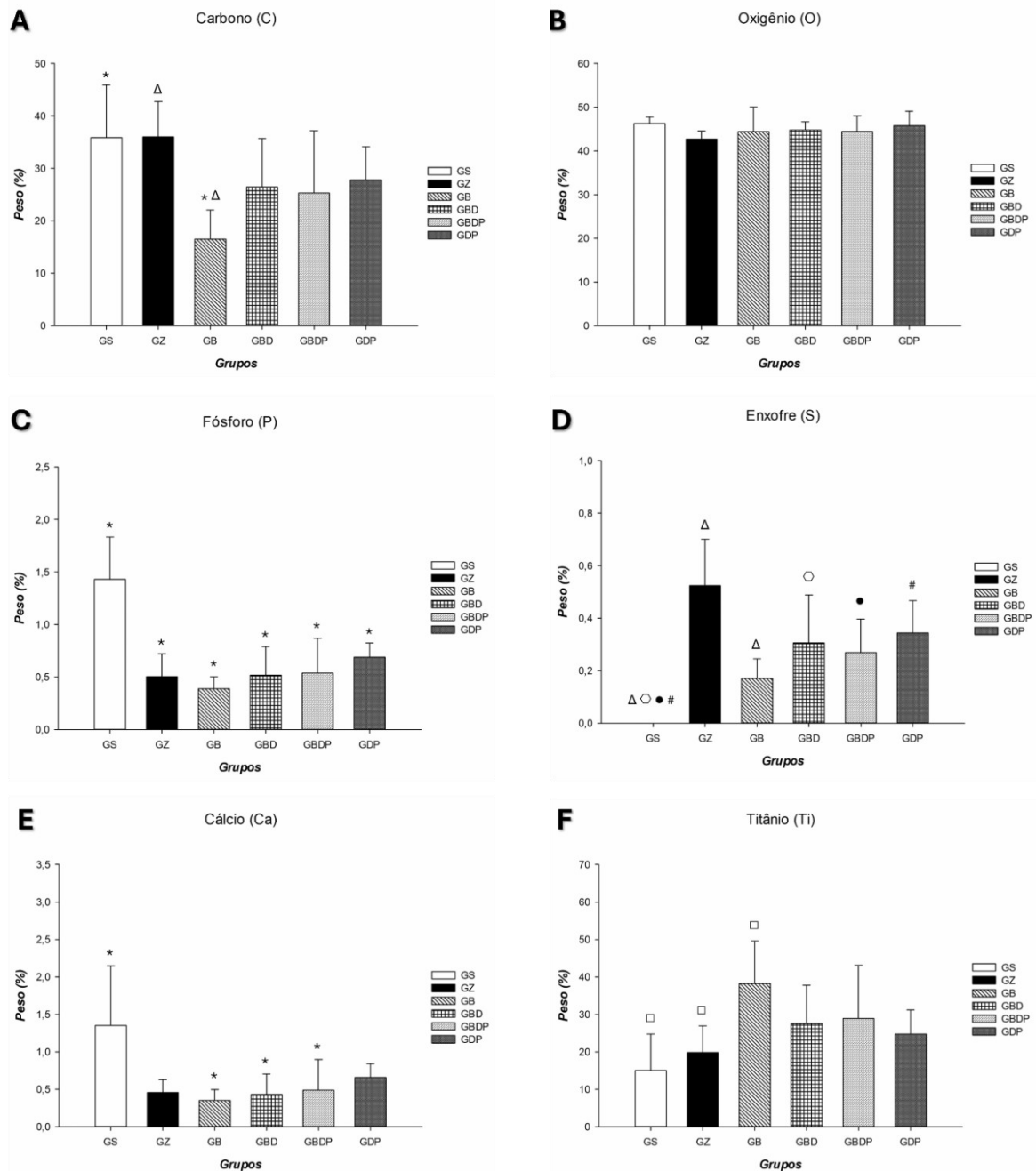


FIGURA 21 Imagem representativa dos gráficos de acordo com a análise semiquantitativa dos elementos em peso (%) presentes nas superfícies dos implantes nos diferentes grupos experimentais (A) Carbono ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e Δ , quando comparado com GZ); (B) Oxigênio; (C) Fósforo ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS); (D) Enxofre ($P < 0.05$, representado por Δ , quando comparado com GZ; #, quando comparado com GDP; \square , quando comparado com GBD e •, quando comparado com GBDP); (E) Cálcio ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS) e (F) Titânio ($P < 0.05$, representado por \square , quando comparado com GB).

4.2 Cortes Mineralizados

4.2.1 Análise microtomográfica (micro-CT)

- **Porcentagem de volume ósseo (BV/TV):** o grupo controle positivo GZ (26.469 ± 1.987) apresentou maior valor de BV/TV quando comparado com GS (22.069 ± 2.820 ; $P = 0.022$), GB (11.149 ± 2.755 ; $P < 0.001$), GBD (9.971 ± 3.284 ; $P < 0.001$), GBDP (10.355 ± 2.643 ; $P < 0.001$) e GDP (17.253 ± 2.247 ; $P < 0.001$). Enquanto o grupo controle negativo GS apresentou valor significativamente maior para GB ($P < 0.001$), GBD ($P < 0.001$), GBDP ($P < 0.001$) e GDP ($P = 0.009$). E GDP apresentou maiores valores do que GB ($P < 0.001$), GBD ($P < 0.001$) e GBDP ($P < 0.001$) (Figuras 22A e 23).

- **Espessura trabecular (Tb.Th):** GZ (0.211 ± 0.021) apresentou valor significativamente maior quando comparado com GB ($0,158 \pm 0,014$; $P < 0.05$), GBD ($0,142 \pm 0,019$; $P < 0.05$) e GBDP ($0,142 \pm 0,024$; $P < 0.05$), porém sem diferença estatística para GDP ($0.171 \pm 0,011$; $P > 0.05$). Enquanto, GS ($0,198 \pm 0,028$) apresentou diferença estatística para GBD ($P < 0.05$) e GBDP ($P < 0.05$) (Figuras 22B e 23).

- **Número trabecular (Tb.N):** os grupos controle negativo GS (1.124 ± 0.095) e controle positivo GZ (1.256 ± 0.061) apresentaram valores significativamente maiores quando comparado com GB ($P < 0.001$, para ambos), GBD ($P < 0.001$, para ambos), GBDP ($P < 0.001$, para ambos) e GDP ($P = 0.043$ e $P < 0.001$), respectivamente. E foi observada diferença estatística entre GDP (0.969 ± 0.057) e os grupos GB (0.684 ± 0.118 ; $P < 0.001$), GBD (0.687 ± 0.141 ; $P < 0.001$) e GBDP (0.726 ± 0.112 ; $P < 0.001$) (Figuras 22C e 23).

- **Separação trabecular (Tb.Sp):** os grupos GB (1.475 ± 0.061), GBD (1.487 ± 0.047) e GBDP (1.517 ± 0.043) apresentaram valores significativamente maiores quando comparado com GS ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$), GZ ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$) e GDP ($P = 0.012$, $P = 0.003$ e $P < 0.001$). Enquanto GDP (1.398 ± 0.032) demonstrou diferença estatística para GS (1.196 ± 0.043 ; $P < 0.001$) e GZ (1.220 ± 0.025 ; $P < 0.001$). Não houve diferenças significativas entre GS e GZ ($P = 0.867$) (Figuras 22D e 23).

- **Porcentagem de porosidade total (Po.(tot)):** em contraste com o parâmetro de BV/TV, os grupos GB (88.851 ± 2.755), GBD (90.029 ± 3.284) e GBDP (89.645 ± 2.643) apresentaram maiores valores com diferença estatística para GS ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$), GZ ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$) e GDP ($P < 0.001$, $P < 0.001$ e $P < 0.001$). Enquanto GDP (82.747 ± 2.247), apresentou valor significativamente maior quando comparado com GS (77.931 ± 2.820 ; $P = 0.009$) e GZ (73.531 ± 1.987 ; $P < 0.001$). O grupo controle positivo GZ apresentou menor valor de Po.(tot), com diferença estatística para GS ($P = 0.022$) (Figuras 22E e 23).

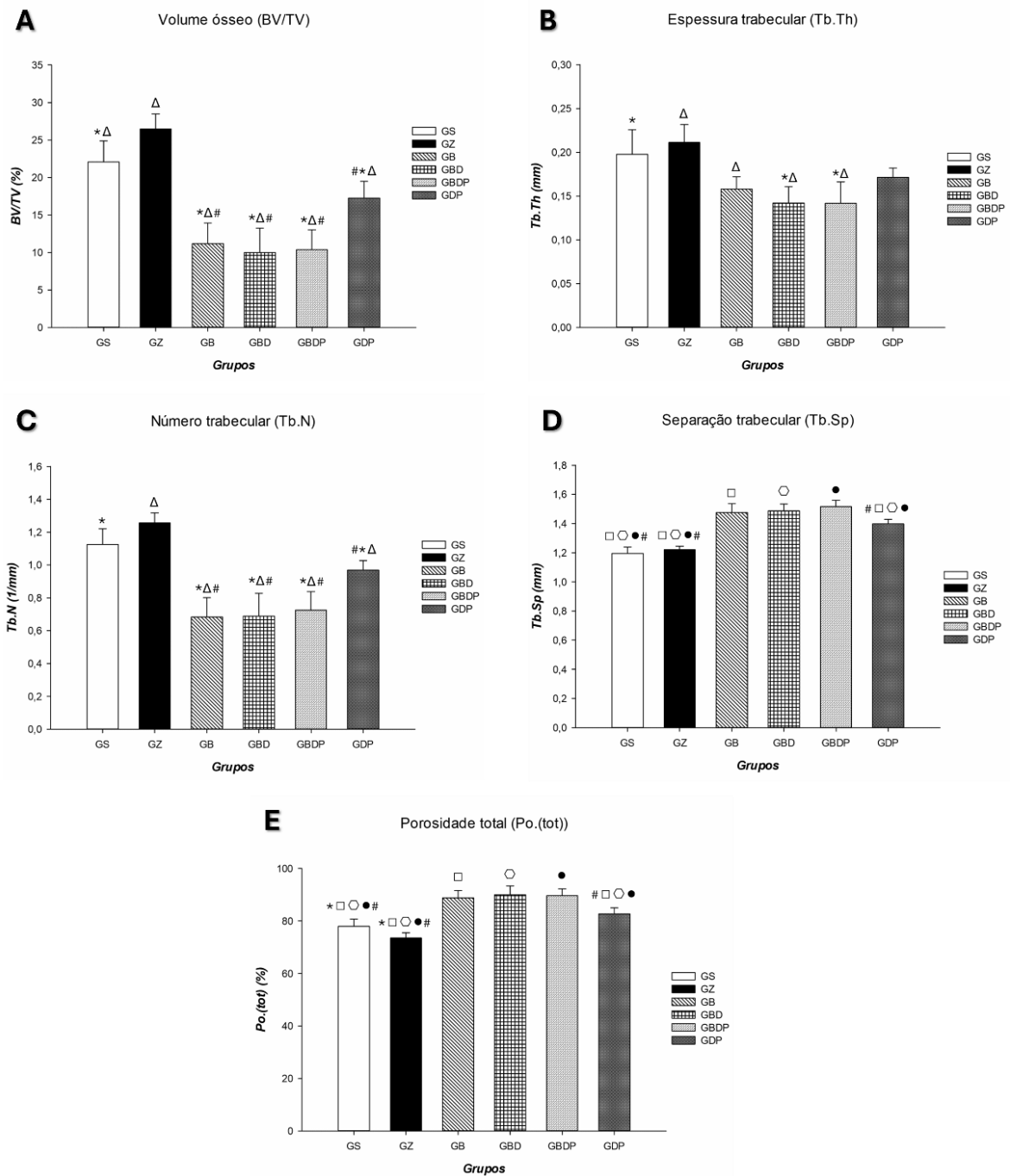


FIGURA 22 Imagem representativa dos gráficos de acordo com os parâmetros microtomográficos da microarquitetura óssea peri-implantar nos diferentes grupos experimentais (A) Porcentagem de volume ósseo (BV/TV) ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; Δ , quando comparado com GZ e #, quando comparado com GDP); (B) Espessura trabecular (Tb.Th) ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e Δ , quando comparado com GZ); (C) Número trabecular (Tb.N) ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; Δ , quando comparado com GZ e #, quando comparado com GDP); (D) Separação

trabecular (Tb.Sp) ($P < 0.05$, representado por #, quando comparado com GDP; □, quando comparado com GB; ◊, quando comparado com GBD e •, quando comparado com GBDP) e (E) Porcentagem de porosidade total (Po.(tot)) ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; #, quando comparado com GDP; □, quando comparado com GB; ◊, quando comparado com GBD e •, quando comparado com GBDP).

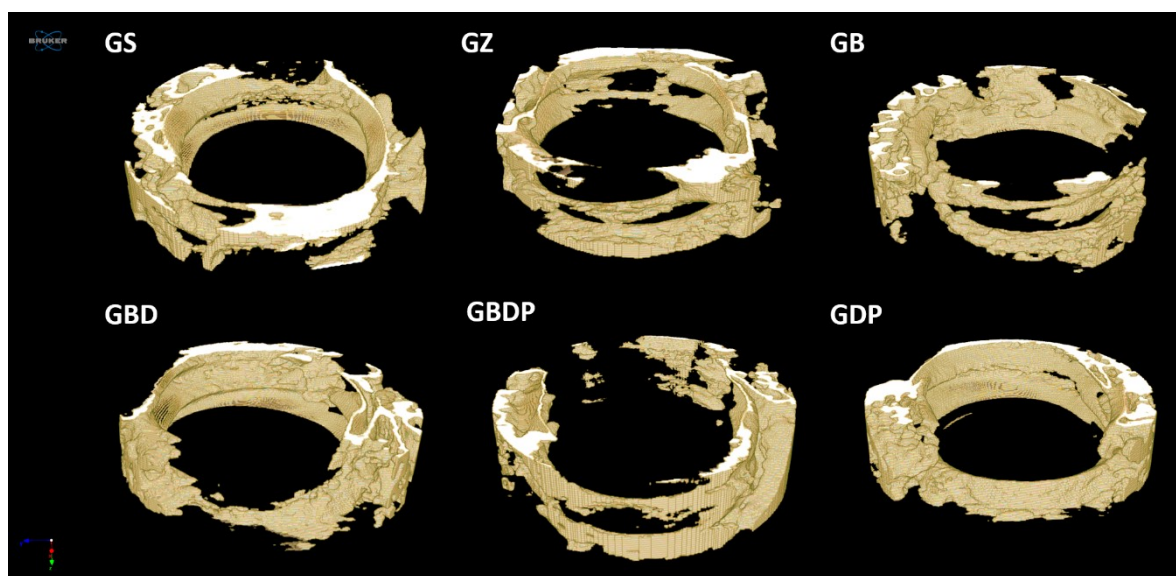


FIGURA 23 Imagens representativas das reconstruções em 3D de todos os grupos experimentais por meio do software CTvox – Bruker (SkyScan, Versão 2.7.).

4.2.2 Microscopia confocal a laser

- **Dinâmica óssea:** O grupo GZ apresentou maior valor de calceína (51.796 ± 4.656) quando comparado com GS (42.855 ± 3.027 ; $P < 0.001$), GB (38.292 ± 4.318 ; $P < 0.001$), GBDP (40.092 ± 5.414 ; $P < 0.001$) e GDP (43.114 ± 6.727 ; $P = 0.001$), porém sem diferença estatística para GBD (48.461 ± 4.943 ; $P = 0.604$). E GBD apresentou valor significativo maior de calceína quando comparado com GB ($P < 0.001$) e GBDP ($P = 0.002$) (Figura 24).

Enquanto GS (51.035 ± 3.498) apresentou valor significativamente maior de vermelho de alizarina quando comparado com GZ (44.333 ± 2.464 ; $P = 0.023$), GB (22.144 ± 3.040 ; $P < 0.001$), GBD (23.993 ± 3.026 ; $P < 0.001$), GBDP ($24.484 \pm$

3.267; $P < 0.001$) e GDP (26.526 ± 3.736 ; $P < 0.001$). O grupo GZ apresentou maior valor de vermelho de alizarina quando comparado com GB ($P < 0,001$), GBD ($P < 0,001$), GBDP ($P < 0,001$) e GDP ($P < 0,001$) (Figura 24).

Foi observado também maiores valores de calceína para GZ ($P = 0.028$), GB ($P < 0.001$), GBD ($P < 0.001$) e GBDP ($P < 0.001$) em relação ao vermelho de alizarina. E apenas o grupo GS demonstrou valor significativamente maior de vermelho de alizarina em relação a calceína ($P = 0.010$), apresentando maior dinâmica óssea (Figura 24).

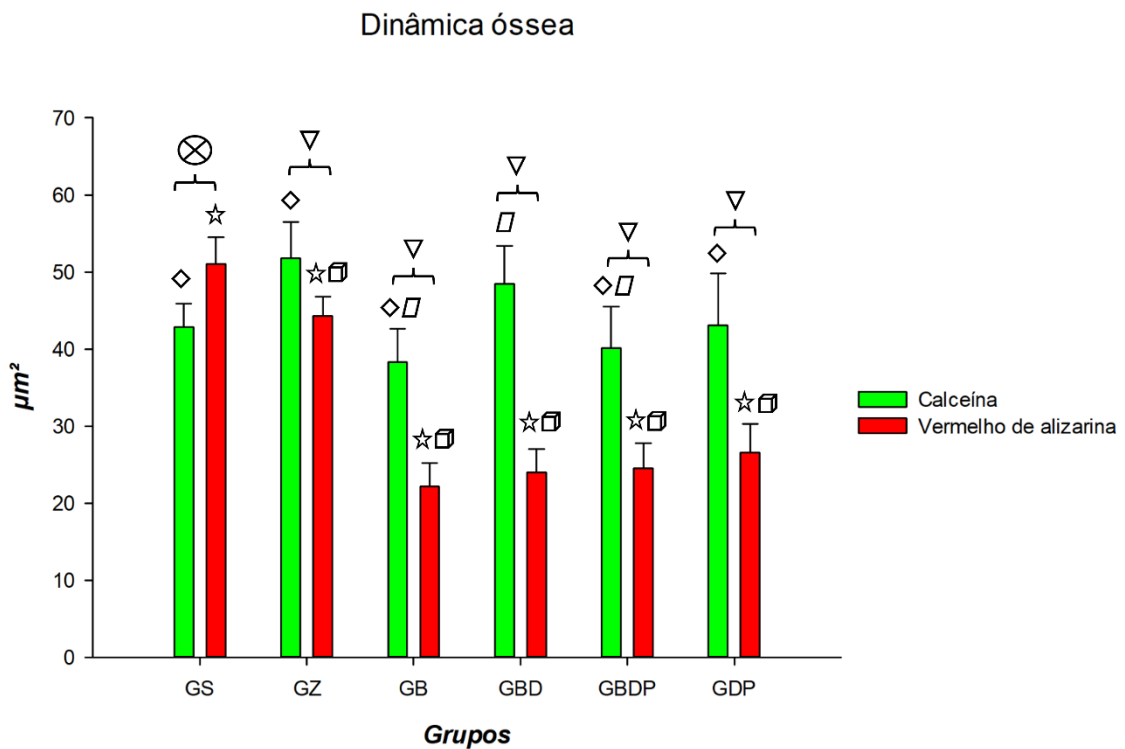


FIGURA 24 Gráfico representativo dos dados histométricos medidos na interface osso e implante dos fluorocromos calceína e vermelho de alizarina nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por ☆, quando comparado com GS e ◻, quando comparado com GZ em relação ao fluorocromo vermelho de alizarina; ◊, quando comparado com GZ e ◻, quando comparado com GBD em relação ao fluorocromo calceína; ▽, quando comparado a precipitação do fluorocromo calceína em relação ao vermelho de alizarina dentro do mesmo grupo e ⊗, quando

comparado a precipitação do fluorocromo vermelho de alizarina em relação a calceína dentro do mesmo grupo).

- **Taxa de aposição mineral (MAR):** O grupo GS (18.484 ± 0.426) apresentou valor significativamente maior de MAR diária quando comparado com os grupos GZ (8.005 ± 0.831 ; $P < 0.001$), GB (9.527 ± 0.686 ; $P < 0.001$), GBD (8.588 ± 0.686 ; $P < 0.001$), GBDP (10.705 ± 0.592 ; $P < 0.001$) e GDP (11.769 ± 0.581 ; $P < 0.001$) (Figura 25). E apesar do grupo GDP não ter apresentado dinâmica óssea favorável, foi possível observar que houve uma maior MAR diária, com diferença estatística quando comparado com GZ ($P < 0.001$), GB ($P < 0.001$), GBD ($P < 0.001$), GBDP ($P = 0.023$) (Figura 25). Além disso, GBDP foi significativamente maior a GZ ($P < 0.001$), GB ($P = 0.009$) e GBD ($P < 0.001$) (Figura 25). E GB demonstrou MAR superior ao GZ ($P < 0.001$) (Figura 25). A representação do turnover ósseo peri-implantar pode ser observada na Figura 26.

Taxa de aposição mineral

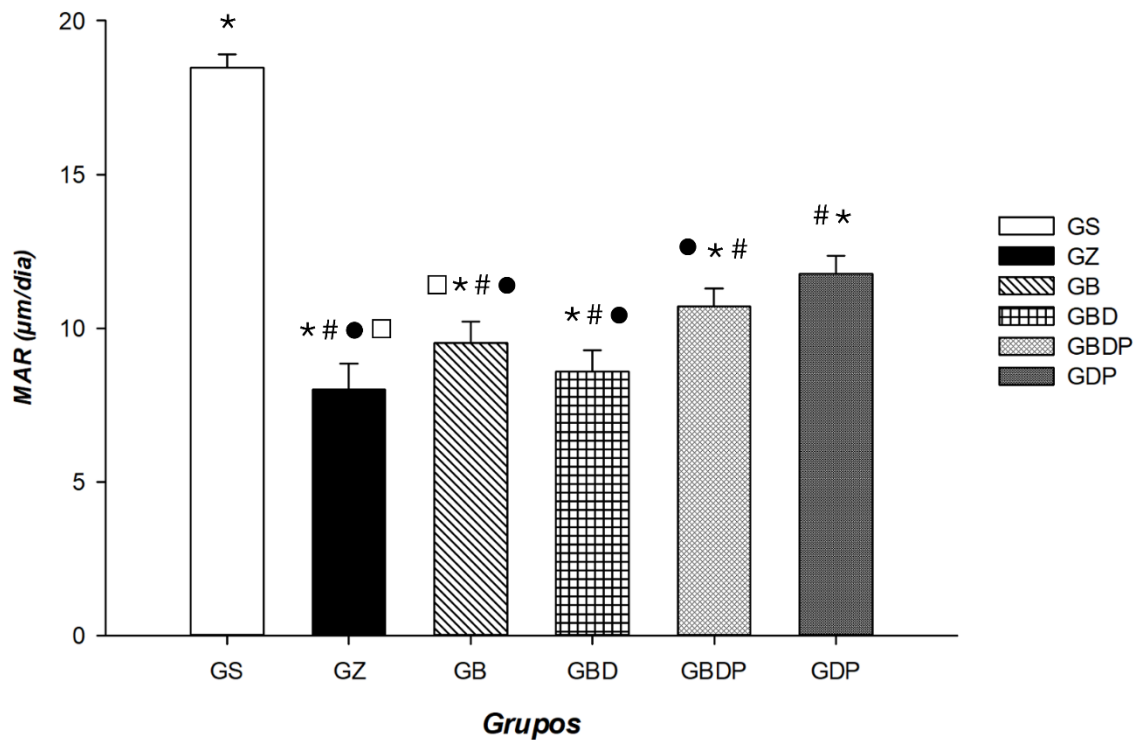


FIGURA 25 Gráfico representativo da taxa de aposição mineral ($\mu\text{m}/\text{dia}$) calculada através das imagens de fluorocromos (calceína e vermelho de alizarina) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; #, quando comparado com GDP; □, quando comparado com GB e •, quando comparado com GBDP).

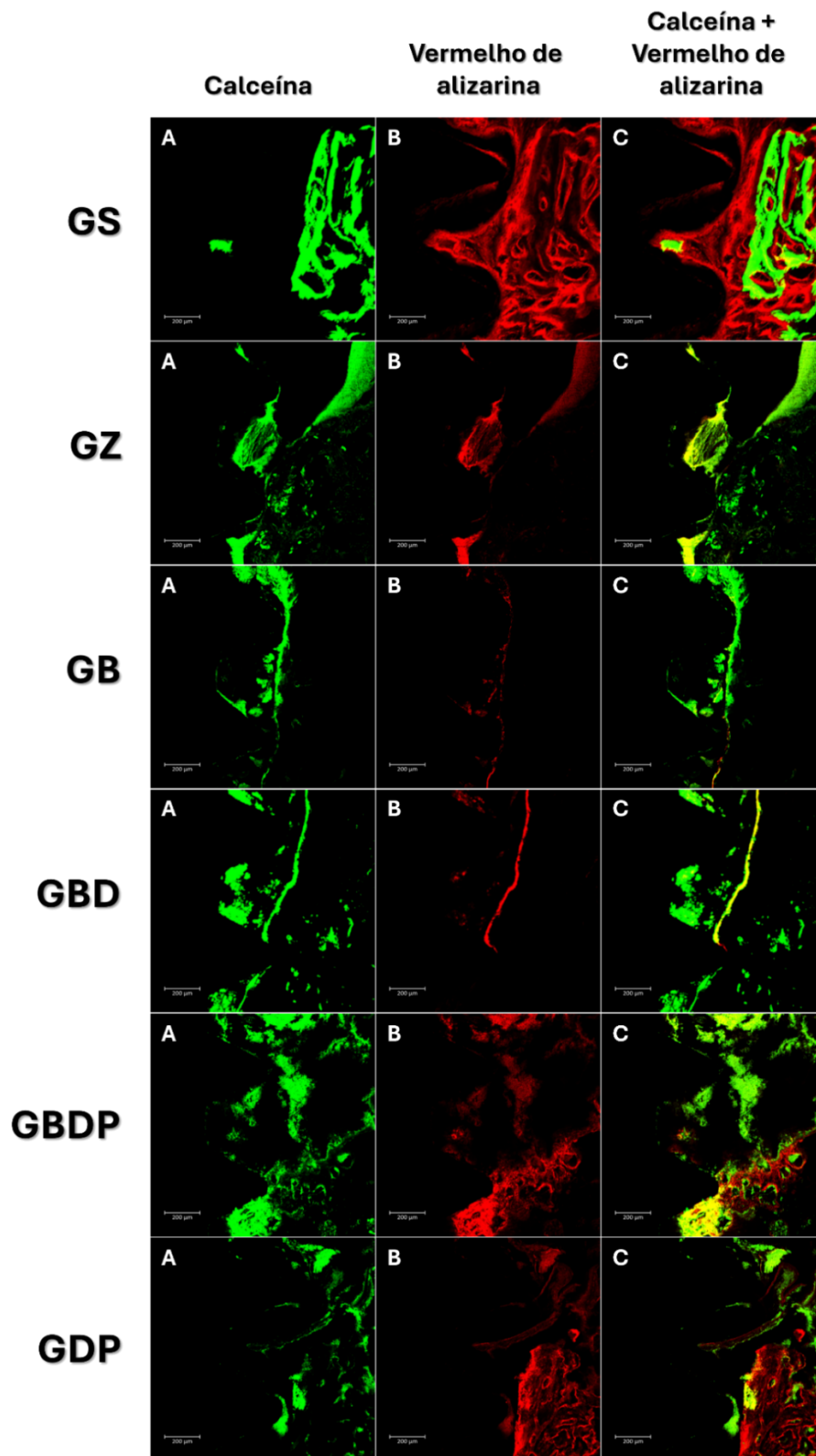


FIGURA 26 Imagem representativa do turnover ósseo peri-implantar calculada através das imagens de fluorocromos nos diferentes grupos experimentais (A) Calceína; (B) Vermelho de alizarina; (C) Sobreposição dos fluorocromos (*Aumento de 10x com barra de escala: 200 μm*).

4.2.3 Análise histométrica

- **Extensão linear de contato osso e implante (ELCOI):** O grupo GS (50.864 ± 5.079) apresentou valor significativamente maior de porcentagem de ELCOI quando comparado com GZ (15.566 ± 3.050 ; $P < 0.001$), GB (17.977 ± 2.917 ; $P < 0.001$), GBD (20.010 ± 3.892 ; $P < 0.001$), GBDP (18.150 ± 1.345 ; $P < 0.001$) e GDP (28.719 ± 3.260 ; $P < 0.001$). E entre as terapias alveolares de animais tratados com ZA, o grupo GDP, demonstrou porcentagem de ELCOI superior aos grupos GZ ($P < 0.001$), GB ($P < 0.001$), GBD ($P < 0.001$) e GBDP ($P < 0.001$) (Figuras 27 e 29).

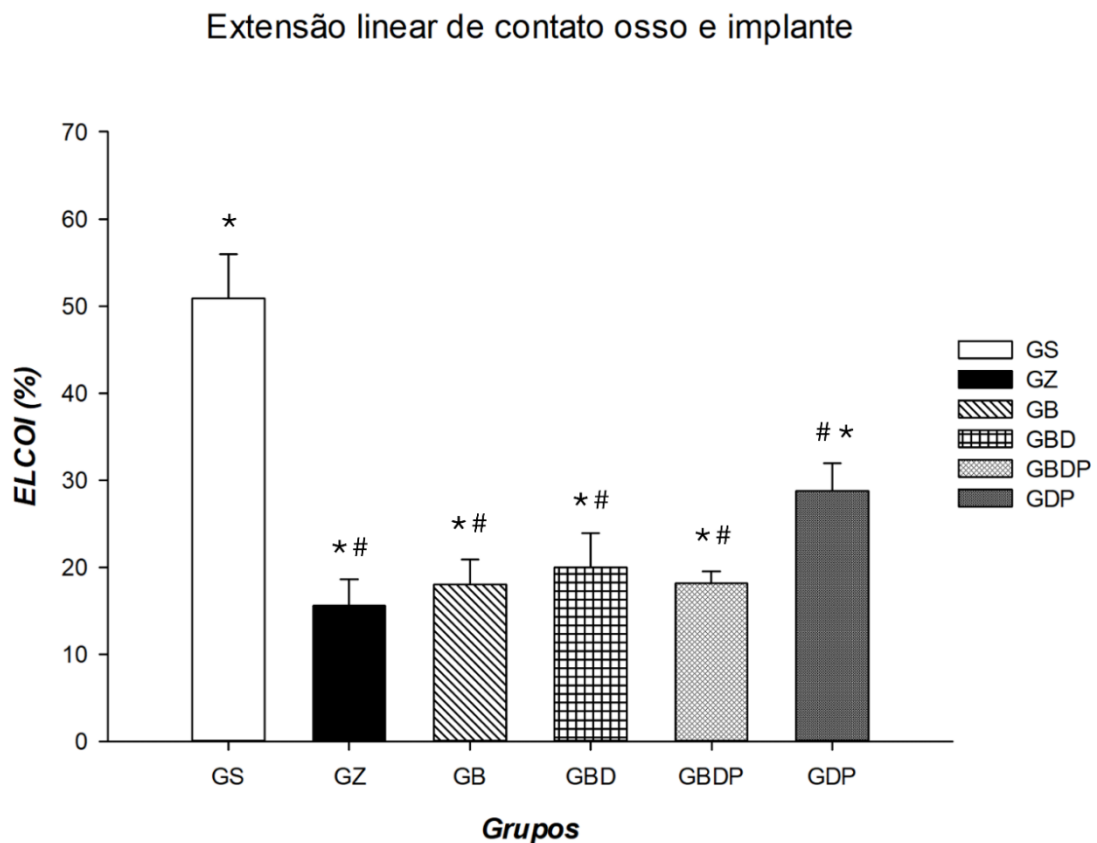


FIGURA 27 Gráfico representativo da extensão linear de contato osso e implante (%) nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS e #, quando comparado com GDP).

- **Área óssea (AO):** O grupo GZ (51.336 ± 4.713) apresentou maior porcentagem de AO, seguido do grupo GS (51.037 ± 3.401). Ambos os grupos

demonstraram valores superiores de AO% quando comparado com GB (22.228 ± 2.053 ; $P < 0.001$); GBD (21.240 ± 1.169 ; $P < 0.001$) e GBDP (19.640 ± 1.830 ; $P < 0.001$), porém sem diferenças estatísticas para GDP (26.834 ± 0.993 ; $P > 0.05$) (Figuras 28 e 29).

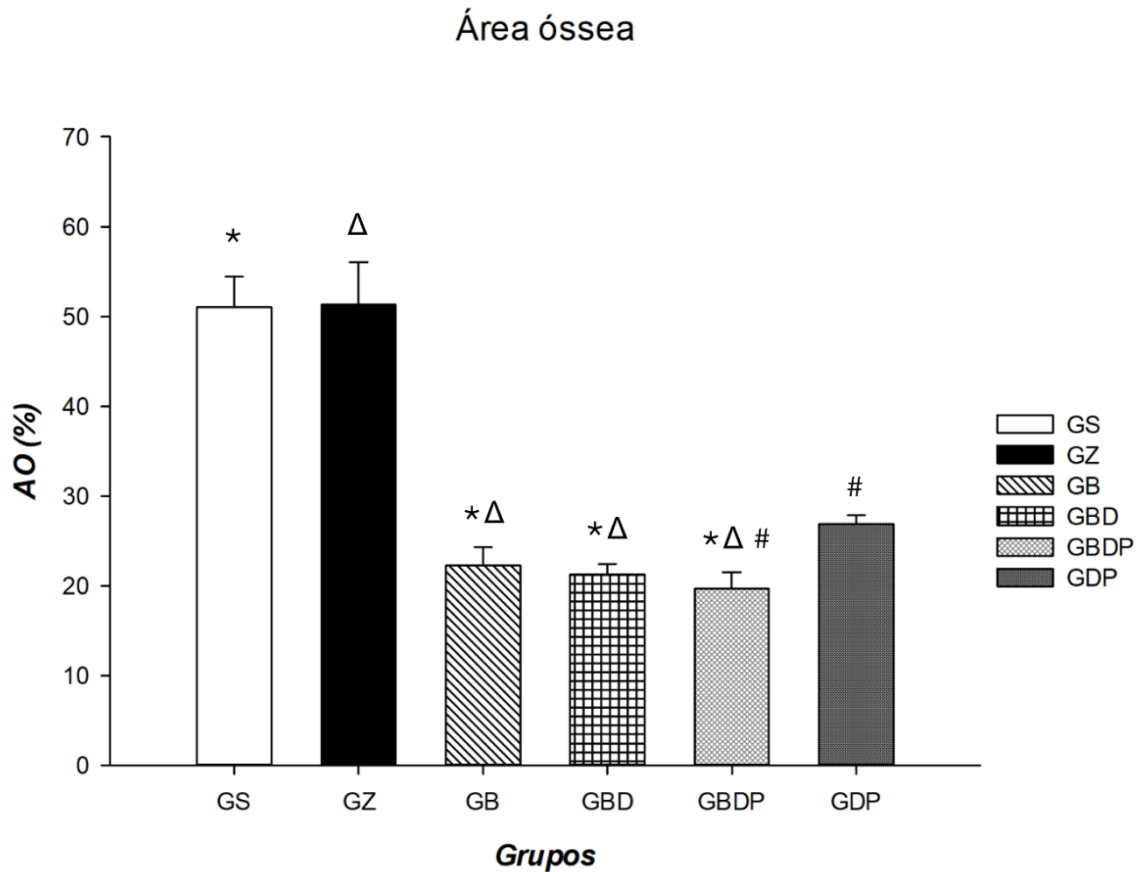


FIGURA 28 Gráfico representativo da área óssea (%) presente na região peri-implantar nos diferentes grupos experimentais ($P < 0.05$, representado por *, quando comparado com GS; Δ, quando comparado com GZ e #, quando comparado com GDP).

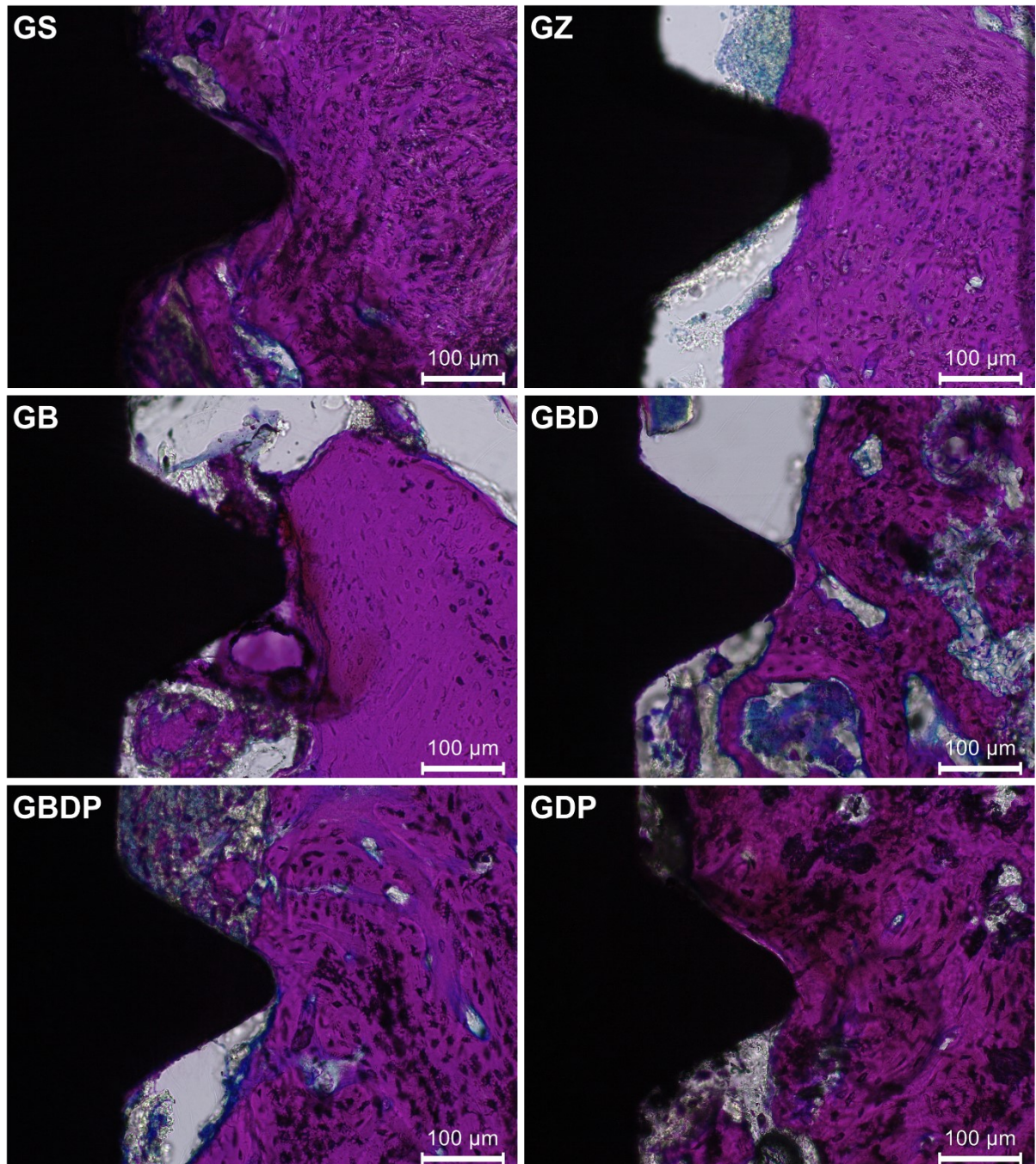


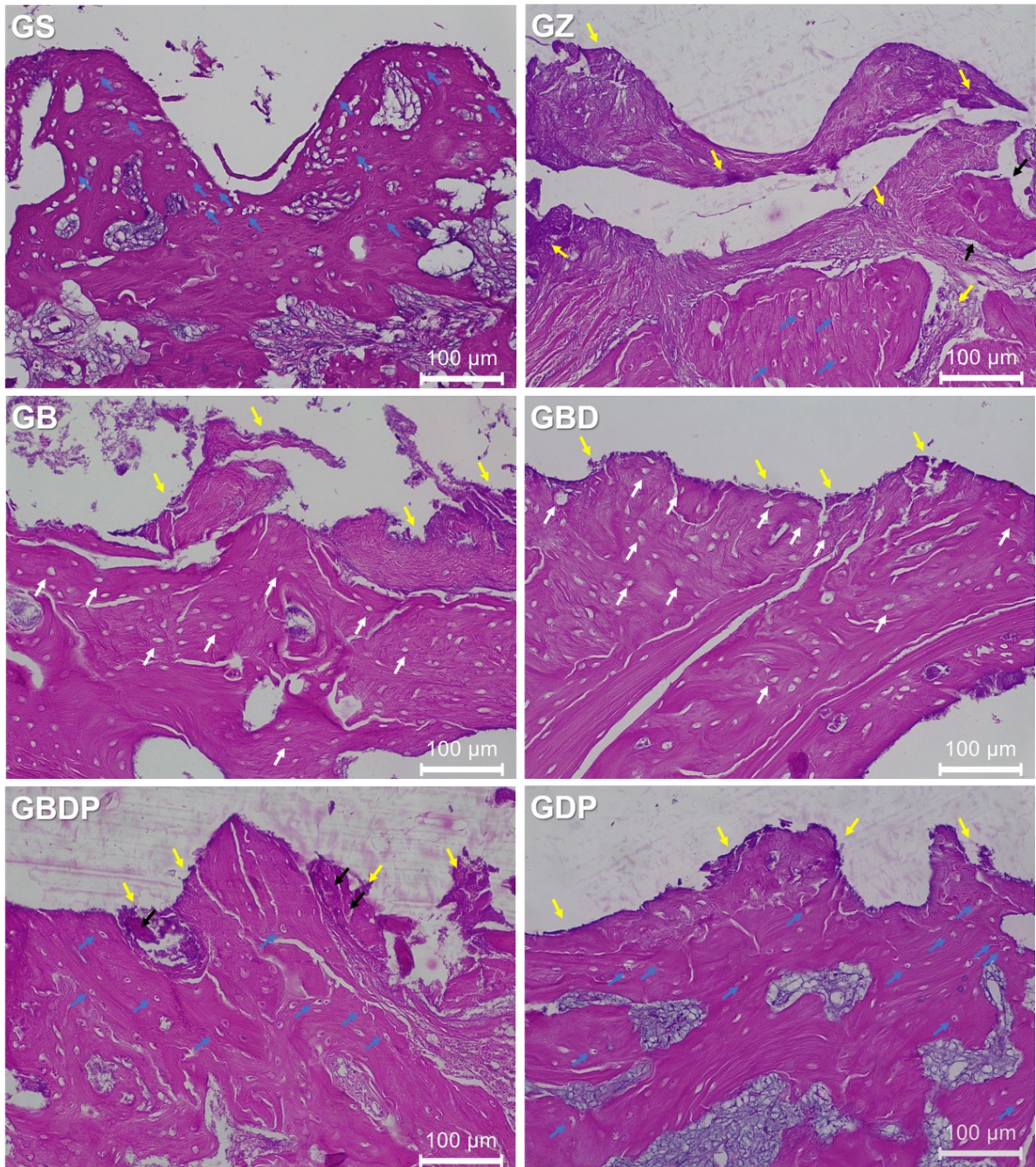
FIGURA 29 Imagens representativas dos cortes mineralizados corados com azul de Stevenel e fucsina ácida nos diferentes grupos experimentais (*Aumento de 20x com barra de escala: 100 µm*).

4.3 Cortes Desmineralizados

4.3.1 Análise histológica qualitativa

Após coloração com H&E, o grupo controle negativo GS demonstrou manutenção dos aspectos histológicos do tecido ósseo peri-implantar com preservação celular e das estruturas das espiras do implante (Figura 30A), bem como a presença de tecido ósseo vital (Figura 30B). Enquanto o grupo controle positivo GZ exibiu áreas com infiltrado inflamatório (Figura 30A) e osteonecrose com formação de sequestro ósseo próximo a região da interface osso e implante (Figura 30B). E nas regiões adjacentes, foi possível encontrar lacunas preenchidas por osteócitos, representando áreas com tecido osso vital (Figuras 30A e 30B).

Os grupos GB e GBD apresentaram grandes áreas com lacunas vazias, caracterizando um tecido ósseo necrótico com perda de osteócitos nas regiões peri-implantar e adjacente (Figuras 30A e 30B). E apesar da presença de tecido ósseo vital nos grupos GBDP e GDP (Figura 30B), os osteócitos apresentaram alterações morfológicas e essa vitalidade óssea demonstrou-se comprometida na interface osso e implante. Além disso, GBDP apresentou osteonecrose com formação de sequestro ósseo cercado por infiltrado inflamatório (Figura 30B). Enquanto, GDP demonstrou apenas a presença de infiltrado inflamatório (Figura 30B), sendo a terapia com melhores achados histológicos peri-implantares dos grupos tratados com ZA.

A

B

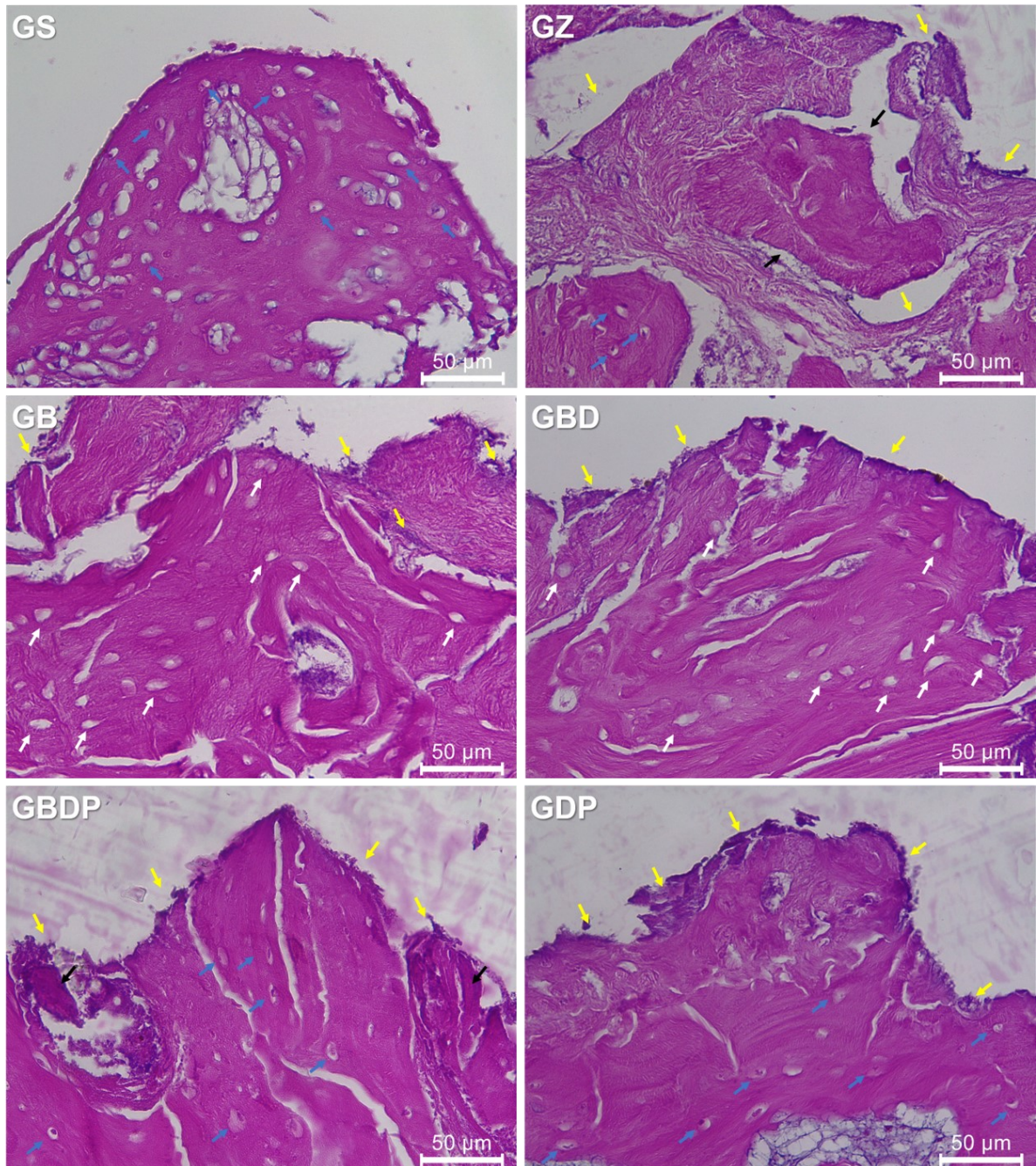


FIGURA 30 Imagens representativas dos aspectos histológicos peri-implantares coradas com H&E nos diferentes grupos experimentais (A) Aumento de 20x (barra de escala: 100 µm) e (B) aumento de 40x (barra de escala: 50 µm) (*Representadas por setas azuis, osteócitos; setas brancas, lacunas vazias; setas pretas, osteonecrose com formação de sequestro ósseo e setas amarelas, infiltrado inflamatório*).

4.3.2 Análise imunoistoquímica

- **Osteocalcina (OCN):** marcação bastante discreta (escores 0-1) para GS e discreta a moderada (escores 1-2) para GBD e GDP. Enquanto os grupos GZ, GB e GBDP apresentaram marcações moderadas (escore 2) (Tabela 1 e Figura 31).

- **Osteopontina (OPN):** marcação bastante discreta (escores 0-1) para os grupos GS e GB, imunomarcação discreta (escore 1) para GZ e GDP. E os grupos GBD e GBDP apresentaram marcações discretas a moderadas (escores 1-2) (Tabela 1 e Figura 31).

- **Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa (RANKL):** apresentou marcação bastante discreta para GB e GBDP (escores 0-1), marcação discreta para GS, GBD e GDP (escore 1). Enquanto o grupo GZ foi discreta a moderada (escores 1-2) (Tabela 1 e Figura 31).

- **Fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP):** marcação moderada (escore 2) no grupo GBDP e imunomarcação ausente (escore 0) para GS, GZ, GB, GBD e GDP (Tabela 1 e Figura 31).

TABELA 1 Escores representativos das imunomarcações para as proteínas OCN, OPN, RANKL e TRAP nos diferentes grupos experimentais (*Marcação ausente, escore “0”; discreta, escore “1”; moderada escore “2”; intensa escore “3”*).

	OCN	OPN	RANKL	TRAP
GS	0 – 1	0 – 1	1	0
GZ	2	1	1 – 2	0
GB	2	0 – 1	0 – 1	0
GBD	1 – 2	1 – 2	1	0
GBDP	2	1 – 2	0 – 1	2
GDP	1 – 2	1	1	0

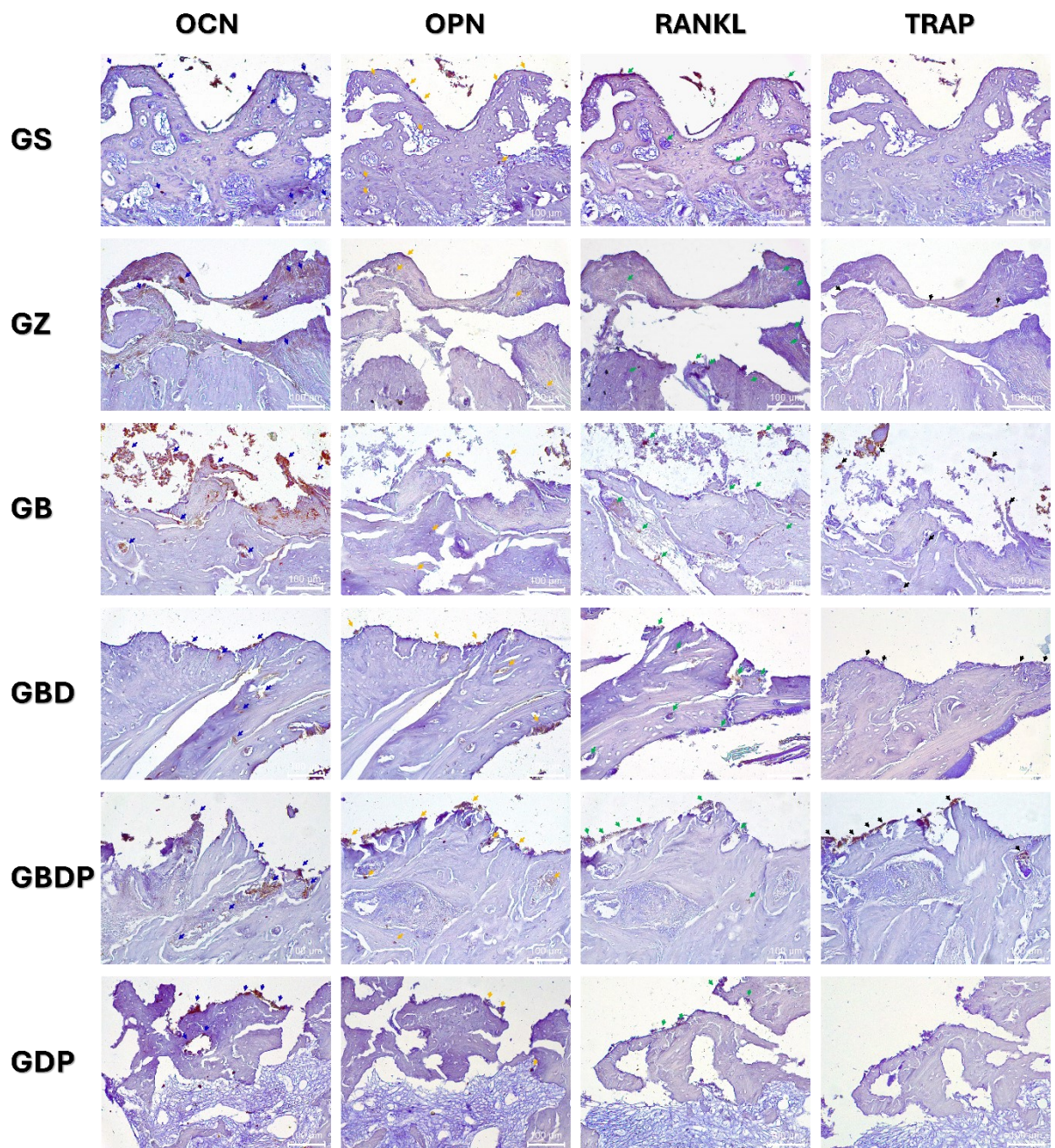


FIGURA 31 Imagens representativas das imunomarcações para OCN, OPN, RANKL e TRAP nos diferentes grupos experimentais em aumento de 20x (*Representadas por setas azuis, OCN; setas amarelas, OPN; setas verdes, RANKL e setas pretas, TRAP. Barra de escala: 100 μ m*).

5 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que ZA induziu o desenvolvimento da MRONJ (Figura 10) e MRONJ peri-implantar (Figura 12). De forma geral, as terapias prévias com biomaterial, isolada ou associadas, não favoreceram o reparo ósseo peri-implantar de ratos tratados com ZA (Figuras 30A 30B). No entanto, a associação da doxiciclina com a aPDT apresentou melhor comportamento mecânico e biológico do tecido ósseo peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ZA, referente as análises dos aspectos clínicos peri-implantares (Figuras 12F e 13), biomecânica (Figura 14), MEV-EDS (Figuras 20 e 21), micro-CT (Figuras 22 e 23), MAR (Figuras 25 e 26), ELCOI% (Figuras 27 e 29) e AO% (Figuras 28 e 29), histológica (Figuras 30A e 30B) e imunoistoquímica (Tabela 1 e Figura 31).

O modelo experimental deste estudo foi fundamentado na tentativa de mimetizar as condições e situações clínicas encontradas nas áreas de cirurgia e implantodontia, por estar cada vez mais comum o aparecimento de pacientes idosos que fazem uso contínuo de BP e que necessitam de exodontias e ou de instalações de implantes dentários (Jacobsen, Metzler, Rössle, Obwegeser, Zemann, Grätz, 2013; Kwon, Jo, Kim, Ohe, 2023; Moreno-Rabié, Fontenele, Oliveira-Santos, Nogueira-Reis, Van den Wyngaert, Jacobs, 2024; Pazianas et al., 2007; Saldanha, Shenoy, Eachampati, Uppal, 2012). Outra possibilidade de metodologia seria realizar essa investigação em ratas ovariectomizadas, para possível reprodução de mulheres osteoporóticas (Dikicier, Dikicier, Karacayli, Erguder, 2017; Hao et al., 2015; Türker, Aslan, Çırpar, Kochai, Tulmaç, Balci, 2016), no entanto optou-se por ratos machos, em razão de prosseguir com o modelo experimental do grupo de pesquisa que apresentou bons resultados na prevenção e tratamento da MRONJ (Hadad et al., 2022; Pereira-Silva et al., 2024).

Embora existam diversos trabalhos em modelo animal, nos quais realizam a exodontia, prevenção e ou tratamento da MRONJ (Aguirre, Castillo, Kimmel, 2021; Ervolino et al., 2019; Hadad et al., 2022; Jamalpour et al., 2022; Pereira-Silva et al., 2024; Silva et al., 2022; Toro et al., 2019), poucos estudos são encontrados referentes as exodontias com instalações de implantes, e os que existem são em região de maxila (Davison et al., 2020; Huja et al., 2011; Khojasteh, Dehghan,

Nazeman, 2019; Kim et al., 2013; Kniha et al., 2021; Souza et al., 2024) e nenhum trabalho foi encontrado na região de mandíbula de rato, tornando este modelo experimental de certa forma inédito. Além disso, estudo *in vivo*, são geralmente realizadas em regiões de fêmures ou de tíbias de animais para avaliar os parâmetros de osseointegração (Bondarenko et al., 2021; Du, Chen, Yan, Xiao, 2009; Mulinari-Santos et al., 2023; Pearce, Richards, Schneider, Pearce, 2007; Poli et al., 2022; Queiroz et al., 2013; Souza et al., 2013), mas pelo fato de existir diferenças na origem embriológica e nos processos de ossificação dos ossos longos em comparação com o desenvolvimento craniofacial (Helms & Schneider, 2003; Mackie, Tatarczuch, Mirams, 2011; Olsen, Reginato, Wang, 2000), este estudo priorizou a região mandibular para evitar essas diferenças e principalmente por ser o local de maior incidência da MRONJ (Ruggiero et al., 2009; Ruggiero et al., 2014; Ruggiero et al., 2022).

As doses de ZA administradas neste modelo experimental, consideradas fisiológicas (70 µg/kg/mês) (Hadad, Matheus, Pai, Souza, Guastaldi, 2024), induziram o desenvolvimento da MRONJ, uma vez os aspectos clínicos dos alvéolos reparacionais de ratos tratados com ZA apresentaram tecido ósseo exposto (Figura 10) e os aspectos peri-implantares demonstraram uma piora clínica com presença de inflamação e ou infecção, além da presença de exposições ósseas nos grupos que receberam aplicações contínuas de ZA (Figura 12). De forma geral, o grupo controle positivo GZ mostrou maior número de amostras para grau 4 (Figuras 10B, 11, 12B e 13), fato este encontrado em outros estudos (Davison et al., 2020; Kim, Ki, Lee, Kim, Park, 2013; Kniha et al., 2021). Diferentemente do grupo controle negativo GS que exibiu maior quantidade de amostras para grau 0 e 1 (Figuras 10A, 11, 12A e 13). E quando analisado apenas os grupos tratados com ZA, o grupo GDP apresentou melhores resultados para os aspectos clínicos dos alvéolos reparacionais (Figura 10F e 11) e peri-implantares (Figura 12F e 13).

A análise biomecânica realizada por meio do torque de remoção, teve como objetivo avaliar a osseointegração, mesmo que de forma indireta (Gehrke, Aramburu Jr, Treichel, Dedavid, 2022; Mulinari-Santos et al., 2023; Poli et al., 2022; Queiroz et al., 2013; Souza et al., 2013) dos implantes instalados nos alvéolos reparacionais. O grupo controle negativo GS apresentou valor significativamente maior de torque de remoção quando comparado com GZ ($P < 0.001$), GB ($P < 0.001$), GBD ($P = 0.002$)

e GBDP (P = 0.001), porém sem diferença estatística para GDP (P = 0.091) (Figura 14). E quando comparado os grupos que receberam aplicação de ZA, GDP apresentou valor significativamente maior de torque de remoção em relação a GZ (P = 0.001), porém sem diferenças estatísticas para GB (P = 0,259), GBD (P = 0,673) e GBDP (P = 0,593) (Figura 14), sugerindo ser a terapia alveolar com melhor embriamento mecânico e osseointegração.

A matriz óssea é formada por uma parte orgânica (fibras colágenas, proteoglicanos e glicoproteínas) e outra parte inorgânica que corresponde cerca de 50% do peso da matriz óssea (Boskey & Posner, 1984; Buckwalter & Cooper, 1987; De Baat, Heijboer, De Baat, 2005). Entre os elementos inorgânicos existentes, o fosfato (combinação do P com O) e Ca são os mais abundantes e responsáveis por formam estruturas de hidroxiapatita ao longo das fibras colágenas conferindo resistência e rigidez ao tecido ósseo (Grabowski, 2015; Murshed, 2018; Sarko, 2005). Assim, os valores obtidos na análise biomecânica corroboram com os resultados encontrados na MEV-EDS dos implantes removidos por meio do contra-torque, uma vez que o grupo GDP apresentou características semelhantes ao grupo controle negativo GS na MEV com distribuição mais homogênea de material biológico peri-implantar nas superfícies dos implantes (Figuras 15 e 20) e embora não tenha sido encontrado diferença estatística (P > 0.05) para o EDS em relação aos elementos P (0.688 ± 0.136) e Ca (0.656 ± 0.184), maiores picos foram detectados para GDP quando comparado aos demais grupos tratados com ZA (Figuras 21C e 21E), sugerindo a presença de um material biológico peri-implantar mais mineralizado e conseqüentemente com maior valor biomecânico. Além disso, foram detectados picos de elementos não prejudiciais como C, Ti e O resultantes da composição química do implante e do material biológico peri-implantar (Figuras 21A, 21B e 21F). E foi observado a presença de picos de S em todos os grupos tratados com ZA, principalmente para o grupo GZ (Figuras 21D). Artigos relatam que a detecção de S pode estar relacionada com a presença de bactérias e processos inflamatórios na peri-implantite (Guler et al., 2021; Ha et al., 2023; Sedghizadeh, Kumar, Gorur, Schaudinn, Shuler, Costerton, 2009; Støre & Olsen 2005).

Sabe-se que ZA é um BP que atua na inibição das atividades dos osteoclastos e conseqüentemente afeta a remodelação óssea (Cremers et al., 2019; Guyatt et al., 2002; Rogers, Crockett, Coxon, Mönkkönen, 2011; Ruggiero & Drew,

2007; Sigua-Rodriguez et al., 2014). Além disso, este medicamento apresenta efeito antiangiogênico (Badel, Keros, Krapac, Pavicin, 2010; He, Sun, Liu, Qiu, Niu, 2020; Kuroshima, Al-Omari, Sasaki, Sawase, 2022), causando uma diminuição da vascularização do tecido ósseo e tornando susceptível ao desenvolvimento da MRONJ (Lang et al., 2016; Santini et al., 2003; Soma et al., 2021; Ziebart et al., 2011). Assim, acredita-se que a inibição das atividades dos osteoclastos provocada pelo ZA, tenha proporcionado a formação de um tecido ósseo peri-implantar mais denso com aumento da espessura e diminuição do espaço trabecular. Fato este encontrado na literatura (Kniha et al., 2021) e no presente estudo para os parâmetros microtomográficos peri-implantares, em que o grupo controle positivo GZ (26.469 ± 1.987) apresentou valor significativamente maior de % BV/TV (Figura 22A) e valor significativamente menor de % Po.(tot) (73.531 ± 1.987) (Figura 22E) quando comparados com os demais grupos. E de modo geral, GDP apresentou maiores valores de % BV/TV (17.253 ± 2.24), Tb.N (0.969 ± 0.057) e Tb.Th ($0.171 \pm 0,011$), bem como menores valores para Tb.Sp (1.398 ± 0.032) e % Po.(tot) (82.747 ± 2.247) quando comparado com GB, GBD e GBDP (Figura 22).

Os dados encontrados referente a precipitação de cálcio na matriz óssea orgânica indicada pelos fluorocromos calceína (osso antigo) e vermelho de alizarina (osso novo) (Figura 24) (Faverani et al., 2018; Gomes-Ferreira, de Oliveira, Frigério, de Souza Batista, Grandfield, Okamoto, 2022), sugerem que o ZA prejudicou o processo de formação óssea peri-implantar, visto que todos os grupos tratados com ZA apresentaram valores significativamente maiores de calceína (osso antigo) quando comparado com o vermelho de alizarina (osso novo) (Figuras 24 e 26). Embora os grupos tratados com ZA não tenham apresentado um turnover ósseo peri-implantar favorável, os grupos GB, GBD, GBDP e GDP demonstraram valores significativamente maiores de MAR diária quando comparado com GZ, sendo que o grupo GDP sugeriu ser a terapia com maior valor de MAR diária peri-implantar (Figuras 25 e 26).

Os dados histométricos referente a ELCOI apoiam ainda mais a análise biomecânica, visto que o grupo GDP apresentou valor significativamente maior de ELCOI% (Figuras 27 e 29) e contra-torque (Figura 14) quando comparado com os demais grupos tratados com ZA, demonstrando que a associação da doxíciclina e aPDT apresentou melhor processo de osseointegração (Buser, Schenk,

Steinemann, Fiorellini, Fox, Stich, 1991; Santos et al., 2024). E a mensuração de AO% presente na região peri-implantar mostrou-se semelhante aos resultados obtidos na análise microtomográfica para volume ósseo, com maior presença de tecido ósseo peri-implantar no grupo GZ (Figuras 28 e 29) quando comparado com os demais grupos. Além disso, GDP apresentou maior AO% quando comparado com GB, GBD e GBDP, dados esses encontrados na micro-CT (Figura 22A), reforçando que a inibição das atividades dos osteoclastos provocada pelo ZA (Cremers et al., 2019; Guyatt et al., 2002; Rogers et al., 2011; Ruggiero & Drew, 2007; Sigua-Rodriguez et al., 2014), tenha proporcionado a formação de um tecido ósseo peri-implantar mais denso.

Outro fato que merece atenção é a ação do ZA nos osteoblastos, uma vez que trabalhos *in vitro* demonstraram que o ZA pode apresentar toxicidade na linhagem de células osteoblásticas (Basso, Turrioni, Hebling, Costa, 2013; Hadad, Matheus, Chen, Jounaidi, Souza, Guastaldi, 2023; Patntirapong, Singhatanadgit, Chanruangvanit, Lavanrattanukul, Satravaha, 2012; Pozzi et al., 2009). Assim, considera-se que os efeitos do ZA associados aos procedimentos cirúrgicos invasivos, a intensidade e permanência da inflamação podem causar a morte por apoptose dos osteoblastos e conseqüentemente a necrose do tecido ósseo (Basso et al., 2013; Hadad et al., 2024; Huang et al., 2016; Morita et al., 2017; Soma et al., 2021), características essas encontradas na análise histológica em que os grupos GB e GBD apresentaram grandes áreas de tecido ósseo não vital com a presença de infiltrado inflamatório (Figuras 30A e 30B).

Todos os grupos tratados com ZA exibiram infiltrado inflamatório peri-implantar (Figuras 30A e 30B), reforçando os resultados do EDS para picos de S detectados (Figura 21D), bem como a presença de microfissuras não reparadas no tecido ósseo peri-implantar (Figuras 30A e 30B), achados histológicos que podem estar associados a MRONJ (Hoefert, Schmitz, Tannapfel, Eufinger, 2010; Kim et al., 2016). Embora os grupos GBDP e GDP tenham apresentado tecido ósseo vital, os osteócitos apresentaram alterações morfológicas, e ainda o grupo GBDP apresentou osteonecrose com formação de sequestro ósseo cercado por infiltrado inflamatório (Figuras 30A e 30B), enquanto GDP apresentou apenas infiltrado inflamatório (Figuras 30A e 30B).

Considerando o processo de maturação do tecido ósseo com os resultados obtidos na imunistoquímica, a osteocalcina é considerada uma proteína marcadora de mineralização óssea, representando o último estágio de maturação dos osteoblastos e osteopontina é responsável por marcar osteoblastos maduros no início da atividade de mineralização (Oliveira et al., 2017). De forma geral, os grupos tratados com ZA apresentaram escores de discreto a moderado para osteocalcina e osteopontina, com exceção do grupo GB que demonstrou marcação para osteopontina ausente a discreto (Tabela 1 e Figura 31). É importante ressaltar que apesar do grupo GZ ter apresentado escore moderado para OCN, notou-se um tecido ósseo peri-implantar morfologicamente alterado e desorganizado (Tabela 1 e Figura 31). Além disso, apresentou maior escore de marcação para RANKL (Tabela 1 e Figura 31), demonstrando uma maior ativação de células osteoclásticas responsáveis pelo processo de reabsorção óssea. O grupo GBDP, foi o único grupo que apresentou atividades osteoclásticas com imunomarcação discreta a moderada para TRAP (Hassumi et al., 2018), enquanto os demais grupos apresentaram ausência de marcação para TRAP (Tabela 1 e Figura 31). De certa forma os grupos GS e GDP apresentaram marcações semelhantes para as OCN, OPN, RANKL e TRAP, sugerindo que a associação da doxiciclina com a aPDT regularam as expressões destas proteínas no tecido ósseo peri-implantar (Tabela 1).

Embora os biomateriais cerâmicos à base de β -fosfato tricálcio (β -TCP) sejam biocompatíveis, bioativos e osteocondutores (Bodde, Wolke, Kowalski, Jansen, 2007; Puttini et al., 2019; Schmidt et al., 2019; Su et al., 2020; Yuan et al., 2010), além de apresentarem bons resultados na prevenção da MRONJ (Funayama et al., 2023; Hadad et al., 2022; Paulo et al., 2019). Entende-se que para este modelo experimental o uso do biomaterial β -TCP isolado ou associado nos alvéolos reparacionais de ratos tratados com ZA não apresentaram resultados favoráveis para o reparo ósseo peri-implantar, visto que na análise histológica qualitativa os grupos GB e GBD demonstraram grandes áreas com ausência de vitalidade óssea peri-implantar e grupo GBDP apresentou osteócitos alterações morfológicas e formação de sequestro ósseo cercado por infiltrado inflamatório. Acredita-se que esses resultados possam estar atrelados os traumas decorrentes das exodontias e da instalação do implante com o atraso do reparo ósseo alveolar, causado pelo biomaterial (Araújo, Linder, Wennström, Lindhe, 2008; Calixto, Teófilo, Brentegani,

Lamano-Carvalho, 2007; Carmagnola, Adriaens, Berglundh, 2003; Hong, Lee, Pang, Jung, Choi, Kim, 2014; Stavropoulos, Kostopoulos, Nyengaard, Karring, 2003), prejudicando o reparo ósseo e promovendo o desenvolvimento da MRONJ peri-implantar de ratos tratados com ZA.

Portanto, os resultados do presente estudo apoiam que a ação antimicrobiana da aPDT pareceu reduzir cargas bacterianas patogênicas e promoveu um melhor reparo do tecido ósseo peri-implantar (Abduljabbar, 2017; Rastelli, 2021; Ervolino et al., 2019; Gholami, Shahabi, Jazaeri, Hadilou, Fekrazad, 2023; Rahman, Acharya, Siddiqui, Verron, Badran, 2022; Silva et al., 2022; Zhao, Song, Ping, Li, 2022), e quando associada a antibioticoterapia com doxiciclina, antibiótico pertencente à família das tetraciclinas de segunda geração, proporcionou uma maior ação antimicrobiana local e anti-inflamatória (Büchter, Meyer, Kruse-Lösler, Joos, Kleinheinz, 2004; Madi, Pavlic, Samy, Alagl, 2018; Nastri, Rosa, Gregorio, Grassia, Donnarumma, 2019; Passarelli et al., 2021; Tan, Safii, Razali, 2019) favorecendo um melhor reparo ósseo peri-implantar. Assim, a associação de ambos os tratamentos alveolares locais demonstrou resultados promissores e sugere ser uma boa opção de terapia coadjuvante na prevenção de MRONJ peri-implantar em alvéolo reparacional de ratos tratados com ZA.

No entanto, foi observado a presença de tecido ósseo com microfissuras e infiltrado inflamatório peri-implantar no grupo GDP (Figuras 30A e 30B). Quando buscamos a literatura, encontramos a suposta correlação do desenvolvimento da MRONJ peri-implantar com a peri-implantite (Kwon et al., 2014; Pichardo et al., 2020; Seki et al., 2021; Tempesta et al., 2022; Troeltzsch et al., 2016), causada principalmente por bactérias e influenciada por fatores locais e sistêmicos que afetam os tecidos peri-implantares, com inflamação local e perda óssea podendo levar à perda do implante (Lang, Salvi, Sculean, 2019; Romandini, Lima, Pedrinaci, Araoz, Soldini, Sanz, 2021; Schwarz, Derks, Monje, Wang, 2018; Sgolastra, Petrucci, Severino, Gatto, Monaco, 2015), resultados esses encontrados no presente estudo, sugerindo que a inflamação peri-implantar presente no grupo GDP pode levar o desenvolvimento da MRONJ peri-implantar e conseqüentemente a perda do implante. Assim, estudos futuros são necessários para determinar o intervalo ideal de aplicações de aPDT e doxiciclina, a fim de definir protocolos mais refinados em termos de dose, padrão e frequência de aplicações das terapias e assim extrapolar

para as situações clínicas de pacientes com histórico de uso contínuo de BP e que necessitam da instalação de implante dentário.

Além disso, durante a execução deste estudo foram encontrados alguns desafios referentes a limitação do campo operatório, a macrogeometria referente ao tamanho e formato do corpo do implante, reabsorções alveolares pós-exodônticas, a não realização de contínuas aplicações de aPDT, a não higienização bucal dos animais, ausência de cargas mastigatórias e a realização de duas etapas cirúrgicas aumentando as chances do desenvolvimento da MRONJ e reabsorções ósseas peri-implantares. Portanto, dentro das limitações e dificuldades encontradas neste modelo experimental, novas adaptações metodológicas devem ser realizadas para ratificar e elucidar melhor os mecanismos fisiopatológicos envolvidos no MRONJ e implantes dentários de ratos tratados com ZA, possibilitando a melhor compreensão das alterações em níveis celulares e teciduais peri-implantares.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que o ZA induziu a MRONJ e a instalação do implante prejudicou o reparo ósseo peri-implantar, aumentando o processo inflamatório e a presença de tecido ósseo não vital, tornando essa condição um fator de risco para o desenvolvimento da MRONJ peri-implantar.

Entre as terapias alveolares, a associação da doxiciclina com aPDT proporcionou melhor comportamento mecânico e biológico do tecido ósseo peri-implantar de implantes instalados em alvéolo reparacional de ratos tratados com ZA, sugerindo ser uma terapia coadjuvante com resultados promissores para o não desenvolvimento da MRONJ peri-implantar.

REFERÊNCIAS

- Abduljabbar, T. (2017). Effect of mechanical debridement with and without adjunct antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of peri-implant diseases in prediabetic patients. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 17, 9-12. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2016.10.011>
- Abel Mahedi Mohamed, H., Nielsen, C. E. N., & Schiodt, M. (2018). Medication related osteonecrosis of the jaws associated with targeted therapy as monotherapy and in combination with antiresorptives. A report of 7 cases from the Copenhagen Cohort. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 125(2), 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.10.010>
- Adler, R. A., El-Hajj Fuleihan, G., Bauer, D. C., Camacho, P. M., Clarke, B. L., Clines, G. A., Compston, J. E., Drake, M. T., Edwards, B. J., Favus, M. J., Greenspan, S. L., McKinney Jr, R., Pignolo, R. J., & Sellmeyer, D. E. (2016). Managing osteoporosis in patients on long-term bisphosphonate treatment: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31(1), 16-35. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2708>
- Aguirre, J. I., Castillo, E. J., & Kimmel, D. B. (2021). Preclinical models of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *Bone*, 153, 116184. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116184>
- Albandar, J. M. (2008). Oral bisphosphonate therapy may not significantly compromise dental implants success. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 8(4), 229-231. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2008.09.007>
- Altalhi, A. M., Alsubaihi, A. A., Aldosary, M. M., Alotaibi, L. F., Aldosariy, N. M., Alwegaisi, A. K., Alghadeer, J. Y., & Aljowayed, A. H. (2023). Enhancing the oral rehabilitation and quality of life of bisphosphonate-treated patients: the role of dental implants. *Cureus*, 15(10), e46654. <https://doi.org/10.7759/cureus.46654>
- Amin, U., McPartland, A., O'Sullivan, M., & Silke, C. (2023). An overview of the management of osteoporosis in the aging female population. *Women's Health*, 19, 17455057231176655. <https://doi.org/10.1177/17455057231176655>

Araújo, M., Linder, E., Wennström, J., & Lindhe, J. (2008). The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, *28*(2), 123-135.

Ata-Ali, J., Ata-Ali, F., Peñarrocha-Oltra, D., & Galindo-Moreno, P. (2016). What is the impact of bisphosphonate therapy upon dental implant survival? A systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Implants Research*, *27*(2), e38-e46. <https://doi.org/10.1111/clr.12526>

Bacci, C., Cerrato, A., Bardhi, E., Frigo, A. C., Djaballah, S. A., & Sivoletta, S. (2022). A retrospective study on the incidence of medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ) associated with different preventive dental care modalities. *Supportive Care in Cancer*, *30*(2), 1723-1729. <https://doi.org/10.1007/s00520-021-06587-x>

Badel, T., Keros, J., Krapac, L., & Pavicin, I. S. (2010). Relationship between osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, *61*(3), 371-380. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-61-2010-2032>

Basso, F. G., Turrioni, A. P. S., Hebling, J., & Costa, C. A. S. (2013). Zoledronic acid inhibits human osteoblast activities. *Gerontology*, *59*(6), 534-541. <https://doi.org/10.1159/000351194>

Bell, B. M., & Bell, R. E. (2008). Oral bisphosphonates and dental implants: a retrospective study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *66*(5), 1022-1024. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2007.12.040>

Beth-Tasdogan, N. H., Mayer, B., Hussein, H., & Zolk, O. (2017). Interventions for managing medication-related osteonecrosis of the jaw. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *10*(10), CD012432. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012432.pub2>

Bodde, E. W., Wolke, J. G., Kowalski, R. S., & Jansen, J. A. (2007). Bone regeneration of porous beta-tricalcium phosphate (Conduit TCP) and of biphasic calcium phosphate ceramic (Biosel) in trabecular defects in sheep. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*, *82*(3), 711-722. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30990>

- Bondarenko, S., Filipenko, V., Karpinsky, M., Karpinska, O., Ivanov, G., Maltseva, V., Badnaoui, A. A., & Schwarzkopf, R. (2021). Osseointegration of porous titanium and tantalum implants in ovariectomized rabbits: a biomechanical study. *World Journal of orthopedics*, *12*(4), 214-222. <https://doi.org/10.5312/wjo.v12.i4.214>
- Boskey, A. L., & Posner, A. S. (1984). Bone structure, composition, and mineralization. *The Orthopedic Clinics of North America*, *15*(4), 597-612.
- 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. *Journal of Bone and Mineral Research*, *25*(7), 1468-1486. <https://doi.org/10.1002/jbmr.141>
- Büchter, A., Meyer, U., Kruse-Lösler, B., Joos, U., & Kleinheinz, J. (2004). Sustained release of doxycycline for the treatment of peri-implantitis: randomised controlled trial. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, *42*(5), 439-444. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2004.06.005>
- Buckwalter, J. A., & Cooper, R. R. (1987). Bone structure and function. *Instructional Course Lectures*, *36*, 27-48.
- Buser, D., Schenk, R. K., Steinemann, S., Fiorellini, J. P., Fox, C. H., & Stich, H. (1991). Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of biomedical materials research*, *25*(7), 889–902. <https://doi.org/10.1002/jbm.820250708>
- Calixto, R. F., Teófilo, J. M., Brentegani, L. G., & Lamano-Carvalho, T. L. (2007). Grafting of tooth extraction socket with inorganic bovine bone or bioactive glass particles: comparative histometric study in rats. *Implant Dentistry*, *16*(3), 260-269. <https://doi.org/10.1097/ID.0b013e3180500b95>
- 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>

Carmagnola, D., Adriaens, P., & Berglundh, T. (2003). Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. *Clinical Oral Implants Research*, *14*(2), 137-143. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0501.2003.140201.x>

Carrera, E. T., Dias, H. B., Corbi, S. C. T., Marcantonio, R. A. C., Bernardi, A. C. A., Bagnato, V. S., Hamblin, M. R., & Rastelli, A. N. S. (2016). The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Physics*, *26*(12), 123001. <https://doi.org/10.1088/1054-660X/26/12/123001>

Castro, M. S., Ribeiro Jr, N. V., Carli, M. L., Pereira, A. A., Sperandio, F. F., & Hanemann, J. A. (2016). Photodynamically dealing with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: successful case reports. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, *16*, 72-75. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2016.08.007>

Chadha, G. K., Ahmadieh, A., Kumar, S., & Sedghizadeh, P. P. (2013). Osseointegration of dental implants and osteonecrosis of the jaw in patients treated with bisphosphonate therapy: a systematic review. *The Journal of Oral Implantology*, *39*(4), 510-520. <https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-11-00234>

Cremers, S., Drake, M. T., Ebetino, F. H., Bilezikian, J. P., & Russell, R. G. G. (2019). Pharmacology of bisphosphonates. *British Journal of Clinical Pharmacology*, *85*(6), 1052-1062. <https://doi.org/10.1111/bcp.13867>

Curra, C., Cardoso, C. L., Ferreira, O., Curi Jr, M. M., Matsumoto, M. A., Cavenago, B. C., Santos, P. L., & Santiago Jr, J. F. (2016). Medication-related osteonecrosis of the jaw. Introduction of a new modified experimental model. *Acta Cirurgica Brasileira*, *31*(5), 308-313. <https://doi.org/10.1590/S0102-865020160050000003>

Davison, M. R., Lyardet, L., Preliasco, M., Yaful, G., Torres, P., Bonanno, M. S., Pellegrini, G. G., & Zeni, S. N. (2020). Aminobisphosphonate-treated ewes as a model of osteonecrosis of the jaw and of dental implant failure. *Journal of Periodontology*, *91*(5), 628-637. <https://doi.org/10.1002/JPER.19-0213>

De Baat, P., Heijboer, M. P., & De Baat, C. (2005). Ontwikkeling, fysiologie en celactiviteit van bot. *Nederlands Tijdschrift Voor Tandheelkunde*, *112*(7), 258-263.

Dempster, D. W., Compston, J. E., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M., Recker, R. R., & Parfitt, A. M. (2013). Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012

update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 28(1), 2–17. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1805>

Dennison, E., Mohamed, M. A., & Cooper, C. (2006). Epidemiology of osteoporosis. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 32(4), 617-629. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2006.08.003>

Dikicier, S., Dikicier, E., Karacayli, U., & Erguder, B. (2017). Radiodensitometric study for evaluation of bone mineral density around dental implants after zoledronic acid treatment in ovariectomized rats. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 22(3), e377-e382. <https://doi.org/10.4317/medoral.21706>

Dimopoulos, M. A., Kastiritis, E., Anagnostopoulos, A., Melakopoulos, I., Gika, D., Mouloupoulos, L. A., Bamia, C., Terpos, E., Tsionos, K., & Bamias, A. (2006). Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. *Haematologica*, 91(7), 968-971.

Dodson, T. B. (2015). The frequency of medication-related osteonecrosis of the jaw and its associated risk factors. *Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America*, 27(4), 509-516. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2015.06.003>

Du, Z., Chen, J., Yan, F., & Xiao, Y. (2009). Effects of Simvastatin on bone healing around titanium implants in osteoporotic rats. *Clinical Oral Implants Research*, 20(2), 145-150. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2008.01630.x>

Du, Z., Lee, R. S., Hamlet, S., Doan, N., Ivanovski, S., & Xiao, Y. (2016). Evaluation of the first maxillary molar post-extraction socket as a model for dental implant osseointegration research. *Clinical Oral Implants Research*, 27(12), 1469-1478. <https://doi.org/10.1111/clr.12571>

Ervolino, E., Statkiewicz, C., Toro, L. F., Mello-Neto, J. M., Cavazana, T. P., Issa, J. P. M., Dornelles, R. C. M., Almeida, J. M., Nagata, M. J. H., Okamoto, R., Casatti, C. A., Garcia, V. G., & Theodoro, L. H. (2019). 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*, 120, 101-113. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2018.10.014>

Famili, P., Quigley, S., & Mosher, T. (2011). Survival of dental implants among postmenopausal female dental school patients taking oral bisphosphonates: a retrospective study. *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, 32(6), E106-E109.

Faverani, L. P., Polo, T. O. B., Ramalho-Ferreira, G., Momesso, G. A. C., Hassumi, J. S., Rossi, A. C., Freire, A. R., Prado, F. B., Luvizuto, E. R., Gruber, R., & Okamoto, R. (2018). Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. *Clinical oral investigations*, 22(1), 255–265. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2106-2>

Freiberger, J. J., Padilla-Burgos, R., McGraw, T., Suliman, H. B., Kraft, K. H., Stolp, B. W., Moon, R. E., & Piantadosi, C. A. (2012). What is the role of hyperbaric oxygen in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a randomized controlled trial of hyperbaric oxygen as an adjunct to surgery and antibiotics. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 70(7), 1573-1583. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2012.04.001>

de-Freitas, N. R., Lima, L. B., de-Moura, M. B., Veloso-Guedes, C. C., Simamoto-Júnior, P. C., & de-Magalhães, D. (2016). Bisphosphonate treatment and dental implants: A systematic review. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 21(5), e644–e651. <https://doi.org/10.4317/medoral.20920>

Fugazzotto, P. A., Lightfoot, W. S., Jaffin, R., & Kumar, A. (2007). Implant placement with or without simultaneous tooth extraction in patients taking oral bisphosphonates: postoperative healing, early follow-up, and the incidence of complications in two private practices. *Journal of Periodontology*, 78(9), 1664-1669. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060514>

Funayama, N., Yagyuu, T., Imada, M., Ueyama, Y., Nakagawa, Y., & Kirita, T. (2023). Impact of beta-tricalcium phosphate on preventing tooth extraction-triggered bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. *Scientific Reports*, 13(1), 16032. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-43315-3>

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>

Gehrke, S. A., Aramburu Jr, J., Treichel, T. L. E., & Dedavid, B. A. (2022). Biomechanical and histological evaluation of four different implant macrogeometries in the early osseointegration process: an in vivo animal study. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *125*, 104935. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2021.104935>

Gholami, L., Shahabi, S., Jazaeri, M., Hadilou, M., & Fekrazad, R. (2023). Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 1020995. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1020995>

Giovannacci, I., Meleti, M., Manfredi, M., Mortellaro, C., Greco Lucchina, A., Bonanini, M., & Vescovi, P. (2016). Medication-related osteonecrosis of the jaw around dental implants: implant surgery-triggered or implant presence-triggered osteonecrosis? *The Journal of Craniofacial Surgery*, *27*(3), 697-701. <https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000002564>

Golub, L. M., Evans, R. T., McNamara, T. F., Lee, H. M., & Ramamurthy, N. S. (1994). A non-antimicrobial tetracycline inhibits gingival matrix metalloproteinases and bone loss in *Porphyromonas gingivalis*-induced periodontitis in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *732*, 96-111. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb24728.x>

Golub, L. M., Lee, H. M., Lehrer, G., Nemiroff, A., McNamara, T. F., Kaplan, R., & Ramamurthy, N. S. (1983). Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes. Preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *Journal of Periodontal Research*, *18*(5), 516-526. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1983.tb00388.x>

Gomes-Ferreira, P. H. S., de Oliveira, D., Frigério, P. B., de Souza Batista, F. R., Grandfield, K., & Okamoto, R. (2020). Teriparatide improves microarchitectural

characteristics of peri-implant bone in orchietomized rats. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 31(9), 1807–1815. <https://doi.org/10.1007/s00198-020-05431-y>

Goss, A., Bartold, M., Sambrook, P., & Hawker, P. (2010). The nature and frequency of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in dental implant patients: a South Australian case series. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 68(2), 337-343. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2009.09.037>

Grabowski P. (2015). Physiology of bone. *Endocrine Development*, 28, 33-55. <https://doi.org/10.1159/000380991>

Grant, B. T., Amenedo, C., Freeman, K., & Kraut, R. A. (2008). Outcomes of placing dental implants in patients taking oral bisphosphonates: a review of 115 cases. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 66(2), 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2007.09.019>

Guazzo, R., Sbricoli, L., Ricci, S., Bressan, E., Piattelli, A., & Iaculli, F. (2017). Medication-related osteonecrosis of the jaw and dental implants failures: a systematic review. *The Journal of Oral Implantology*, 43(1), 51-57. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-16-00057>

Guler, B., Uraz, A., Hatipoğlu, H., & Yalim, M. (2021). Chemical evaluation of energy dispersive x-ray spectroscopy analysis of different failing dental implant surfaces: a comparative clinical trial. *Materials*, 14(4), 986. <https://doi.org/10.3390/ma14040986>

Guyatt, G. H., Cranney, A., Griffith, L., Walter, S., Krolicki, N., Favus, M., & Rosen, C. (2002). Summary of meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis and the relationship between bone density and fractures. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 31(3), 659-xii. [https://doi.org/10.1016/s0889-8529\(02\)00024-5](https://doi.org/10.1016/s0889-8529(02)00024-5)

Ha, J. Y., Eo, M. Y., Sodnom-Ish, B., Mustakim, K. R., Myoung, H., & Kim, S. M. (2023). Electron microscopic analysis of necrotic bone and failed implant surface in a patient with medication-related osteonecrosis of the jaw. *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, 45(1), 34. <https://doi.org/10.1186/s40902-023-00402-9>

Hadad, H., Jesus, L. K., Santos, A. F. P., Matheus, H. R., Rodrigues, L. G. S., Poli, P. P., Marcantonio Junior, E., Guastaldi, F. P. S., Maiorana, C., Almeida, J. M., Okamoto, R., & Souza, F. A. (2022). Beta tricalcium phosphate, either alone or in combination with antimicrobial photodynamic therapy or doxycycline, prevents medication-related osteonecrosis of the jaw. *Scientific Reports*, *12*(1), 16510. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20128-4>

Hadad, H., Matheus, H. R., Chen, J. E., Jounaidi, Y., Souza, F. Á., & Guastaldi, F. P. S. (2023). Dose-dependent effects of zoledronic acid on the osteogenic differentiation of human bone marrow stem cells (hBMSCs). *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, *124*(6), 101479. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2023.101479>

Hadad, H., Matheus, H. R., Pai, S. I., Souza, F. A., & Guastaldi, F. P. S. (2024). Rodents as an animal model for studying tooth extraction-related medication-related osteonecrosis of the jaw: assessment of outcomes. *Archives of Oral Biology*, *159*, 105875. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2023.105875>

Hao, Y., Wang, X., Wang, L., Lu, Y., Mao, Z., Ge, S., & Dai, K. (2015). Zoledronic acid suppresses callus remodeling but enhances callus strength in an osteoporotic rat model of fracture healing. *Bone*, *81*, 702-711. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2015.09.018>

Hassumi, J. S., Mulinari-Santos, G., Fabris, A. L. D. S., Jacob, R. G. M., Gonçalves, A., Rossi, A. C., Freire, A. R., Faverani, L. P., & Okamoto, R. (2018). Alveolar bone healing in rats: micro-CT, immunohistochemical and molecular analysis. *Journal of applied oral science : revista FOB*, *26*, e20170326. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0326>

He, L., Sun, X., Liu, Z., Qiu, Y., & Niu, Y. (2020). Pathogenesis and multidisciplinary management of medication-related osteonecrosis of the jaw. *International Journal of Oral Science*, *12*(1), 30. <https://doi.org/10.1038/s41368-020-00093-2>

Heggendorn, F. L., Leite, T. C., Cunha, K. S., Silva Jr, A. S., Gonçalves, L. S., Costa, K. B., & Dias, E. P. (2016). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: Report of a case using conservative protocol. *Special Care in Dentistry*, *36*(1), 43-47. <https://doi.org/10.1111/scd.12143>

Helms, J. A., & Schneider, R. A. (2003). Cranial skeletal biology. *Nature*, *423*(6937), 326-331. <https://doi.org/10.1038/nature01656>

Hoefert, S., Schmitz, I., Tannapfel, A., & Eufinger, H. (2010). Importance of microcracks in etiology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a possible pathogenetic model of symptomatic and non-symptomatic osteonecrosis of the jaw based on scanning electron microscopy findings. *Clinical Oral Investigations*, *14*(3), 271-284. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0300-6>

Hong, J. Y., Lee, J. S., Pang, E. K., Jung, U. W., Choi, S. H., & Kim, C. K. (2014). Impact of different synthetic bone fillers on healing of extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*, *25*(2), e30-e37. <https://doi.org/10.1111/clr.12041>

Huang, X., Huang, S., Guo, F., Xu, F., Cheng, P., Ye, Y., Dong, Y., Xiang, W., & Chen, A. (2016). Dose-dependent inhibitory effects of zoledronic acid on osteoblast viability and function in vitro. *Molecular Medicine Reports*, *13*(1), 613-622. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4627>

Huja, S. S., Mason, A., Fenell, C. E., Mo, X., Hueni, S., D'Atri, A. M., & Fernandez, S. A. (2011). Effects of short-term zoledronic acid treatment on bone remodeling and healing at surgical sites in the maxilla and mandible of aged dogs. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, *69*(2), 418-427. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2010.05.062>

Jacobsen, C., Metzler, P., Rössle, M., Obwegeser, J., Zemmann, W., & Grätz, K. W. (2013). Osteopathology induced by bisphosphonates and dental implants: clinical observations. *Clinical Oral Investigations*, *17*(1), 167-175. <https://doi.org/10.1007/s00784-012-0708-2>

Jamalpour, M. R., Shahabi, S., Baghestani, M., Shokri, A., Jamshidi, S., & Khazaei, S. (2022). Complementarity of surgical therapy, photobiomodulation, A-PRF and L-PRF for management of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): an animal study. *BMC Oral Health*, *22*(1), 241. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02275-2>

Junquera, L., Pelaz, A., Gallego, L., García-Consuegra, L., & Costilla, S. (2014). Bisphosphonate-related osteonecrosis associated with dental implants: a

microcomputed tomography study. *Implant Dentistry*, 23(3), 258-263. <https://doi.org/10.1097/ID.000000000000103>

Khan, A. A., Morrison, A., Hanley, D. A., Felsenberg, D., McCauley, L. K., O'Ryan, F., Reid, I. R., Ruggiero, S. L., Taguchi, A., Tetradis, S., Watts, N. B., Brandi, M. L., Peters, E., Guise, T., Eastell, R., Cheung, A. M., Morin, S. N., Masri, B., Cooper, C., Morgan, S. L., ... International Task Force on Osteonecrosis of the Jaw (2015). Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. *Journal of Bone and Mineral Research*, 30(1), 3-23. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2405>

Khojasteh, A., Dehghan, M. M., & Nazeman, P. (2019). Immediate implant placement following 1-year treatment with oral versus intravenous bisphosphonates: a histomorphometric canine study on peri-implant bone. *Clinical Oral Investigations*, 23(4), 1803-1809. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2579-7>

Kim, I., Ki, H., Lee, W., Kim, H., & Park, J. B. (2013). The effect of systemically administered bisphosphonates on bony healing after tooth extraction and osseointegration of dental implants in the rabbit maxilla. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 28(5), 1194-1200. <https://doi.org/10.11607/jomi.2685>

Kim, J. W., Landayan, M. E., Lee, J. Y., Tatad, J. C., Kim, S. J., Kim, M. R., & Cha, I. H. (2016). Role of microcracks in the pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Clinical Oral Investigations*, 20(8), 2251-2258. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1718-2>

Kniha, K., Bock, A., Peters, F., Magnuska, Z. A., Gremse, F., Möhlhenrich, S. C., Hölzle, F., & Modabber, A. (2021). Microstructural volumetric analysis of the jaw following dental implantation under systemic bisphosphonate delivery: an in vivo and ex vivo rat study. *Journal of Periodontology*, 92(7), 66-75. <https://doi.org/10.1002/JPER.20-0547>

Kuroshima, S., Al-Omari, F. A., Sasaki, M., & Sawase, T. (2022). Medication-related osteonecrosis of the jaw: a literature review and update. *Genesis*, 60(8-9), e23500. <https://doi.org/10.1002/dvg.23500>

- Kuroshima, S., Sasaki, M., & Sawase, T. (2019). Medication-related osteonecrosis of the jaw: a literature review. *Journal of Oral Biosciences*, *61*(2), 99-104. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.03.005>
- Kwon, T. G., Lee, C. O., Park, J. W., Choi, S. Y., Rijal, G., & Shin, H. I. (2014). Osteonecrosis associated with dental implants in patients undergoing bisphosphonate treatment. *Clinical Oral Implants Research*, *25*(5), 632-640. <https://doi.org/10.1111/clr.12088>
- Kwon, Y. D., Jo, H., Kim, J. E., & Ohe, J. Y. (2023). A clinical retrospective study of implant as a risk factor for medication-related osteonecrosis of the jaw: surgery vs loading? *Maxillofacial Plastic and Reconstructive Surgery*, *45*(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s40902-023-00398-2>
- Lang, M., Zhou, Z., Shi, L., Niu, J., Xu, S., Lin, W., Chen, Z., & Wang, Y. (2016). Influence of zoledronic acid on proliferation, migration, and apoptosis of vascular endothelial cells. *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, *54*(8), 889-893. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2016.05.030>
- Lang, N. P., Salvi, G. E., & Sculean, A. (2019). Nonsurgical therapy for teeth and implants-When and why? *Periodontology 2000*, *79*(1), 15-21. <https://doi.org/10.1111/prd.12240>
- Luvizuto, E. R., Dias, S. S., Okamoto, T., Dornelles, R. C., & Okamoto, R. (2011). Raloxifene therapy inhibits osteoclastogenesis during the alveolar healing process in rats. *Archives of Oral Biology*, *56*(10), 984-990. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.03.015>
- Mackie, E. J., Tatarczuch, L., & Mirams, M. (2011). The skeleton: a multi-functional complex organ: the growth plate chondrocyte and endochondral ossification. *The Journal of Endocrinology*, *211*(2), 109-121. <https://doi.org/10.1530/JOE-11-0048>
- Madi, M., Pavlic, V., Samy, W., & Alagl, A. (2018). The anti-inflammatory effect of locally delivered nano-doxycycline gel in therapy of chronic periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica*, *76*(1), 71-76. <https://doi.org/10.1080/00016357.2017.1385096>
- Madrid, C., & Sanz, M. (2009). What impact do systemically administered bisphosphonates have on oral implant therapy? A systematic review. *Clinical Oral*

Implants Research, 20 Suppl 4, 87-95. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2009.01772.x>

Marx, R. E. (2003). Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the 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)

Matsumoto, M. A., Furquim, E. M. A., Gonçalves, A., Santiago-Júnior, J. F., Saraiva, P. P., Cardoso, C. L., Munerato, M. S., & Okamoto, R. (2017). Aged rats under zoledronic acid therapy and oral surgery. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 45(5), 781-787. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.02.002>

Mauceri, R., Panzarella, V., Maniscalco, L., Bedogni, A., Licata, M. E., Albanese, A., Toia, F., Cumbo, E. M. G., Mazzola, G., Di Fede, O., & Campisi, G. (2018). Conservative surgical treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with Er,Cr:YSGG laser and platelet-rich plasma: a longitudinal study. *BioMed Research International*, 2018, 3982540. <https://doi.org/10.1155/2018/3982540>

McClung, M. R. (2003). Bisphosphonates. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 32(1), 253-271. [https://doi.org/10.1016/s0889-8529\(02\)00079-8](https://doi.org/10.1016/s0889-8529(02)00079-8)

Minamisako, M. C., Ribeiro, G. H., Lisboa, M. L., Mariela Rodríguez Cordeiro, M., & Grando, L. J. (2016). Medication-related osteonecrosis of jaws: a low-level laser therapy and antimicrobial photodynamic therapy case approach. *Case Reports in Dentistry*, 2016, 6267406. <https://doi.org/10.1155/2016/6267406>

Momesso, G. A. C., Lemos, C. A. A., Santiago-Júnior, J. F., Faverani, L. P., & Pellizzer, E. P. (2020). Laser surgery in management of medication-related osteonecrosis of the jaws: a meta-analysis. *Oral and Maxillofacial surgery*, 24(2), 133-144. <https://doi.org/10.1007/s10006-020-00831-0>

Monk, E., Shalita, A., & Siegel, D. M. (2011). Clinical applications of non-antimicrobial tetracyclines in dermatology. *Pharmacological Research*, 63(2), 130-145. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.10.007>

Moreno-Rabié, C., Fontenele, R. C., Oliveira-Santos, N., Nogueira-Reis, F., Van den Wyngaert, T., & Jacobs, R. (2024). Key insights into antiresorptive drug use and osteonecrosis in osteoporotic patients undergoing tooth extractions: a clinical and

CBCT assessment. *Osteoporosis International*, 35(8), 1431-1440.
<https://doi.org/10.1007/s00198-024-07108-2>

Morita, M., Iwasaki, R., Sato, Y., Kobayashi, T., Watanabe, R., Oike, T., Nakamura, S., Keneko, Y., Miyamoto, K., Ishihara, K., Iwakura, Y., Ishii, K., Matsumoto, M., Nakamura, M., Kawana, H., Nakagawa, T., & Miyamoto, T. (2017). Elevation of pro-inflammatory cytokine levels following anti-resorptive drug treatment is required for osteonecrosis development in infectious osteomyelitis. *Scientific Reports*, 7, 46322.
<https://doi.org/10.1038/srep46322>

Mulinari-Santos, G., Santos, J. S., Kitagawa, I. L., Batista, F. R. S., Botacin, P. R., Antoniali, C., Lisboa-Filho, P. N., & Okamoto, R. (2023). Estrogen deficiency impairs osseointegration in hypertensive rats even treated with alendronate coated on the implant surface. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(9), 471.
<https://doi.org/10.3390/jfb14090471>

Murshed M. (2018). Mechanism of bone mineralization. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(12), a031229.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031229>

Nastri, L., Rosa, A., Gregorio, V., Grassia, V., & Donnarumma, G. (2019). A new controlled-release material containing metronidazole and doxycycline for the treatment of periodontal and peri-implant diseases: formulation and in vitro testing. *International Journal of Dentistry*, 2019, 9374607.
<https://doi.org/10.1155/2019/9374607>

NC3Rs Reporting Guidelines Working Group (2010). Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines. *Experimental Physiology*, 95(8), 842-844.
<https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.053793>

Nelson, M. L., & Levy, S. B. (2011). The history of the tetracyclines. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1241, 17-32. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06354.x>

Oliveira, D., Hassumi, J. S., Gomes-Ferreira, P. H., Polo, T. O., Ferreira, G. R., Faverani, L. P., & Okamoto, R. (2017). Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone quality in osteoporotic animals. *Journal of applied*

oral science : revista FOB, 25(1), 42–52. <https://doi.org/10.1590/1678-77572016-0165>

Olsen, B. R., Reginato, A. M., & Wang, W. (2000). Bone development. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16, 191-220. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.16.1.191>

Otto, S., Pautke, C., Van den Wyngaert, T., Niepel, D., & Schiødt, M. (2018). Medication-related osteonecrosis of the jaw: prevention, diagnosis and management in patients with cancer and bone metastases. *Cancer Treatment Reviews*, 69, 177-187. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2018.06.007>

Otto, S., Schnoedt, E. M., Troeltzsch, M., Kaeppler, G., Aljohani, S., Liebermann, A., & Fliefel, R. (2023). Clinical and radiographic outcomes of dental implants in patients treated with antiresorptive drugs: a consecutive case series. *The Journal of Oral Implantology*, 49(1), 39-45. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-21-00035>

Owen, B., & Bradley, H. (2021). Is it safe to place implants in patients at risk of MRONJ? *Evidence-Based Dentistry*, 22(3), 108-109. <https://doi.org/10.1038/s41432-021-0196-9>

Passarelli, P. C., Netti, A., Lopez, M. A., Giaquinto, E. F., De Rosa, G., Aureli, G., Bodnarenko, A., Papi, P., Starzyńska, A., Pompa, G., & D'Addona, A. (2021). Local/topical antibiotics for peri-implantitis treatment: a systematic review. *Antibiotics*, 10(11), 1298. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111298>

Patntirapong, S., Singhatanadgit, W., Chanruangvanit, C., Lavanrattanakul, K., & Satravaha, Y. (2012). Zoledronic acid suppresses mineralization through direct cytotoxicity and osteoblast differentiation inhibition. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 41(9), 713-720. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2012.01154.x>

Paulo, S., Laranjo, M., Abrantes, A. M., Casalta-Lopes, J., Santos, K., Gonçalves, A. C., Paula, A. B., Marto, C. M., Sarmiento-Ribeiro, A. B., Carrilho, E., Serra, A., Botelho, M. F., & Ferreira, M. M. (2019). Synthetic calcium phosphate ceramics as a potential treatment for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Materials*, 12(11), 1840. <https://doi.org/10.3390/ma12111840>

Pazianas, M., Miller, P., Blumentals, W. A., Bernal, M., & Kothawala, P. (2007). A review of the literature on osteonecrosis of the jaw in patients with osteoporosis

treated with oral bisphosphonates: prevalence, risk factors, and clinical characteristics. *Clinical Therapeutics*, 29(8), 1548-1558. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2007.08.008>

Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., & Pearce, S. G. (2007). Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *European Cells & Materials*, 13, 1-10. <https://doi.org/10.22203/ecm.v013a01>

Pelaz, A., Junquera, L., Gallego, L., García-Consuegra, L., García-Martínez, L., Cutilli, T., & Olay, S. (2015). Epidemiology, pharmacology and clinical characterization of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. A retrospective study of 70 cases. *Acta Otorrinolaringologica Espanola*, 66(3), 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.otorri.2014.06.003>

Pereira-Silva, M., Hadad, H., Jesus, L. K., Freitas Santana Oliveira, M. E., Almeida, J. M., Nímia, H. H., Magro Filho, O., Okamoto, R., Macedo, S. B., Palmieri Junior, C. F., & Souza, F. Á. (2024). Ozone therapy effect in medication-related osteonecrosis of the jaw as prevention or treatment: microtomographic, confocal laser microscopy and histomorphometric analysis. *Clinical Oral Investigations*, 28(2), 151. <https://doi.org/10.1007/s00784-024-05547-z>

Pichardo, S. E. C., van der Hee, J. G., Fiocco, M., Appelman-Dijkstra, N. M., & van Merkesteyn, J. P. R. (2020). Dental implants as risk factors for patients with medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). *The British Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 58(7), 771-776. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2020.03.022>

Poli, P. P., Jesus, L. K., Dayube, U. R. C., Hadad, H., Loureiro, C., Chiba, F. Y., Furtado, T. S. M., Silva, M. P., Okamoto, R., Maiorana, C., Carvalho, P. S. P., & Souza, F. Á. (2022). An evaluation of the effects of photobiomodulation therapy on the peri-implant bone healing of implants with different surfaces: an in vivo study. *Materials*, 15(13), 4371. <https://doi.org/10.3390/ma15134371>

Poli, P. P., Souza, F. Á., & Maiorana, C. (2018). Adjunctive use of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaws: a case report. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 23, 99-101. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.06.004>

Pozzi, S., Vallet, S., Mukherjee, S., Cirstea, D., Vaghela, N., Santo, L., Rosen, E., Ikeda, H., Okawa, Y., Kiziltepe, T., Schoonmaker, J., Xie, W., Hideshima, T., Weller, E., Boussein, M. L., Munshi, N. C., Anderson, K. C., & Raje, N. (2009). High-dose zoledronic acid impacts bone remodeling with effects on osteoblastic lineage and bone mechanical properties. *Clinical Cancer Research*, *15*(18), 5829-5839. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0426>

Puttini, I. O., Poli, P. P., Maiorana, C., Vasconcelos, I. R., Schmidt, L. E., Colombo, L. T., Hadad, H., Santos, G. M. D., Carvalho, P. S. P., & Souza, F. Á. (2019). Evaluation of osteoconduction of biphasic calcium phosphate ceramic in the calvaria of rats: microscopic and histometric analysis. *Journal of Functional Biomaterials*, *10*(1), 7. <https://doi.org/10.3390/jfb10010007>

Queiroz, T. P., de Molon, R. S., Souza, F. Á., Margonar, R., Thomazini, A. H., Guastaldi, A. C., & Hochuli-Vieira, E. (2017). In vivo evaluation of cp Ti implants with modified surfaces by laser beam with and without hydroxyapatite chemical deposition and without and with thermal treatment: topographic characterization and histomorphometric analysis in rabbits. *Clinical oral investigations*, *21*(2), 685–699. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1936-7>

Queiroz, T. P., Souza, F. Á., Guastaldi, A. C., Margonar, R., Garcia-Júnior, I. R., & Hochuli-Vieira, E. (2013). Commercially pure titanium implants with surfaces modified by laser beam with and without chemical deposition of apatite. Biomechanical and topographical analysis in rabbits. *Clinical Oral Implants Research*, *24*(8), 896-903. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2012.02471.x>

Rahman, B., Acharya, A. B., Siddiqui, R., Verron, E., & Badran, Z. (2022). Photodynamic therapy for peri-implant diseases. *Antibiotics*, *11*(7), 918. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070918>

Ramalho-Ferreira, G., Faverani, L. P., Grossi-Oliveira, G. A., Okamoto, T., & Okamoto, R. (2015). Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. *Journal of Biomedical Optics*, *20*(3), 038003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.3.038003>

Rastelli, A. N. S.(2021). Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) as a Disinfection and biomodulation approach in implant dentistry. *Photochemistry and Photobiology*, 97(5), 1155-1160. <https://doi.org/10.1111/php.13509>

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>

Romandini, M., Lima, C., Pedrinaci, I., Araoz, A., Soldini, M. C., & Sanz, M. (2021). Prevalence and risk/protective indicators of peri-implant diseases: a university-representative cross-sectional study. *Clinical Oral Implants Research*, 32(1), 112-122. <https://doi.org/10.1111/clr.13684>

Ruggiero, S. L., & Drew, S. J. (2007). Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonate therapy. *Journal of Dental Research*, 86(11), 1013-1021. <https://doi.org/10.1177/154405910708601101>

Ruggiero, S. L., & Woo, S. B. (2008). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Dental Clinics of North America*, 52(1), 111-ix. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2007.09.002>

Ruggiero, S. L., Dodson, T. B., Aghaloo, T., Carlson, E. R., Ward, B. B., & Kademani, D. (2022). American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' Position Paper on medication-related osteonecrosis of the jaws-2022 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 80(5), 920-943. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2022.02.008>

Ruggiero, S. L., Dodson, T. B., Assael, L. A., Landesberg, R., Marx, R. E., Mehrotra, B., & American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (2009). American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 67(5 Suppl), 2-12. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2009.01.009>

Ruggiero, S. L., Dodson, T. B., Fantasia, J., Goodday, R., Aghaloo, T., Mehrotra, B., O'Ryan, F., & American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (2014). American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 72(10), 1938-1956. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2014.04.031>

Saldanha, S., Shenoy, V. K., Eachampati, P., & Uppal, N. (2012). Dental implications of bisphosphonate-related osteonecrosis. *Gerodontology*, *29*(3), 177-187. <https://doi.org/10.1111/j.1741-2358.2012.00622.x>

Santini, D., Vincenzi, B., Dicuonzo, G., Avvisati, G., Massacesi, C., Battistoni, F., Gavasci, M., Rocci, L., Tirindelli, M. C., Altomare, V., Tocchini, M., Bonsignori, M., & Tonini, G. (2003). Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clinical Cancer Research*, *9*(8), 2893-2897.

Santos, A. F. P., da Silva, R. C., Hadad, H., de Jesus, L. K., Pereira-Silva, M., Nímia, H. H., Oliveira, S. H. P., Guastaldi, A. C., Queiroz, T. P., Poli, P. P., Barbosa, D. B., da Silva Fabris, A. L., Garcia Júnior, I. R., Gruber, R., & Souza, F. Á. (2024). Correction: Santos et al. Early Peri-Implant Bone Healing on Laser-Modified Surfaces with and without Hydroxyapatite Coating: An In Vivo Study. *Biology* 2024, *13*, 533. *Biology*, *13*(10), 756. <https://doi.org/10.3390/biology13100756>

Sarko J. (2005). Bone and mineral metabolism. *Emergency Medicine Clinics of North America*, *23*(3), 703-viii. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2005.03.017>

Schmidt, L. E., Hadad, H., Vasconcelos, I. R., Colombo, L. T., da Silva, R. C., Santos, A. F. P., Cervantes, L. C. C., Poli, P. P., Signorino, F., Maiorana, C., Carvalho, P. S. P., & Souza, F. Á. (2019). Critical defect healing assessment in rat calvaria filled with injectable calcium phosphate cement. *Journal of Functional Biomaterials*, *10*(2), 21. <https://doi.org/10.3390/jfb10020021>

Schwarz, F., Derks, J., Monje, A., & Wang, H. L. (2018). Peri-implantitis. *Journal of Clinical Periodontology*, *45 Suppl 20*, S246-S266. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12954>

Sedghizadeh, P. P., Kumar, S. K., Gorur, A., Schaudinn, C., Shuler, C. F., & Costerton, J. W. (2009). Microbial biofilms in osteomyelitis of the jaw and osteonecrosis of the jaw secondary to bisphosphonate therapy. *Journal of the American Dental Association*, *140*(10), 1259-1265. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2009.0049>

Seki, K., Namaki, S., Kamimoto, A., & Hagiwara, Y. (2021). Medication-related osteonecrosis of the jaw subsequent to peri-implantitis: a case report and literature

review. *The Journal of Oral Implantology*, 47(6), 502-510.
<https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-19-00385>

Sgolastra, F., Petrucci, A., Severino, M., Gatto, R., & Monaco, A. (2015). Periodontitis, implant loss and peri-implantitis: a meta-analysis. *Clinical Oral Implants Research*, 26(4), e8-e16. <https://doi.org/10.1111/clr.12319>

Sharma, D., Hamlet, S., Vaquette, C., Petcu, E. B., Ramamurthy, P., & Ivanovski, S. (2021). Local delivery of hydrogel encapsulated vascular endothelial growth factor for the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Scientific Reports*, 11(1), 23371. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02637-w>

Sher, J., Kirkham-Ali, K., Luo, J. D., Miller, C., & Sharma, D. (2021). Dental implant placement in patients with a history of medications related to osteonecrosis of the jaws: a systematic review. *The Journal of Oral Implantology*, 47(3), 249-268. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-19-00351>

Sigua-Rodriguez, E. A., Costa Ribeiro, R., Brito, A. C., Alvarez-Pinzon, N., & Albergaria-Barbosa, J. R. (2014). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of the literature. *International Journal of Dentistry*, 2014, 192320. <https://doi.org/10.1155/2014/192320>

Silva, P. G. B., Praxedes Neto, R. A. L. P., Lima, L. A., Lemos, J. V. M., Rodrigues, M. I. Q., Alves, A. P. N. N., Dantas, T. S., & Lima, R. A. (2022). Photodynamic therapy and photobiomodulation therapy in zoledronic acid-induced osteonecrosis in rats. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 38, 102889. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.102889>

Sisti, K. E., Piattelli, A., Guastaldi, A. C., Queiroz, T. P., & de Rossi, R. (2013). Nondecalcified histologic study of bone response to titanium implants topographically modified by laser with and without hydroxyapatite coating. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*, 33(5), 689–696. <https://doi.org/10.11607/prd.1151>

Soma, T., Iwasaki, R., Sato, Y., Kobayashi, T., Nakamura, S., Kaneko, Y., Ito, E., Okada, H., Watanabe, H., Miyamoto, K., Matsumoto, M., Nakamura, M., Asoda, S., Kawana, H., Nakagawa, T., & Miyamoto, T. (2021). Tooth extraction in mice administered zoledronate increases inflammatory cytokine levels and promotes

osteonecrosis of the jaw. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 39(3), 372-384. <https://doi.org/10.1007/s00774-020-01174-2>

Souza, E. Q. M., Toro, L. F., Ganzaroli, V. F., Freire, J. O. A., Matsumoto, M. A., Casatti, C. A., Cintra, L. T. A., Buchaim, R. L., Issa, J. P. M., Garcia, V. G., Theodoro, L. H., & Ervolino, E. (2024). Peri-implantitis increases the risk of medication-related osteonecrosis of the jaws associated with osseointegrated implants in rats treated with zoledronate. *Scientific Reports*, 14(1), 627. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49647-4>

Souza, F. A., Queiroz, T. P., Guastaldi, A. C., Garcia-Júnior, I. R., Magro-Filho, O., Nishioka, R. S., Sisti, K. E., & Sonoda, C. K. (2013). Comparative in vivo study of commercially pure Ti implants with surfaces modified by laser with and without silicate deposition: biomechanical and scanning electron microscopy analysis. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied Biomaterials*, 101(1), 76-84. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32818>

Souza, F. Á., Queiroz, T. P., Sonoda, C. K., Okamoto, R., Margonar, R., Guastaldi, A. C., Nishioka, R. S., & Garcia Júnior, I. R. (2014). Histometric analysis and topographic characterization of cp Ti implants with surfaces modified by laser with and without silica deposition. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, 102(8), 1677–1688. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33139>

Statkiewicz, C., Toro, L. F., Mello-Neto, J. M., Sá, D. P., Casatti, C. A., Issa, J. P. M., Cintra, L. T. A., Almeida, J. M., Nagata, M. J. H., Garcia, V. G., Theodoro, L. H., & Ervolino, E. (2018). Photomodulation multiple sessions as a promising preventive therapy for medication-related osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in rats. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 184, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.004>

Stavropoulos, A., Kostopoulos, L., Nyengaard, J. R., & Karring, T. (2003). Deproteinized bovine bone (Bio-Oss) and bioactive glass (Biogran) arrest bone formation when used as an adjunct to guided tissue regeneration (GTR): an experimental study in the rat. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(7), 636-643. <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2003.00093.x>

Støre, G., & Olsen, I. (2005). Scanning and transmission electron microscopy demonstrates bacteria in osteoradionecrosis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34(7), 777-781. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2005.07.014>

Su, Z., Li, J., Bai, X., Tay, F. R., Zhang, M., Liang, K., He, L., Yuan, H., & Li, J. (2020). Borate bioactive glass prevents zoledronate-induced osteonecrosis of the jaw by restoring osteogenesis and angiogenesis. *Oral Diseases*, 26(8), 1706-1717. <https://doi.org/10.1111/odi.13436>

Tan, O. L., Safii, S. H., & Razali, M. (2019). Commercial local pharmacotherapeutics and adjunctive agents for nonsurgical treatment of periodontitis: a contemporary review of clinical efficacies and challenges. *Antibiotics*, 9(1), 11. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010011>

Tempesta, A., Capodiferro, S., Mauceri, R., Lauritano, D., Maiorano, E., Favia, G., & Limongelli, L. (2022). Peri-implantitis-like medication-related osteonecrosis of the jaw: clinical considerations and histological evaluation with confocal laser scanning microscope. *Oral Diseases*, 28(6), 1603-1609. <https://doi.org/10.1111/odi.13873>

Timchenko, T. P. (2022). Bisphosphonates as potential inhibitors of calcification in bioprosthetic heart valves (Review). *Sovremennye Tekhnologii v Meditsine*, 14(2), 68-78. <https://doi.org/10.17691/stm2022.14.2.07>

Toro, L. F., Mello-Neto, J. M., Santos, F. F. V. D., Ferreira, L. C., Statkiewicz, C., Cintra, L. T. Â., Issa, J. P. M., Dornelles, R. C. M., Almeida, J. M., Nagata, M. J. H., Garcia, V. G., Theodoro, L. H., Casatti, C. A., & Ervolino, E. (2019). Application of autologous platelet-rich plasma on tooth extraction site prevents occurrence of medication-related osteonecrosis of the jaws in rats. *Scientific Reports*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37063-y>

Torres, J., Tamimi, F., Garcia, I., Herrero, A., Rivera, B., Sobrino, J. A., & Hernández, G. (2009). Dental implants in a patient with Paget disease under bisphosphonate treatment: a case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 107(3), 387-392. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.11.024>

Troeltzsch, M., Cagna, D., Stähler, P., Probst, F., Kaeppler, G., Troeltzsch, M., Ehrenfeld, M., & Otto, S. (2016). Clinical features of peri-implant medication-related

osteonecrosis of the jaw: Is there an association to peri-implantitis? *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 44(12), 1945-1951. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.09.018>

Türker, M., Aslan, A., Çırpar, M., Kochai, A., Tulmaç, Ö. B., & Balcı, M. (2016). Histological and biomechanical effects of zoledronate on fracture healing in an osteoporotic rat tibia model. *Eklemler Hastalıkları Ve Cerrahisi*, 27(1), 9-15. <https://doi.org/10.5606/ehc.2016.03>

Wang, Y., Huang, Y. Y., Wang, Y., Lyu, P., & Hamblin, M. R. (2016). Photobiomodulation (blue and green light) encourages osteoblastic-differentiation of human adipose-derived stem cells: role of intracellular calcium and light-gated ion channels. *Scientific Reports*, 6, 33719. <https://doi.org/10.1038/srep33719>

Wilde, F., Heufelder, M., Winter, K., Hendricks, J., Frerich, B., Schramm, A., & Hemprich, A. (2011). The role of surgical therapy in the management of intravenous bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 111(2), 153-163. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.04.015>

Yuan, H., Fernandes, H., Habibovic, P., De Boer, J., Barradas, A. M., De Ruiter, A., Walsh, W. R., van Blitterswijk, C. A., & De Bruijn, J. D. (2010). Osteoinductive ceramics as a synthetic alternative to autologous bone grafting. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(31), 13614-13619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003600107>

Zhao, T., Song, J., Ping, Y., & Li, M. (2022). The application of Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) in the treatment of peri-implantitis. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2022, 3547398. <https://doi.org/10.1155/2022/3547398>

Ziebart, T., Pabst, A., Klein, M. O., Kämmerer, P., Gauss, L., Brüllmann, D., Al-Nawas, B., & Walter, C. (2011). Bisphosphonates: restrictions for vasculogenesis and angiogenesis: inhibition of cell function of endothelial progenitor cells and mature endothelial cells in vitro. *Clinical Oral Investigations*, 15(1), 105-111. <https://doi.org/10.1007/s00784-009-0365-2>

ANEXOS

ANEXO A - Comitê de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA/UNESP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Avaliação da osseointegração de implantes instalados em osso alveolar reparacional de ratos tratados com ácido zoledrônico**", Processo FOA nº 0884-2022, sob responsabilidade de Francisley Ávila Souza apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 30 de Novembro de 2022.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 01 de Dezembro de 2025.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 01 de Janeiro de 2026.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Evaluation of the osseointegration of implants placed in reparational alveolar bone of rats treated with zoledronic acid**", Protocol FOA nº 0884-2022, under the supervision of Francisley Ávila Souza presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on November 30, 2022.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 01, 2025.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 01, 2026.

Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator