

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta dissertação será disponibilizado
somente a partir de 20/02/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO PERI-IMPLANTAR EM
RATAS TRATADAS COM DOSE ONCOLÓGICA OU DOSE
OSTEOPORÓTICA DE ZOLEDRONATO

LUAN FELIPE TORO

ORIENTADOR: PROF. ASSOC. EDILSON ERVOLINO

COORIENTADOR: PROF. TIT. VALDIR GOUVEIA GARCIA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral
e Aplicada, Área de concentração: *Biologia Celular
Estrutural e Funcional*.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Toro, Luan Felipe.

Avaliação do processo de reparo peri-implantar em ratas tratadas com dose oncológica ou dose osteoporótica de zoledronato / Luan Felipe Toro. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Edilson Ervolino

Coorientador: Valdir Gouveia Garcia

Capes: 20600003

1. Difosfonatos. 2. Implantes dentários. 3. Osseointegração. 4. Osteonecrose.

Palavras-chave: Difosfonatos; Implantes dentários; Osseointegração; Osteonecrose.

LUAN FELIPE TORO

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE REPARO PERI-IMPLANTAR EM RATAS
TRATADAS COM DOSE ONCOLÓGICA OU DOSE OSTEOPORÓTICA DE
ZOLEDRONATO**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: *Biologia Celular Estrutural e Funcional*.

Orientador: Prof. Assoc. Edilson Ervolino

Coorientador: Prof. Tit. Valdir Gouveia Garcia

Comissão examinadora:

Prof. Assoc. Edilson Ervolino

Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araçatuba, UNESP

Orientador

Prof. Assoc. Juliano Milanezi de Almeida

Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araçatuba, UNESP

Prof^a. Tit. Maeli Dal Pai

Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP

Aprovada em ____/____/____.

Botucatu – SP

DADOS CURRICULARES

LUAN FELIPE TORO

Nascimento: 03 de novembro de 1992
Birigui – SP

Filiação: Valdir Olgado Toro
Márcia Sueli Jorge Toro

2008 - 2010: Ensino Médio
Escola Estadual “Profª. Regina Valarini Vieira”, Birigui – SP

2011 - 2016: Curso de Graduação em Odontologia
Faculdade de Odontologia, Câmpus de Araçatuba – SP
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

2017 - 2019: Curso de mestrado acadêmico em Biologia Geral e Aplicada
Área de concentração: Biologia Celular Estrutural e Funcional
Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu – SP
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

DEDICATÓRIA



Ao cientista inglês Robert Hooke, que pela simples observação de um pedaço de cortiça ao microscópio de luz, publicada em seu livro Micrographia, de 1665, lançou a pedra fundamental para o surgimento do fascinante universo da biologia celular e tecidual.



AGRADECIMENTOS



AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Deus**, acima de tudo, e à **Nossa Senhora**, pela sua inestimável intercessão junto a Ele, por me permitirem viver para realizar mais este sonho e por serem fonte inesgotável de fortaleza e amparo em todas as horas, sobretudo nas mais difíceis.

Ao meu pai **Valdir O. Toro** e à minha mãe **Marcia S. J. Toro**, pelo amor incondicional e, principalmente, por não medirem esforços para que eu pudesse alcançar cada um dos meus objetivos. À minha irmã **Aniele M. T. Fagundes**, pelo exemplo de organização e dedicação em tudo o que faz, pela integridade pessoal e por toda torcida e cumplicidade de sempre. A vocês três dedico mais do que este título e o presente trabalho, dedico e compartilho todas as conquistas e vitórias da minha vida.

Ao querido mestre e orientador, mas, acima de tudo, ao grande amigo **Prof. Assoc. Edilson Ervolino**, idealizador deste trabalho e responsável direto pelo meu ingresso e trajetória no universo acadêmico e da ciência. Minha eterna gratidão por toda confiança depositada e pelas inúmeras portas que me foram abertas. Minha sincera admiração e respeito pela pessoa que é e pelo profissional diferenciado, competente e íntegro que todos reverenciam.

Ao meu coorientador **Prof. Tit. Valdir G. Garcia**, pela capacidade de transformar, com a sua vasta experiência, até os maiores problemas em simples contratempos e, além disso, possibilitar aprendizagem e crescimento com as suas resoluções. À **Profª. Assoc. Letícia H. Theodoro**, pelo valioso suporte e colaboração nesta pesquisa e nos demais projetos desenvolvidos por nosso laboratório.

Ao **Prof. Assoc. Juliano M. de Almeida**, pela sua incalculável contribuição na idealização do presente trabalho e durante toda a sua realização, principalmente nas cirurgias para instalação dos implantes de titânio. Sinto-me honrado em apresentar-lhe nesta dissertação o resultado de tamanho empenho.

Ao **Prof. Ass. Dr. Luis A. Justulin Junior** e à **Profª. Assoc. Mariza A. Matsumoto**, pela atenta leitura e análise crítica do Exame Geral de Qualificação que precedeu este trabalho, além das inúmeras sugestões e comentários enriquecedores que tanto contribuíram para o aperfeiçoamento de sua versão final.

Aos membros da comissão examinadora do processo de defesa desta dissertação de mestrado, **Prof. Assoc. Juliano M. de Almeida**, **Profª. Tit. Maeli Dal Pai** e **Prof. Assoc. Edilson Ervolino**, pela gentileza, prontidão e disponibilidade em realizarem a avaliação deste trabalho. A indicação de tais nomes reflete a nossa certeza de que cada um, com a sua devida

expertise, apresentará grandiosa contribuição para o aprimoramento deste texto e para o direcionamento de novas etapas e pesquisas futuras.

À nossa incomparável equipe de trabalho do **Laboratório de Osteobiologia Aplicada à Odontologia**, constituída por alunos de graduação e pós-graduação, nível mestrado acadêmico e doutorado, e majestosamente conduzida pelo **Prof. Assoc. Edilson Ervolino**. Aos meus queridos amigos **João M. de Mello Neto, Thamires P. Cavazana, João V. F. Rodrigues, Cristian Statkiewicz, Daniela P. de Sá, Fernanda F. V. dos Santos, Letícia C. Ferreira, Tiago E. da Rocha, Nathália J. de Araujo, Luy de A. Costa, Jéssica S. Santana, Jéssica de O. A. Freire, Isabella Z. Guiati, Vinícius F. Ganzaroli, Mariane B. Olivo e Eduardo Q. M. Souza**, meus mais sinceros agradecimentos pela sólida amizade construída e pela incontestável colaboração em todas as etapas do presente estudo, sem a qual nada seria possível, e nas demais pesquisas e projetos desenvolvidos por nosso grupo. Este trabalho é novamente fruto do grande empenho e dedicação de cada um de vocês.

Aos meus amigos do coração, pela torcida, apoio e cumplicidade durante esta etapa tão importante da minha vida. À **Daniela P. de Sá**, por todo carinho a mim atribuído, pela confiança e amizade verdadeiras. Ao **João M. de Mello Neto**, pelo companheirismo nos momentos mais difíceis e pela alegria compartilhada nas horas de sucesso. Ao **Jefferson J. de Oliveira**, por incentivar e apoiar todas as minhas decisões, vibrar com as minhas conquistas e me possibilitar inestimável conhecimento e crescimento, tanto pessoal quanto profissional. E ao **Henrique R. Matheus**, não apenas pela parceria desde a época da graduação, mas pelo auxílio durante a cirurgia para instalação dos implantes de titânio e pelo generoso suporte oferecido ao longo deste trabalho.

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

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP** e, em especial, ao **Instituto de Biociências de Botucatu**, nas pessoas do senhor diretor **Prof. Tit. Cesar Martins** e do senhor vice-diretor **Prof. Assoc. Luiz F. R. de Almeida**, pela oportunidade de realizar o curso de pós-graduação.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada (PG-BGA)**, nas pessoas do senhor coordenador **Prof. Assoc. José M. Sforcin** e da senhora vice-coordenadora **Profª. Tit. Maeli Dal Pai**, pela dedicação, entusiasmo e transparência na condução deste programa de pós-graduação.

À **Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP**, nas pessoas do senhor diretor **Prof. Tit. Wilson R. Poi** e do senhor vice-diretor **Prof. Tit. João E. Gomes Filho**, pela possibilidade de execução desta pesquisa.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela concessão de Bolsa de Mestrado (CAPES-DS; 01/03/2017 – 31/12/2017), e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, também pela concessão de Bolsa de Mestrado (processo FAPESP nº. 2017/16364-2; 01/01/2018 – 28/02/2019).

À empresa **DSP Biomedical**, pela gentileza no fornecimento dos implantes de titânio utilizados nesta pesquisa. Ao **Laboratório Multiusuário de Biotecnologia e Bioengenharia (MUBIO)** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, e à **Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP)**, pela disponibilização de uso e suporte operacional aos aparelhos e à *workstation* de controle da microtomografia computadorizada (FINEP/CT-INFRA – Convênio FINEP nº. 01.12.0530.00 – PROINFRA 01/2011).

À **Disciplina de Histologia e Embriologia**, do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, representada pelos docentes **Prof. Assoc. Cláudio A. Casatti**, **Prof. Assoc. Edilson Ervolino**, **Profª. Assoc. Mariza A. Matsumoto** e **Profª. Ass. Drª. Alaíde Gonçalves**, pelas incontáveis oportunidades de crescimento pessoal e profissional, pelo aceite para realização do estágio-docência, monitorias voluntárias e aulas ministradas, que me permitiram viver e respirar histologia diariamente. Carinho, respeito e gratidão aos meus eternos mestres.

Aos docentes da **Disciplina de Anatomia**, do Departamento de Ciências Básicas da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Prof. Tit. José A. de Oliveira**, **Prof. Assoc. Roelf J. C. Rizzolo**, **Profª. Assoc. Roberta Okamoto** e **Prof. Ass. Dr. Paulo R.**

Botacin, pelo gratificante convívio diário e pelos inúmeros momentos de aprendizagem e apoio gentilmente oferecidos desde o curso de graduação.

Aos **servidores técnico-administrativos** do Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP e, em especial, ao **Davi B. de O. Müller**, supervisor da Seção Técnica de Pós-Graduação, pela disponibilidade, prontidão e boa vontade na resolução de todas as dúvidas e contratempos no decorrer do curso.

Ao **Departamento de Ciências Básicas** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa da chefe de departamento **Prof^a. Ass. Dr^a. Ana C. de M. S. Nakamune** e do vice-chefe de departamento **Prof. Assoc. Edilson Ervolino**, e aos seus **servidores técnico-administrativos**, em especial ao **André L. M. Piedade**, à **Eliseide M. F. S. Navega**, ao **Arnaldo C. dos Santos**, e ao **José A. G. Junqueira**, por todo o suporte oferecido nas mais diversas etapas deste curso, além da agradável convivência diária.

Aos meus companheiros de pós-graduação e aos colegas de departamento, graduandos e pós-graduandos, com os quais tive a honra de trabalhar e desfrutar momentos indescritíveis. Meus agradecimentos especiais ao doutorando **Gestter W. L. Tessarin**, por todas as conversas, científicas ou não, pelos conselhos e companhia durante as viagens e estadias em Botucatu; à mestranda **Jaqueline S. Hassumi**, pela ajuda gentilmente oferecida nas diversas etapas experimentais deste trabalho, além da amizade verdadeira que construímos; à pós-doutoranda **Claudia C. Bigueti**, e aos doutorandos **Fábio R. de S. Batista**, **Pedro G. Ferreira** e **Gabriel M. dos Santos**, pelos ensinamentos e auxílio durante a realização das microtomografias computadorizadas.

Aos meus familiares, desde os mais próximos aos mais distantes, pelo constante incentivo, apoio e torcida. Aos meus queridos avós **Esther O. Toro**, **Urbano T. Costa** (*in memoriam*), **Marli C. Jorge** e **Jaime Jorge**, por todas as orações e momentos inigualáveis que pude viver ao lado de vocês até hoje. Aos meus tios e primos **Josiane J. Fardin**, **Márcio Fardin**, **Thaís Fardin** e **Vinícius Fardin**, por estarem presentes em cada conquista e por me ajudarem a levantar após cada tropeço. Ao meu cunhado **Gustavo F. da Silva**, por me proporcionar as melhores reflexões acerca das mais diversas situações cotidianas, sempre com bom humor e inteligência. E por estarem ao meu lado em todos os momentos, aos grandes amigos **Desirée A. Caldeira**, **Diva G. Demarchi**, **Raquel L. Balesteros**, **Rafaela L. B. Érnica**, **Carolina C. S. Lacerda**, **Denis Contini**, **Márcio R. Contardi**, **Natalie B. Alvares**, **Marina S. Gonçalves**, **Ana M. V. Vasques** e **Juliana R. Becker**.

Enfim, meu profundo respeito aos **animais** desta pesquisa, por servirem à ciência com suas próprias vidas.

ΕΠÍΓΡΑΦΕ



“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

Leonardo da Vinci

RESUMO



TORO, L. F. **Avaliação do processo de reparo peri-implantar em ratas tratadas com dose oncológica ou dose osteoporótica de zoledronato.** 2019. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP.

RESUMO

Bisfosfonatos (BPs) são fármacos amplamente empregados no tratamento de condições que desencadeiam osteólise, atuando via inibição do processo de reabsorção óssea. Os BPs de maior potência, como o zoledronato, são utilizados para o controle da progressão de metástase óssea em neoplasias malignas osteotrópicas ou para o tratamento da osteoporose severa. Todavia, um dos seus efeitos adversos é a ocorrência da osteonecrose dos maxilares associada à terapia medicamentosa (ONM-M). Dentre os principais fatores de risco locais para a ONM-M destacam-se as intervenções odontológicas invasivas, como as cirurgias para instalação de implantes dentários osseointegráveis. Apesar do aumento no número de relatos clínicos de ONM-M após a instalação de implantes dentários em pacientes tratados com BPs, poucos são os estudos que visam compreender quais as alterações que desencadeiam esta condição. Diante disso, o objetivo deste estudo foi analisar o processo de reparo peri-implantar na tíbia de ratas tratadas com dose oncológica ou dose osteoporótica de zoledronato e avaliar a existência de correlação entre tal processo e a ocorrência de lesões osteonecróticas. Quarenta ratas (6 meses) foram distribuídas em dois experimentos: Experimento I: receberam injeções intraperitoneais (IP) de 0,45ml de solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,9% (grupo VEI-ONC, n=10) ou desta mesma solução acrescida de 100µg/Kg de zoledronato (grupo ZOL-ONC, n=10), a cada 4 dias, durante 8 semanas; Experimento II: receberam injeções IP de 0,45ml de NaCl 0,9% (grupo VEI-OST, n=10) ou desta mesma solução acrescida de 100µg/Kg de zoledronato (grupo ZOL-OST, n=10), a cada 28 dias, durante 24 semanas. Em ambos os experimentos, decorridas 16 semanas do início do protocolo medicamentoso, os animais foram submetidos à instalação de um implante de titânio nas tíbias direita e esquerda. A eutanásia foi efetuada aos 56 dias pós-operatórios. Após a dissecação e realização de um minucioso exame clínico da região peri-implantar, as tíbias esquerdas foram submetidas ao escaneamento microtomográfico para análise da microarquitetura e estruturação do tecido ósseo peri-implantar e, posteriormente, ao processamento histológico por desgaste para análise histométrica do contato osso/implante (COI), um parâmetro para avaliação da osseointegração dos implantes de titânio. As tíbias direitas foram submetidas ao processamento histológico convencional pós-desmineralização, e as secções histológicas

foram coradas pela hematoxilina-eosina para análise histopatológica dos tecidos peri-implantares e adjacentes, análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo total (PTO-T) e da porcentagem de tecido ósseo não vital (PTO-NV) na região peri-implantar, ou destinadas à reação imunoistoquímica para detecção e quantificação da proteína morfogenética óssea 2/4 (BMP2/4, *Bone morphogenetic protein 2/4*), do fator de transcrição relacionado à runt 2 (RUNX2, *Runt-related transcription factor 2*), da osteocalcina (OCN, *Osteocalcin*), e da fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP, *Tartrate-resistant acid phosphatase*). Os dados foram analisados estatisticamente com nível de significância de 5%. ZOL-ONC apresentou maior porcentagem de volume ósseo e menor porosidade total em relação aos grupos VEI-ONC e ZOL-OST, e maior PTO-T em relação ao grupo VEI-ONC. ZOL-ONC e ZOL-OST apresentaram maior PTO-NV e menor número de células RUNX2-positivas e OCN-positivas em relação aos grupos VEI-ONC e VEI-OST, respectivamente, além de extensas áreas de tecido ósseo não vital e focos de inflamação. O COI e o número de células BMP2/4-positivas e TRAP-positivas não diferiram entre os grupos, porém, estas últimas exibiram características de inatividade em ZOL-ONC e ZOL-OST. Deste modo, conclui-se que o tratamento com dose oncológica ou dose osteoporótica de zoledronato não afeta negativamente a osseointegração dos implantes de titânio e a quantidade de tecido ósseo peri-implantar, porém ocasiona o surgimento de áreas de tecido ósseo não vital e focos de inflamação, o que sugere que a instalação de implantes osseointegráveis deva ser vista com grande cautela em tais condições, pois pode constituir-se em um importante fator de risco local para o desencadeamento da ONM-M.

Palavras-chave: Difosfonatos. Implantes dentários. Osseointegração. Osteonecrose.

ABSTRACT



TORO, L. F. Evaluation of the peri-implant repair process in rats treated with oncologic dose or osteoporotic dose of zoledronate. 2019. 100 p. Dissertation (Master degree) - Institute of Biosciences, São Paulo State University, Botucatu/SP.

ABSTRACT

Bisphosphonates (BPs) are drugs widely used for the treatment of conditions that cause osteolysis, by inhibition of the bone resorption process. High potency BPs, such as zoledronate, are used to control the progression of bone metastasis in osteotropic malignant neoplasms or for the treatment of severe osteoporosis. However, one of its adverse effects is the occurrence of medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ). Among the main local risk factors for MRONJ are invasive dental procedures, such as surgeries for installation of osseointegratable dental implants. Despite the increased number of clinical reports of MRONJ after installation of dental implants in patients treated with BPs, there are few studies that aim to understand the changes triggering this condition. So, the objective of this study was to analyze the peri-implant repair process in the tibia of rats treated with oncologic dose or osteoporotic dose of zoledronate and to evaluate the existence of correlation between this process and the occurrence of osteonecrotic lesions. Forty female rats (6 months old) were distributed in two experiments: Experiment I: rats received intraperitoneal (IP) injections of 0.45ml of 0.9% sodium chloride (NaCl) solution (group VEI-ONC, n=10) or this same solution added by 100µg/Kg of zoledronate (group ZOL-ONC, n=10), every 4 days for 8 weeks; Experiment II: rats received IP injections of 0.45ml of 0.9% NaCl solution (group VEI-OST, n=10) or this same solution added by 100µg/Kg of zoledronate (group ZOL-OST, n=10), every 28 days for 24 weeks. In both experiments, 16 weeks after the beginning of drug protocol, all animals were submitted to installation of a titanium implant in both right and left tibiae. Euthanasia was performed at day 56 postoperatively. After dissection and a thorough clinical examination of the peri-implant area, left tibiae were submitted to microtomographic scanning for analysis of the microarchitecture and structuring of peri-implant bone tissue and, later, to ground-section histological processing for histometric analysis of the bone/implant contact (BIC), a parameter for evaluation of the osseointegration of titanium implants. The right tibiae were submitted to conventional histological processing after demineralization, and the histological sections were stained by hematoxylin-eosin for histopathological analysis of the peri-implant tissues and adjacencies, histometric analysis of the percentage of total bone tissue (PTBT) and the percentage of non-vital bone tissue (PNVBT) in the peri-implant area,

or intended for immunohistochemical reaction for detection and quantification of bone morphogenetic protein 2/4 (BMP2/4), runt-related transcription factor 2 (RUNX2), osteocalcin (OCN) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). Data were statistically analyzed at significance level of 5%. ZOL-ONC presented higher percentage of bone volume and lower total porosity in relation to groups VEI-ONC and ZOL-OST, and higher PTBT in relation to group VEI-ONC. Groups ZOL-ONC and ZOL-OST presented higher PNVBT and smaller number of RUNX2-positive cells and OCN-positive cells than groups VEI-ONC and VEI-OST, respectively, as well as extensive areas of non-vital bone tissue and foci of inflammation. BIC and the number of BMP2/4-positive cells and TRAP-positive cells did not differ amongst groups, however, these last cells exhibited features of inactivity in ZOL-ONC and ZOL-OST. Thus, it is concluded that the treatment with oncologic dose or osteoporotic dose of zoledronate does not negatively affects osseointegration of titanium implants and the amount of peri-implant bone tissue, but it does cause areas of non-vital bone tissue and inflammation foci, suggesting that installation of osseointegratable implants should be viewed with great caution in such conditions, since it may constitute an important local risk factor for the onset of MRONJ.

Keywords: Dental implants. Diphosphonates. Osseointegration. Osteonecrosis.

LISTAS



LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Estrutura molecular dos bisfosfonatos nitrogenados e esquema representativo da via do mevalonato no osteoclasto, com destaque para o local de atuação destes fármacos.....	29
FIGURA 2 -	Sequência de procedimentos clínicos para a instalação do implante de titânio na tíbia dos animais	43
FIGURA 3 -	Fluxograma ilustrativo dos procedimentos experimentais realizados no Experimento I para os grupos VEI-ONC e ZOL-ONC	44
FIGURA 4 -	Fluxograma ilustrativo dos procedimentos experimentais realizados no Experimento II para os grupos VEI-OST e ZOL-OST.....	44
FIGURA 5 -	Esquema representativo da ROI para as análises microtomográficas	51
FIGURA 6 -	Esquema representativo da ROI para as análises microscópicas	52
FIGURA 7 -	Peso corporal dos animais dos diferentes grupos ao longo de todo o período experimental	59
FIGURA 8 -	Resultados das análises microtomográficas para os diferentes parâmetros avaliados nos grupos experimentais	60
FIGURA 9 -	Aspecto microtomográfico da metáfise proximal da tíbia esquerda na região em que foi instalado o implante de titânio.....	61
FIGURA 10 -	Aspecto histopatológico dos tecidos peri-implantares nos diferentes grupos experimentais.....	63
FIGURA 11 -	Porcentagem de tecido ósseo total (PTO-T) e porcentagem de tecido ósseo não vital (PTO-NV) na região peri-implantar dos diferentes grupos experimentais.....	64
FIGURA 12 -	Contato osso/implante (COI) nos diferentes grupos experimentais	66
FIGURA 13 -	Padrão de imunomarcação para BMP2/4 nos tecidos peri-implantares dos diferentes grupos experimentais	70
FIGURA 14 -	Padrão de imunomarcação para RUNX2 nos tecidos peri-implantares dos diferentes grupos experimentais	71
FIGURA 15 -	Padrão de imunomarcação para OCN nos tecidos peri-implantares dos diferentes grupos experimentais	72
FIGURA 16 -	Padrão de imunomarcação para TRAP nos tecidos peri-implantares dos diferentes grupos experimentais	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%.....	porcentagem
<.....	menor
±.....	mais ou menos
°.....	grau
°C.....	grau Celsius
°GL	grau GL (Gay Lussac)
μA.....	microampère
μg/Kg.....	micrograma por quilograma
μm.....	micrômetro
ADA	Associação Americana de Odontologia, <i>American Dental Association</i>
ALE	Alemanha
ALP.....	fosfatase alcalina, <i>alkaline phosphatase</i>
AM.....	Amazonas, Brasil
AN	Antuérpia, Bélgica
ATP.....	adenosina trifosfato
BEL.....	Bélgica
BMP2/4.....	proteína morfogenética óssea 2/4, <i>bone morphogenetic protein 2/4</i>
BPs.....	bisfosfonatos
BRA	Brasil
BSA	soro albumina bovino, <i>bovine serum albumine</i>
BV/TV	porcentagem de volume ósseo, <i>bone tissue/tissue volum</i>
CA.....	Califórnia, Estados Unidos da América
CCAC	Conselho Canadense de Cuidado Animal, <i>Canadian Council on Animal Care</i>
cél/mm ²	célula por milímetro quadrado
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COI	contato osso/implante
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético, <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
EUA.....	Estados Unidos da América
FL	Flórida, Estados Unidos da América
FOA-UNESP	Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

g	grama
GO	Goiás, Brasil
HE.....	hematoxilina-eosina
IL1 β	interleucina 1 β , <i>interleukin 1β</i>
IL6	interleucina 6, <i>interleukin 6</i>
IP.....	intraperitoneal
IV	intravenosa
kV	quilovolt
M.....	molar
MD.....	Maryland, Estados Unidos da América
mg	miligrama
mg/Kg	miligrama por quilograma
ml.....	mililitro
mm.....	milímetro
mM	milimolar
mm ²	milímetro quadrado
MO.....	Missouri, Estados Unidos da América
MUBIO	Laboratório Multiusuário de Biotecnologia e Bioengenharia
NaCl.....	cloreto de sódio
NI.....	Niedersachsen, Alemanha
n ^o	número
OCN.....	osteocalcina, <i>osteocalcin</i>
ONM-M.....	osteonecrose dos maxilares associada à terapia medicamentosa
PBS	tampão fosfato-salino, <i>phosphate buffered-saline</i>
pH	potencial hidrogeniônico
Po(tot).....	porosidade total, <i>total porosity</i>
PR	Paraná, Brasil
PTO-NV	porcentagem de tecido ósseo não vital
PTO-T	porcentagem de tecido ósseo total
RANKL	ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa- β , <i>receptor activator of nuclear factor kappa-β ligand</i>
ROI	região de interesse, <i>region of interest</i>
rpm.....	rotação por minuto
RUNX2.....	fator de transcrição relacionado à runt 2, <i>runt-related transcription factor 2</i>

SP.....	São Paulo, Brasil
Tb.N.....	número de trabéculas ósseas, <i>trabecular number</i>
Tb.Sp	separação de trabéculas ósseas, <i>trabecular separation</i>
Tb.Th	espessura de trabéculas ósseas, <i>trabecular thickness</i>
TNF α	fator de necrose tumoral α , <i>tumoral necrosis factor α</i>
TRAP.....	fosfatase ácida resistente ao tartarato, <i>tartrate-resistant acid phosphatase</i>

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A -	Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FOA-UNESP	98
APÊNDICE B -	Diretrizes ARRIVE para pesquisa animal	99

SUMÁRIO



SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	27
2	OBJETIVOS	35
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	38
3.1.1	Protocolo de habituação dos animais	38
3.1.2	Anestesia geral	39
3.1.3	Protocolo medicamentoso	39
3.1.4	Instalação dos implantes de titânio.....	40
3.1.5	Grupos experimentais.....	41
3.1.5.1	<i>Experimento I</i>	<i>41</i>
3.1.5.2	<i>Experimento II.....</i>	<i>42</i>
3.1.6	Eutanásia e obtenção das amostras.....	42
3.2	PROCESSAMENTO MICROTOMOGRÁFICO DAS AMOSTRAS	44
3.3	PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO DAS AMOSTRAS.....	45
3.3.1	Preparado histológico por desgaste	45
3.3.2	Preparado histológico com desmineralização	46
3.3.2.1	<i>Coloração pela hematoxilina-eosina (HE)</i>	<i>47</i>
3.3.2.2	<i>Reação imunoistoquímica</i>	<i>47</i>
3.4	ANÁLISE DOS DADOS	49
3.4.1	Análise da condição geral de saúde dos animais e exame clínico das tíbias e da região peri-implantar	49
3.4.2	Análises microtomográficas	50
3.4.3	Análises microscópicas	51
3.4.3.1	<i>Análise histopatológica</i>	<i>53</i>
3.4.3.2	<i>Análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo total (PTO-T) e análise histométrica da porcentagem de tecido ósseo não vital (PTO-NV) na região peri-implantar</i>	<i>53</i>
3.4.3.3	<i>Análise histométrica do contato osso/implante (COI)</i>	<i>54</i>
3.4.3.4	<i>Análise imunoistoquímica</i>	<i>54</i>
3.4.4	Análise estatística	55
4	RESULTADOS	56

4.1	CONDIÇÃO GERAL DE SAÚDE DOS ANIMAIS E EXAME CLÍNICO DAS TÍBIAS E DA REGIÃO PERI-IMPLANTAR	57
4.1.1	Peso corporal dos animais	57
4.2	ANÁLISES MICROTOMOGRÁFICAS	58
4.3	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA.....	61
4.4	PORCENTAGEM DE TECIDO ÓSSEO TOTAL (PTO-T) E PORCENTAGEM DE TECIDO ÓSSEO NÃO VITAL (PTO-NV) NA REGIÃO PERI-IMPLANTAR	64
4.5	CONTATO OSSO/IMPLANTE (COI).....	64
4.6	ANÁLISE IMUNOISTOQUÍMICA	67
4.6.1	Imunomarcção para BMP2/4 nos tecidos peri-implantares.....	67
4.6.2	Imunomarcção para RUNX2 nos tecidos peri-implantares	67
4.6.3	Imunomarcção para OCN nos tecidos peri-implantares.....	68
4.6.4	Imunomarcção para TRAP nos tecidos peri-implantares	68
5	DISCUSSÃO	74
6	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	85
	APÊNDICES	97
	APÊNDICE A - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FOA-UNESP	98
	APÊNDICE B - Diretrizes ARRIVE para pesquisa animal	99

INTRODUÇÃO



1 INTRODUÇÃO

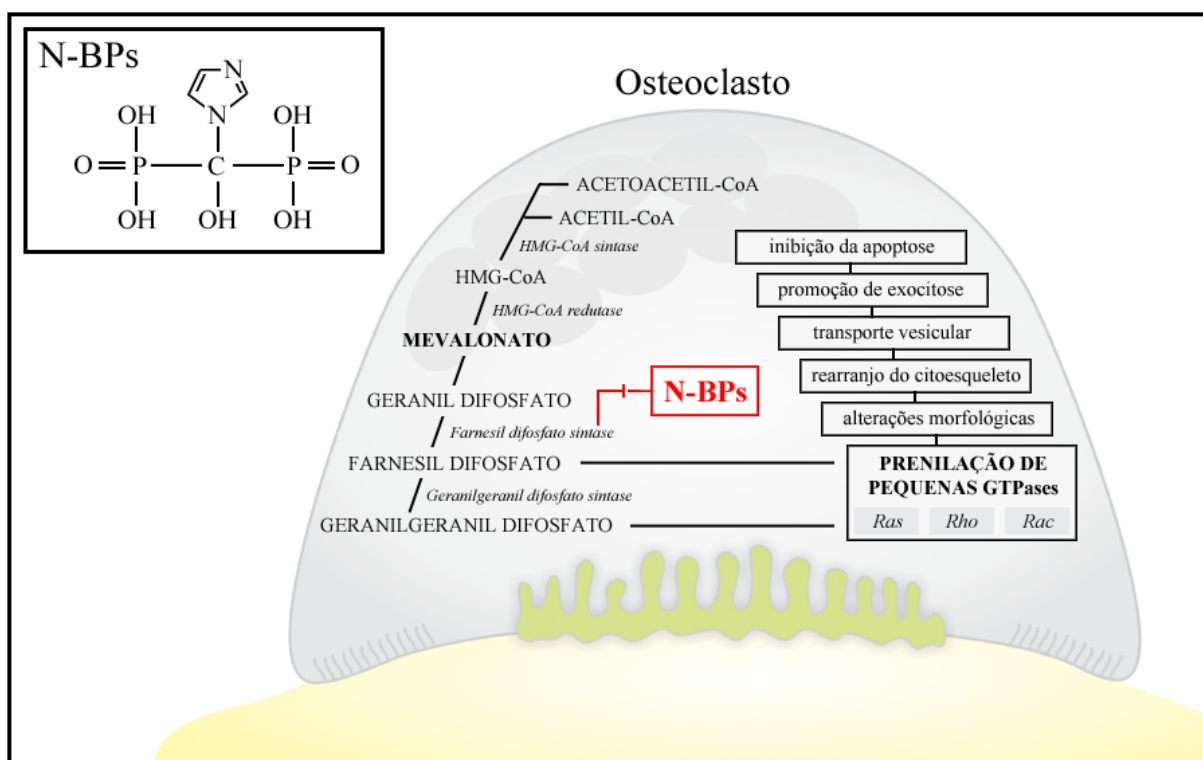
Os bisfosfonatos (BPs) consistem em uma linha de fármacos com potente ação inibitória sobre o processo de reabsorção óssea e que, deste modo, apresentam grande efetividade no tratamento de algumas osteopatias como osteoporose, doença de Paget, osteogênese imperfeita, mieloma múltiplo, paratireoidismo primário, dentre outras (DRAKE; CLARKE; KHOSLA, 2008). Além disso, os BPs mais potentes são comumente empregados como adjuvantes na terapia oncológica para o controle da progressão de metástase óssea, hipercalcemia e dor óssea em neoplasias malignas osteotrópicas, a exemplo de tumores de mama, próstata, pulmão e rim (DRAKE; CLARKE; KHOSLA, 2008).

Tais drogas são moléculas sintéticas análogas ao pirofosfato endógeno e que possuem dois grupamentos fosfatos ligados covalentemente a um carbono, onde estão ainda ligadas duas cadeias laterais, R1, que medeia a afinidade pelos cristais de hidroxiapatita e, R2, responsável pela potência e por suas principais propriedades farmacológicas (ROGERS et al., 2011). Uma forma de classificação dos BPs é baseada em sua via de administração, ou seja, oral ou intravenosa (IV). Outra maneira de classificação, a qual é mais utilizada, baseia-se em sua estruturação química (CHADHA et al., 2013). Assim, segundo sua composição e estruturação molecular, os BPs diferem-se uns dos outros por apresentarem ou não nitrogênio em sua cadeia lateral R2 (ROGERS et al., 2011), sendo que a presença ou a ausência desta molécula resulta em importantes alterações em seus mecanismos de ação (EBETINO et al., 2011) (FIGURA 1).

Dentre os BPs que não contêm nitrogênio estão: etidronato, clodronato e tiludronato. Estes fármacos são endocitados pelos osteoclastos, que os metabolizam, convertendo-os em uma molécula não funcional que compete com a adenosina trifosfato (ATP) no metabolismo energético da célula. O acúmulo intracelular dessas substâncias tem ação citotóxica e desencadeia a apoptose nos osteoclastos (EBETINO et al., 2011; ROGERS et al., 2011). Os BPs que contêm nitrogênio, por sua vez, são: pamidronato, neridronato, olpadronato, alendronato, ibandronato, risedronato e zoledronato. Estes alteram o metabolismo ósseo atuando pela inibição da via do mevalonato, através de sua interação e consequente inativação da enzima farnesil difosfato sintase (DUNFORD et al., 2001). A interrupção desta via ao nível da referida enzima impede a formação de farnesil difosfato e geranilgeranil difosfato, os quais são essenciais para prenilação de pequenas GTPases, dentre as quais estão Ras, Rho e Rac (LUCKMAN et al., 1998), alvos do efeito desta classe de BPs. A ausência de tais proteínas está relacionada com a inibição da osteoclastogênese (ABE et al., 2012), com a indução de

apoptose prematura em osteoclastos ativos e, especialmente, com significativas alterações na dinâmica do citoesqueleto destas células, impossibilitando o tráfego vesicular e a formação da zona clara e da zona pregueada nos osteoclastos, eventos essenciais para a interação da célula com a matriz óssea e para a formação do microambiente propício para o início da atividade reabsortiva, respectivamente (COXON; ROGERS, 2003; EBETINO et al., 2011; ORY et al., 2008; ROGERS et al., 2011) (FIGURA 1).

FIGURA 1 - Estrutura molecular dos bisfosfonatos nitrogenados e esquema representativo da via do mevalonato no osteoclasto, com destaque para o local de atuação destes fármacos.



Abreviação: N-BPs, bisfosfonatos nitrogenados. FONTE: Adaptado de Migliaccio; Brama; Spera (2007).

Dentre as reações adversas ocasionadas pelo uso dos BPs merece destaque, principalmente dentro da área odontológica, a osteonecrose dos maxilares associada à terapia medicamentosa (ONM-M), a qual tem sido observada cada vez com maior frequência em função da crescente utilização desta classe de fármacos (LUNGU et al., 2018) e também em razão do aumento significativo na expectativa de vida da população, de modo geral. A ONM-M é definida como a presença de osso exposto na região maxilofacial por um período maior do que oito semanas, em pacientes submetidos a tratamento prévio ou atual com droga antirreabsortiva e que não possuem história prévia de radioterapia nesta região (RUGGIERO et al., 2014). Além dos BPs, outros medicamentos com potente atividade antirreabsortiva têm

sido relacionados à ocorrência da ONM-M, como é o caso do Denosumab, um inibidor seletivo do ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa- β (RANKL, *Receptor activator of nuclear factor kappa- β ligand*) (KAJIZONO et al., 2015; O'HALLORAN; BOYD; SMITH, 2014; SIVOLELLA et al., 2013).

Ruggiero et al. (2014) classificaram a ONM-M da seguinte maneira: estágio I: osso necrótico exposto com ausência de dor e/ou sinais de infecção (assintomático); estágio II: osso necrótico exposto com presença de dor e/ou sinais de infecção (sintomático) e; estágio III: osso necrótico exposto com presença de dor e/ou sinais de infecção, juntamente com um ou mais dos seguintes sinais: fratura patológica, fístula oro-cutânea, envolvimento do seio maxilar ou extensão da necrose para a borda inferior ou ramo da mandíbula. Além disso, um estágio 0 precede os descritos anteriormente, no qual há ausência de osso exposto, no entanto, há evidências de sinais clínicos ou radiográficos de osteonecrose (RUGGIERO et al., 2014).

Ainda que as primeiras descrições de ONM-M tenham sido publicadas em 2003 (MARX, 2003; MIGLIORATI, 2003; WANG; GOODGER; POGREL, 2003), sua etiopatogenia é pobremente compreendida. Como a investigação dos fatores etiopatológicos apresenta limitações em estudos executados em humanos, atualmente os modelos experimentais em animais têm direcionado as pesquisas científicas, entretanto, em função de tais modelos e protocolos medicamentosos serem muito diversificados, os resultados mostram-se escassos, incongruentes e, muitas vezes, contraditórios. Além disso, atualmente é que as pesquisas epidemiológicas ganharam consistência e, com isso, os fatores de risco têm ficado cada vez mais evidentes (DODSON, 2015). Sendo assim, modelos experimentais em animais correlacionados aos principais fatores de risco para o desenvolvimento da ONM-M ainda são uma necessidade.

Dentre os supostos fatores etiopatológicos que atualmente são apontados como os desencadeadores da ONM-M estão: a potente supressão da atividade reabsortiva dos osteoclastos, o que resulta no acúmulo de microfraturas no tecido ósseo e, consequentemente, em áreas de tecido ósseo não vital, favorecendo o estabelecimento de infecção com subsequente aumento da necrose óssea; o potente efeito antiangiogênico dos BPs, o que resulta em necrose avascular do tecido ósseo; o favorecimento à infecção induzido pelos BPs, os quais aumentam a capacidade de adesão e colonização de bactérias ao tecido ósseo exposto; o efeito citotóxico dos BPs sobre várias linhagens de células, o que resulta na diminuição da capacidade de reparo, tanto dos tecidos moles, quanto dos tecidos duros da região bucomaxilofacial e; a disfunção local da resposta imunológica, o que compromete a resposta protetiva local e a reparação tecidual, concomitantemente (ALLEN; BURR, 2009;

RUGGIERO et al., 2014). Todavia, muitas são as hipóteses e poucas são as comprovações científicas (ALLEN; BURR, 2009). Assim, a limitada compreensão da etiopatogenia desta condição restringe sobremaneira a elaboração de protocolos para sua prevenção e tratamento, os quais não obedecem a uma conduta clínica padrão e mostram-se frequentemente falhos (ROSELLA et al., 2016; YAMACHIKA et al., 2015; YAMASHITA; MCCAULEY, 2012).

A ONM-M é uma condição menos comum em pacientes que fazem uso de BPs administrados por via oral, no entanto, em paciente que fazem uso de BPs pela via IV, como é o caso do zoledronato ou de sua associação com outros BPs, prescritos para a complementação da terapia oncológica, a incidência da ONM-M atinge de 1 a 12% dos pacientes, e como os BPs têm efeito cumulativo nos tecidos mineralizados, esta incidência pode atingir até 21% dos pacientes após o terceiro ano de uso destes medicamentos (GOMEZ FONT; MARTINEZ GARCIA; OLMOS MARTINEZ, 2008). Além disso, a administração anual IV de zoledronato em pacientes com osteoporose vem se tornando uma conduta terapêutica bastante utilizada na atualidade para o tratamento desta condição, especialmente em função de sua praticidade (SHIRAKI et al., 2017; YANG, Y. et al., 2015). Alguns casos de ONM-M relacionados a esta posologia medicamentosa já foram descritos, todavia, ainda existem grandes controversas (ATA-ALI et al., 2016; KATZ; ORDOVEZA, 2014; MINIELLO et al., 2015; PREIDL et al., 2014).

Otto et al. (2011), em um acurado estudo epidemiológico, reportaram que a ONM-M acomete com maior frequência o sexo feminino (73%), com idade avançada (em média 66 anos e uma variação entre 42-90 anos de idade), que fazem ou fizeram uso crônico de BPs administrados por via IV (96,8%), especificamente o zoledronato, ou este em associação com outros BPs. Há uma predileção pela ocorrência na mandíbula, especialmente na região dos pré-molares e molares (70,6%), e procedimentos odontológicos invasivos, como exodontias de dentes com comprometimento periodontal ou periapical e cirurgias orais menores, de modo geral, são tidos como os principais fatores desencadeadores da ONM-M (OTTO et al., 2011; WALTER et al., 2016).

Apesar da crescente valorização da odontologia nos últimos anos, a perda de elementos dentais ainda continua sendo uma realidade para muitos indivíduos, principalmente em decorrência da falta de acesso à informação, da precariedade nos atendimentos do sistema público de saúde, da sua condição socioeconômica, ou mesmo devido a mutilações provenientes de traumas ou ressecções cirúrgicas de lesões do complexo bucomaxilofacial (FERNÁNDEZ-BARRERA et al., 2016; KIM et al., 2015). Para suprir a necessidade de restabelecimento da função afetada nestes pacientes, há algumas décadas os implantes

dentários osseointegráveis vêm sendo considerados como o padrão ouro nas reabilitações de desdentados totais ou parciais, pois oferecem não apenas vantagens biológicas e funcionais quando comparados às próteses fixas e removíveis convencionais, mas também excelentes resultados a longo prazo, como documentado em estudos de acompanhamento por dez anos, que apontaram altas taxas de sucesso e sobrevida dos implantes em aproximadamente 95% dos casos (BOSSHARDT; CHAPPUIS; BUSER, 2017; BUSER; SENNERBY; BRUYN, 2017; NGUYEN; DRISCOLL; COLETTI, 2011).

Apesar de todos os benefícios já descritos, a instalação de implantes dentários, por si só, deve ser considerada como um procedimento odontológico invasivo, classificado dentro do grupo das cirurgias orais menores, e que pode ser uma opção de tratamento reabilitador muito comum em pacientes que fizeram ou fazem o uso de BPs, tendo em vista que as enfermidades que levam à necessidade de utilização de tais fármacos e a ausência de elementos dentais são características comuns em pacientes da terceira idade (CHADHA et al., 2013; WALTER et al., 2016). Assim, diante da necessidade de se trabalhar com maior segurança neste grupo de pacientes, torna-se cada vez mais pertinente questionar o risco de desenvolvimento da ONM-M em pacientes submetidos ao tratamento com BPs e que receberam implantes dentários antes, durante ou após a utilização destes medicamentos (DE FREITAS et al., 2016).

No ano de 2006, a Associação Americana de Odontologia (ADA, *American Dental Association*) alertou para o fato de que a instalação de implantes osseointegráveis ou o emprego de terapias regenerativas guiadas em pacientes tratados com BPs poderia aumentar o risco de ocorrência da ONM-M (ATA-ALI et al., 2016). Estudos clínicos evidenciaram o desenvolvimento de ONM-M como resultado pós-cirúrgico em pacientes que fizeram o uso de BPs, incluindo o zoledronato, na maioria dos casos, como adjuvantes ao tratamento oncológico e foram submetidos à instalação de implantes dentários (JACOBSEN et al., 2013; JUNQUERA; GALLEG0; PELAZ, 2011; LAZAROVICI et al., 2010; SVERZUT et al., 2012). Lazarovici et al. (2010) e Miniello et al. (2015) ainda reportaram a ocorrência de ONM-M em pacientes que fizeram uso de BPs de baixa potência relativa ou em pequenas concentrações para o tratamento da osteoporose e que também foram submetidos à instalação de implantes dentários. Porém, para alguns autores, o uso de BPs não pode ser considerado uma contra-indicação para a cirurgia de instalação dos implantes (FERLITO; LIARDO; PUZZO, 2011; MATTHEOS et al., 2013; SIEBERT et al., 2015).

Assim, devido a esta grande diversidade de achados clínicos disponíveis até então, pesquisas experimentais tornam-se cada vez mais necessárias para direcionarem o

entendimento a respeito da relação entre o uso de BPs, a instalação de implantes osseointegráveis e a ocorrência da ONM-M, além de nortear o estabelecimento de protocolos e condutas clínicas seguras a serem aplicadas nestes pacientes. Porém, a escassez de estudos experimentais que envolvam especificamente tais condições ainda é uma realidade dentro deste campo da pesquisa odontológica. Ademais, a não utilização de um modelo experimental adequado e padronizado, reunindo os principais fatores de risco para o desenvolvimento da ONM-M, e as análises dos resultados evidentemente direcionadas apenas para a quantidade de tecido ósseo neoformado ao redor do implante em detrimento da avaliação histopatológica dos tecidos peri-implantares, a qual estaria intimamente associada à ocorrência ou ao risco de desenvolvimento da ONM-M, são os achados mais frequentes na literatura (ABTAHI et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; KIM et al., 2013).

O processo de reparo dos tecidos peri-implantares deve ser encarado como algo dinâmico, complexo e que está diretamente relacionado ao sucesso clínico dos implantes osseointegráveis (INSUA et al., 2017). Com a utilização das ligas de titânio para a confecção dos implantes dentários, Brånemark et al. (1977) introduziram o termo osseointegração para caracterizar a união anatômico-funcional entre a superfície do implante e o tecido ósseo adjacente, analisada através de microscopia de luz. Desde então, muitos autores têm utilizado apenas este conceito para descrever o sucesso ou o fracasso do tratamento reabilitador (AYAN et al., 2012; DUNDAR et al., 2017; YAMAN et al., 2012). Porém, deve-se atentar ao fato de que outros quesitos são imprescindíveis para que o processo de reparo peri-implantar seja considerado bem sucedido, sendo que a osseointegração é simplesmente mais um deles. Assim, não apenas a extensão da área de contato osso/implante, mas a quantidade de tecido ósseo neoformado em espessura ao redor das espiras do componente metálico e, principalmente, a qualidade deste tecido, no que diz respeito às suas características celulares, estruturais e à sua vitalidade, são aspectos que merecem destaque durante a avaliação do processo de reparação tecidual (CHADHA et al., 2013; DE FREITAS et al., 2016). A instalação de implantes de titânio em tibia tem sido o modelo animal clássico para a avaliação do reparo peri-implantar, especificamente da osseointegração, em virtude das facilidades operatórias, da previsibilidade do curso de reparação tecidual e da similaridade estrutural e taxa de remodelação que o tecido ósseo desta região, especialmente o esponjoso, apresenta com o tecido ósseo alveolar (GLOSSEL et al., 2010).

Fatores relacionados ao implante, como o diâmetro e o tipo de tratamento de superfície, parecem ter influência direta sobre o processo de reparo ósseo peri-implantar (BRINK; MERAW; SARMENT, 2007; FRANCHI et al., 2004). Além disso, algumas

condições sistêmicas desfavoráveis podem interferir negativamente durante a neoformação óssea ao redor dos implantes de titânio, destacando-se: doenças pré-existentes, como o diabetes e a osteoporose; tratamentos prévios ou concomitantes com irradiação na região de cabeça e pescoço; pacientes fumantes e; a utilização de vários tipos de medicamentos, incluindo os antirreabsortivos, como é o caso dos BPs (CHADHA et al., 2013; WALTER et al., 2016). Tais medicamentos, por suas características farmacológicas, reduzem significativamente a taxa de remodelação óssea e exercem potente efeito citotóxico sobre as células dos tecidos moles e duros ao redor dos implantes, prolongando o tempo de exposição óssea e favorecendo a instalação de infecções, o que dificulta sobremaneira o processo de reparação tecidual (ANAVI-LEV et al., 2013; ATA-ALI et al., 2016; BASSO et al., 2013; REID; BOLLAND; GREY, 2007). Com isso, complicações mais severas, como a peri-implantite, e que estão relacionadas a condições inflamatórias e infecciosas agudas, têm alto potencial para favorecer o desencadeamento da ONM-M (WALTER et al., 2016). Todavia, mais estudos ainda são necessários para elucidar efetivamente a patogênese desta condição.

Diante do exposto, verifica-se que em decorrência do envelhecimento da população, a utilização de BPs será cada vez mais frequente, por se tratar de uma das únicas alternativas terapêuticas para algumas osteopatias comuns na terceira idade. A instalação de implantes dentários também é um procedimento odontológico cuja prevalência tem aumentado à medida que o seu sucesso clínico e suas vantagens sobre as próteses fixas e removíveis convencionais têm ficado cada vez mais evidentes, tornando-se um tratamento comum em pacientes de idade avançada, sejam eles desdentados totais ou parciais. Deste modo, pacientes que fazem ou fizeram uso crônico de BPs e que necessitam de um tratamento reabilitador com implantes osseointegráveis serão cada vez mais comuns no consultório odontológico. Por isso, elucidar como se dá a evolução do processo de reparo peri-implantar durante ou após o tratamento com dose oncológica ou dose osteoporótica de BPs e estabelecer sua relação com a ocorrência de eventos osteonecróticos, a fim de que se possa trabalhar de modo seguro, além de possibilitar o desenvolvimento de terapias curativas e/ou preventivas para tal condição, é algo que se faz necessário.

CONCLUSÃO



6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos para o modelo experimental utilizado no presente estudo, pode-se concluir que:

- o tratamento com dose oncológica ou dose osteoporótica de zoledronato não afeta negativamente a osseointegração dos implantes de titânio e a quantidade de tecido ósseo neoformado durante o processo de reparo peri-implantar.
- o zoledronato ocasiona o surgimento de extensas áreas de tecido ósseo não vital na região peri-implantar e adjacências, além de focos de inflamação no tecido conjuntivo desta região, porém, tais aspectos mostram-se mais exacerbados no tratamento com a dosagem oncológica, o que indica um efeito dose-dependente deste fármaco.
- o tratamento com potentes drogas antirreabsortivas, como o zoledronato, na dosagem oncológica ou até mesmo na dosagem osteoporótica, está relacionado com a ocorrência de lesões osteonecróticas, o que sugere que a instalação de implantes osseointegráveis deva ser vista com grande cautela em tais condições, pois pode constituir-se em um importante fator de risco local para o desencadeamento da ONM-M.

REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS

- ABE, K. et al. Effects of bisphosphonates on osteoclastogenesis in RAW264.7 cells. **Int. J. Mol. Med.**, v. 29, n. 6, p. 1007-1015, 2012.
- ABTAHI, J. et al. Effect of local vs. systemic bisphosphonate delivery on dental implant fixation in a model of osteonecrosis of the jaw. **J. Dent. Res.**, v. 92, n. 3, p. 279-283, 2013.
- ABUMOUSSA, S. et al. Local delivery of a zoledronate solution improves osseointegration of titanium implants in a rat distal femur model. **J. Orthop. Res.**, v. 36, n. 12, p. 3294-3298, 2018.
- AGAÇAYAK, K. S. et al. Experimental investigation of relationship between trauma and bisphosphonate-related osteonecrosis. **Niger. J. Clin. Pract.**, v. 17, n. 5, p. 559-564, 2014.
- AGHALOO, T. L. et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. **J. Bone Miner. Res.**, v. 26, n. 8, p. 1871-1882, 2011.
- AGUIRRE, J. I. et al. Oncologic doses of zoledronic acid induce osteonecrosis of the jaw-like lesions in rice rats (*Oryzomys palustris*) with periodontitis. **J. Bone Miner. Res.**, v. 27, n. 10, p. 2130-2143, 2012.
- ALLEN, M. R.; BURR, D. B. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 67, n. 5, p. 61-70, 2009.
- ANAVI-LEV, K. et al. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaws: clinic-pathological investigation and histomorphometric analysis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.**, v. 115, n. 5, p. 660-666, 2013.
- ANDREOLLO, N. A. et al. Rat's age versus human's age: what is the relationship? **ABCD Arq. Bras. Cir. Dig.**, v. 25, n. 1, p. 49-51, 2012.
- ATA-ALI, J. et al. What is the impact of bisphosphonate therapy upon dental implant survival? A systematic review and meta-analysis. **Clin. Oral Impl. Res.**, v. 27, n. 2, p. e38-46, 2016.
- AYAN, M. et al. The effect of systemically administered zoledronic acid on the osseointegration of dental implants. **Oral Dis.**, v. 18, n. 8, p. 802-808, 2012.
- BARBA-RECREO, P. et al. Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 42, n. 6, p. 744-750, 2014.
- BARBA-RECREO, P. et al. Adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma for preventive treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in a murine model. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 43, n. 7, p. 1161-1168, 2015.

- BASSO, F. G. et al. Zoledronic acid inhibits human osteoblast activities. **Gerontology**, v. 59, n. 6, p. 534-541, 2013.
- BI, Y. et al. Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. **Am. J. Pathol.**, v. 177, n. 1, p. 280-290, 2010.
- BIENZ, M.; SAAD, F. Management of bone metastases in prostate cancer: a review. **Curr. Opin. Support. Palliat. Care**, v. 9, n. 3, p. 261-267, 2015.
- BOSSHARDT, D. D.; CHAPPUIS, V.; BUSER, D. Osseointegration of titanium, titanium alloy and zirconia dental implants: current knowledge and open questions. **Periodontol.** 2000, v. 73, n. 1, p. 22-40, 2017.
- BRÅNEMARK, P. I. et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, v. 16, p. 1-132, 1977.
- BRINK, J.; MERAW, S. J.; SARMENT, D. P. Influence of implant diameter on surrounding bone. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 18, n. 5, p. 563-568, 2007.
- BUSER, D.; SENNERBY, L.; BRUYN, H. Modern implant dentistry based on osseointegration: 50 years of progress, current trends and open questions. **Periodontol.** 2000, v. 73, n. 1, p. 7-21, 2017.
- ÇANKAYA, M. et al. The effects of chronic zoledronate usage on the jaw and long bones evaluated using RANKL and osteoprotegerin levels in an animal model. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 42, n. 9, p. 1134-1139, 2013.
- CARMAGNOLA, D. et al. Histological findings on jaw osteonecrosis associated with bisphosphonates (BONJ) or with radiotherapy (ORN) in humans. **Acta Odontol. Scand.**, v. 71, n. 6, p. 1410-1417, 2013.
- CHADHA, G. K. et al. Osseointegration of dental implants and osteonecrosis of the jaw in patients treated with bisphosphonate therapy: a systematic review. **J. Oral Implantol.**, v. 39, n. 4, p. 510-520, 2013.
- CHING, H. S. et al. Expression of odontogenic and osteogenic markers in DPSCs and SHED: a review. **Curr. Stem Cell Res. Ther.**, v. 12, n. 1, p. 71-19, 2017.
- CÓRDOVA, L. A. et al. Severe compromise of preosteoblasts in a surgical mouse model of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 44, n. 9, p. 1387-1394, 2016.
- COXON, F. P.; ROGERS, M. J. The role of prenylated small GTP-binding proteins in the regulation of osteoclast function. **Calcif. Tissue Int.**, v. 72, n. 1, p. 80-84, 2003.
- DAYISOYLU, E. H. et al. The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 42, n. 11, p. 1475-1480, 2013.

- DAYISOYLU, E. H. et al. Does an alkaline environment prevent the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? An experimental study in rats. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.**, v. 117, n. 3, p. 329-334, 2014.
- DE ANTONI, C. C. et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw, osteoradionecrosis, and osteomyelitis: A comparative histopathological study. **Braz. Oral Res.**, v. 32, p. e23, 2018.
- DE BARROS SILVA, P. G. et al. Immune cellular profile of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Oral Dis.**, v. 22, n. 7, 649-657, 2016.
- DE FREITAS, N. R. et al. Bisphosphonate treatment and dental implants: a systematic review. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 21, n. 5, p. e644-651, 2016.
- DIKICIER, E. et al. Effect of systemic administered zoledronic acid on osseointegration of a titanium implant in ovariectomized rats. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 42, n. 7, p. 1106-1111, 2014.
- DIKICIER, S. et al. Radiodensitometric study for evaluation of bone mineral density around dental implants after zoledronic acid treatment in ovariectomized rats. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 22, n. 3, p. e377-382, 2017.
- DODSON, T. B. The frequency of medication-related osteonecrosis of the jaw and its associated risk factors. **Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.**, v. 27, n. 4, p. 509-516, 2015.
- DRAKE, M. T.; CLARKE, B. L.; KHOSLA, S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. **Mayo Clin. Proc.**, v. 83, n. 9, p. 1032-1045, 2008.
- DUNDAR, S. et al. Effects of local and systemic zoledronic acid application on titanium implant osseointegration: and experimental study conducted on two surface types. **J. Craniofac. Surg.**, v. 28, n. 4, p. 935-938, 2017.
- DUNFORD, J. E. et al. Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase in vitro and inhibition of bone resorption in vivo by nitrogen-containing bisphosphonates. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 296, n. 2, p. 235-242, 2001.
- EBETINO, F. H. et al. The relationship between the chemistry and biological activity of the bisphosphonates. **Bone**, v. 49, n. 1, p. 20-33, 2011.
- ERVOLINO, E. et al. Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. **Bone**, v. 120, p. 101-113, 2019.
- FAVERANI, L. P. et al. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. **Clin. Oral Investig.**, v. 22, n. 1, p. 255-265, 2018.
- FERLITO, S.; LIARDO, C.; PUZZO S. Bisphosphonates and dental implants: a case report and a brief review of literature. **Minerva Stomatol.**, v. 60, n. 1-2, p. 75-81, 2011.

- FERNÁNDEZ-BARRERA, M. A. et al. Contribution of prosthetic treatment considerations for dental extractions of permanent teeth. **J. Am. Coll. Dent.**, v. 82, n. 2, p. 25-30, 2016.
- FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. **Biomed. Res. Int.**, v. 2015, p. 421746, 2015.
- FRANCHI, M. et al. Early detachment of titanium particles from various different surfaces of endosseous dental implants. **Biomaterials**, v. 25, n. 12, p. 2239-2246, 2004.
- FROMIGUÉ, O.; BODY, J. J. Bisphosphonates influence the proliferation and the maturation of normal human osteoblasts. **J. Endocrinol. Invest.**, v.25, p. 539-546, 2002.
- FUTAMI, T. et al. Tissue response to titanium implants in the rat maxilla: ultrastructural and histochemical observations of the bone-titanium interface. **J. Periodontol.**, v. 71, n. 2, p. 287-298, 2000.
- GARCIA, V. G. et al. Effect of the concentration of phenothiazine photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy on bone loss and the immune inflammatory response of induced periodontitis in rats. **J. Periodontal Res.**, v. 49, n. 5, p. 584–594, 2014.
- GLOSSEL, B. et al. Review of dental implant rat research models simulating osteoporosis or diabetes. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 25, n. 3, p. 516-524, 2010.
- GOMEZ FONT, R.; MARTINEZ GARCIA, M. L.; OLMOS MARTINEZ, J. M. Osteochemonecrosis of the jaws due to bisphosphonate treatments. Update. **Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal**, v. 13, n. 5, p. e318-324, 2008.
- GONG, X. et al. Skeletal site-specific effects of zoledronate on in vivo bone remodeling and in vitro BMSCs osteogenic activity. **Sci. Rep.**, v. 7, p. 36129, 2017.
- GROSS, C. et al. Osteoclast profile of medication-related osteonecrosis of the jaw secondary to bisphosphonate therapy: a comparison with osteoradionecrosis and osteomyelitis. **J. Transl. Med.**, v. 15, n. 1, p. 128, 2017.
- HABIB, Z. A. Bisphosphonates in the treatment of osteoporosis: a review of skeletal safety concerns. **Expert. Rev. Endocrinol. Metab.**, v. 12, n. 1, p. 59-71, 2017.
- HAO, Y. et al. Zoledronic acid suppresses callus remodeling but enhances callus strength in an osteoporotic rat model of fracture healing. **Bone**, v. 81, p. 702-711, 2015.
- HAYMAN, A. R. Tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and the osteoclast/immune cell dichotomy. **Autoimmunity**, v. 41, n. 3, p. 218-223, 2008.
- HUANG, X. et al. Dose-dependent inhibitory effects of zoledronic acid on osteoblast viability and function in vitro. **Mol. Med. Rep.**, v. 13, n. 1, p. 613-622, 2016.
- INSUA, A. et al. Basis of bone metabolism around dental implants during osseointegrations and peri-implant bone loss. **J. Biomed. Mater. Res. A.**, v. 105, n. 7, p. 2075-2089, 2017.

- JACOBSEN, C. et al. Osteopathology induced by bisphosphonates and dental implants: clinical observations. **Clin. Oral Investig.**, v. 17, n. 1, p. 167-175, 2013.
- JANG, H. W.; KIM, J. W.; CHA, I. H. Development of animal model for bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). **Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg.**, v. 37, n. 1, p. 18, 2015.
- JUNQUERA, L.; GALLEGU, L.; PELAZ, A. Multiple myeloma and bisphosphonate-related osteonecrosis of the mandible associated with dental implants. **Case Rep. Dent.**, v. 2011, p. 568246, 2011.
- KAJIZONO, M. et al. Incidence and risk factors of osteonecrosis of the jaw in advanced cancer patients after treatment with zoledronic acid or denosumab: a retrospective cohort study. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 38, n. 12, 1850-1855, 2015.
- KATZ, J.; ORDOVEZA, P. A. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) associated with a once-yearly IV infusion of zoledronic acid (Reclast) 5 mg: two cases and review of the literature. **Quintessence Int.**, v. 45, n. 8, p. 685-690, 2014.
- KELLESARIAN, S. V. et al. Effect of local zoledronate delivery on osseointegration: a systematic review of preclinical studies. **Acta Odontol. Scand.**, v. 75, n. 7, p. 530-541, 2017.
- KHAJURIA, D. K. et al. Novel therapeutic intervention for osteoporosis prepared with strontium hydroxyapatite and zoledronic acid: in vitro and pharmacodynamic evaluation. **Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.**, v. 71, p. 698-708, 2017.
- KIKUIRI, T. et al. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. **J. Bone Miner. Res.**, v. 25, n. 7, p. 1668-1679, 2010.
- KILKENNY, C. et al. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. **PloS Biol.**, v. 8, n. 6, p. e1000412, 2010.
- KIM, I. et al. The effect of systemically administered bisphosphonates on bony healing after tooth extraction and osseointegration of dental implants in the rabbit maxilla. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 28, n. 5, p. 1194-1200, 2013.
- KIM, J. W. et al. Biomarkers for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Clin. Implant Dent. Relat. Res.**, v. 18, n. 2, p. 281-291, 2016.
- KIM, S. G. et al. Retrospective Evaluation of treatment planning for dental implant. **J. Am. Coll. Dent.**, v. 82, n. 2, p. 25-30, 2015.
- KIMMEL, D. B. Mechanism of action, pharmacokinetic and pharmacodynamic profile, and clinical applications of nitrogen-containing bisphosphonates - Review. **J. Dent. Res.**, v. 86, n. 11, p. 1022-1033, 2007.
- KOCH, F. P. et al. Zoledronate, ibandronate and clodronate enhance osteoblast differentiation in a dose dependent manner - a quantitative in vitro gene expression analysis of Dlx5, Runx2, OCN, MSX1 and MSX2. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, v. 39, p. 562-569, 2011.

- LAZAROVICI, T. S. et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw associated with dental implants. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 68, n. 4, p. 790-796, 2010.
- LI, J. P. et al. Early healing of hydroxyapatite-coated implants in grafted bone of zoledronate acid-treated osteoporotic rabbits. **Periodontol.**, v. 85, n. 2, p. 308-316, 2014.
- LUCKMAN, S. P. et al. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. **J. Bone Miner. Res.**, v. 13, n. 4, p. 581-589, 1998.
- LUNGU A. E. et al. Observational study of the bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws. **Clujul Med.**, v. 91, n. 2, p. 209-215, 2018.
- MADA, E. Y. et al. Effects of green tea and bisphosphonate association on dental socket repair of rats. **Arch. Oral Biol.**, v. 75, p. 1-7, 2017.
- MANZANO-MORENO, F. J. et al. Bisphosphonate modulation of the gene expression of different markers involved in osteoblast physiology: possible implications in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. **Int. J. Med. Sci.**, v. 15, n. 4, p. 359-367, 2018.
- MARDAS, N. et al. The effect of SLActive surface in guided bone formation in osteoporotic-like conditions. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 22, n. 4, p. 406-415, 2011.
- MARTELLI, S. J. R. et al. Comparison of effects of zoledronic acid and clodronate on the bone structure: imacionological and histomorphometrical study in vivo: **J. Oral Pathol. Med.**, v. 46, n. 8, p. 632-636, 2017.
- MARUOTTI, N. et al. Bisphosphonates: effects on osteoblast. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, v. 68, n. 7, p. 1013-1018, 2012.
- MARX, R. E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 61, n. 9, p. 115-117, 2003.
- MARX, R. E. et al. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 63, n. 11, p. 1567-1575, 2005.
- MATHEUS, H. R. et al. Cisplatin chemotherapy impairs the peri-implant bone repair around titanium implants: an in vivo study in rats. **J. Clin. Periodontol.**, v. 45, n. 2, p. 241-252, 2018.
- MATTHEOS, N. et al. Dental implant placement with bone augmentation in a patient who received intravenous bisphosphonate treatment for osteoporosis. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 79, p. d2, 2013.
- MERGONI, G. et al. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. **Support. Care Cancer**, v. 24, n. 2, p. 807-813, 2016.

- MIGLIACCIO, S.; BRAMA, M.; SPERA, G. The differential effects of bisphosphonates, SERMS (selective estrogen receptor modulators), and parathyroid hormone on bone remodeling in osteoporosis. **Clin. Interv. Aging.**, v. 2, n. 1, p. 55-64, 2007.
- MIGLIORATI, C. A. Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. **J. Clin. Oncol.**, v. 21, n. 22, p. 4253-4254, 2003.
- MINIELLO, T. G. et al. Osteonecrosis related to once-yearly zoledronic acid treatment in an osteoporotic patient after dental implant. **Braz. Dent. J.**, v. 26, n. 1, p. 86-88, 2015.
- MORITA, M. et al. Elevation of pro-inflammatory cytokine levels following anti-resorptive drug treatment is required for osteonecrosis development in infectious osteomyelitis. **Sci. Rep.**, v. 7, p. 46322, 2017.
- NAGAOKA, Y. et al. Mevalonates restore zoledronic acid-induced osteoclastogenesis inhibition. **J. Dent. Res.**, v. 94, n. 4, p. 594-601, 2015.
- NAIDU, A. et al. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 106, n. 1, p. 5-13, 2008.
- NGUYEN, C. T.; DRISCOLL, C. F.; COLETTI, D. P. Reconstruction of a maxillectomy patient with an osteocutaneous flap and implant-retained fixed dental prosthesis: a clinical report. **J. Prosthet. Dent.**, v. 105, n. 5, p. 292-295, 2011.
- NOCITI JÚNIOR, F. H. et al. Intermitent cigarette smoke inhalation may affect bone volume around titanium implants in rats. **J. Periodontol.**, v. 73, n. 9, p. 982-987, 2002.
- OGLE, O. E. Implant surface material, design, and osseointegration. **Dent. Clin. North Am.**, v. 59, n. 2, p. 505-520, 2015.
- O'HALLORAN, M.; BOYD, N. M.; SMITH, A. Denosumab and osteonecrosis of the jaws - the pharmacology, pathogenesis and a report of two cases. **Aust. Dent. J.**, v. 59, n. 4, 516-519, 2014.
- OLEJNIK, C. Doses effects of zoledronic acid on mineral apatite and collagen quality of newly-formed bone in the rat's calvaria defect. **Bone**, v. 89, p. 32-39, 2016.
- OLIVEIRA, D. et al. Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone quality in osteoporotic animals. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 25, n. 1, p. 42-52, 2017.
- OLIVEIRA, M. A. et al. The effects of zoledronic acid and dexamethasone on osseointegration of endosseous implants: histological and histomorphometrical evaluation in rats. **Clin. Oral Implants Res.**, v. 26, n. 4, p. e17-21, 2015.
- ORY, S. et al. Rho GTPases in osteoclasts: orchestrators of podosome arrangement. **Eur. J. Cell. Biol.**, v. 87, n. 8-9, p. 469-477, 2008.
- OTTO, S. et al. Osteonecrosis of the jaw as a possible rare side effect of annual bisphosphonate administration for osteoporosis: A case report. **J. Med. Case Rep.**, v. 5, p. 477, 2011.

- OUANOUNOU, A.; HASSANPOUR, S.; GLOGAUER, M. The influence of systemic medications on osseointegration of dental implants. **J. Can. Dent. Assoc.**, v. 82, p. g7, 2016.
- PABST, A. M. et al. The influence of bisphosphonates on viability, migration, and apoptosis of human oral keratinocytes--in vitro study. **Clin. Oral Investig.**, v. 16, n. 1, p. 87-93, 2012.
- PACHECO, V. N. et al. Nitrogen-containing bisphosphonate therapy: assessment of the alveolar bone structure in rats - a blind randomized controlled trial. **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 96, n. 4, p. 255-260, 2015.
- PALIN, L. P. et al. Daily melatonin administration improves osseointegration in pinealectomized rats. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 26, p. e20170470, 2018.
- PARK, R. et al. Effect of alendronate on bone remodeling around implant in the rat. **J. Adv. Prosthodont.**, v. 5, n. 4, p. 374-381, 2013.
- PLOTKIN, L. I.; MANOLAGAS, S. C.; BELLIDO, T. Dissociation of the pro-apoptotic effects of bisphosphonates on osteoclasts from their anti-apoptotic effects on osteoblasts/osteocytes with novel analogs. **Bone**, v. 39, n. 3, p. 443-452, 2006.
- PREIDL, H. M. et al. Osteonecrosis of the jaw in a Crohn's disease patient following a course of bisphosphonate and adalimumab therapy: a case report. **BMC Gastroenterol.**, v. 14, p. 6, 2014.
- QI, M. et al. Effect of zoledronate acid treatment on osseointegration and fixation of implants in autologous iliac bone grafts in ovariectomized rabbits. **Bone**, v. 50, n. 1, p. 119-127, 2012.
- REID, I. R.; BOLLAND, M. J.; GREY, A. B. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? **Bone**, v. 41, n. 3, p. 318-320, 2007.
- RITTEL, D.; DOROGOY, A.; SHEMTOV-YONA, K. Modeling the effect of osseointegration on dental implant pullout and torque removal tests. **Clin. Implant Dent. Relat. Res.**, v. 20, n. 5, p. 683-691, 2018.
- ROGERS, M. J. et al. Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. **Bone**, v. 49, n. 1, p. 34-41, 2011.
- ROSELLA, D. et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw: Clinical and practical guidelines. **J. Int. Soc. Prev. Community Dent.**, v. 6, n. 2, p. 97-104, 2016.
- ROSINI, S. et al. Understanding bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: uses and risks. **Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.**, v. 19, n. 17, p. 3309-3317, 2015.
- RUGGIERO, S. L. et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaws--2014 update. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 72, n. 10, p. 1938-1956, 2014.
- RUGGIERO, S. L. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an overview. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1218, p. 38-46, 2011.

- RUSSELL, R. G. Bisphosphonates: the first 40 years. **Bone**, v. 49, n. 1, p. 2-19, 2011.
- SALAZAR, V. S.; GAMER, L. W.; ROSEN, V. BMP signaling in skeletal development, disease and repair. **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 12, n. 4, p. 203-21, 2016.
- SARACINO, S. et al. Exposing human epithelial cells to zoledronic acid can mediate osteonecrosis of jaw: an in vitro model. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 41, n. 10, p. 788-792, 2012.
- SCHEPER, M. A. et al. Effect of zoledronic acid on oral fibroblasts and epithelial cells: a potential mechanism of bisphosphonate-associated osteonecrosis. **Br. J. Haematol.**, v. 144, n. 5, p. 667-676, 2009.
- SENEL, F. C. et al. Jaw bone changes in rats after treatment with zoledronate and pamidronate. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v. 109, n. 3, p. 385-391, 2010.
- SHIRAKI, M. et al. Safety, pharmacokinetics, and changes in bone metabolism associated with zoledronic acid treatment in japanese patients with primary osteoporosis. **J. Bone Miner. Metab.**, v. 35, n. 6, p. 675-684, 2017.
- SIEBERT, T. et al. Immediate implant placement in a patient with osteoporosis undergoing bisphosphonate therapy: 1-year preliminary prospective study. **J. Oral Implantol.**, v. 41, p. 360-365, 2015.
- SILVA, P. G. et al. Effect of different doses of zoledronic acid in establishing of bisphosphonate related osteonecrosis. **Arch. Oral Biol.**, v. 60, n. 9, p. 1237-1245, 2015.
- SIROLLI, M. et al. Influence of piezosurgery on bone healing around titanium implants: a histological study in rats. **Braz. Dent. J.**, v. 27, n. 3, p. 278-283, 2016.
- SIVOLELLA, S. et al. Denosumab and anti-angiogenetic drug-related osteonecrosis of the jaw: an uncommon but potentially severe disease. **Anticancer Res.**, v. 33, n. 5, p. 1793-1797, 2013.
- STATKIEVICZ, C. et al. Photomodulation multiple sessions as a promising preventive therapy for medication-related osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in rats. **J. Photochem. Photobiol. B.**, v. 184, p. 7-17, 2018.
- SVERZUT, C. E. et al. Mandibular bisphosphonate-related osteonecrosis after dental implant rehabilitation: a case report. **Implant Dent.**, v. 21, n. 6, p. 449-453, 2012.
- TORO, L. F. et al. Application of autologous platelet-rich plasma on tooth extraction site prevents occurrence of medication-related osteonecrosis of the jaws in rats. **Sci. Rep.**, v. 9, n. 1, p. 22, 2019.
- TSUBOI, K. et al. Effects of drug discontinuation after short-term daily alendronate administration on osteoblasts and osteocytes in mice. **Histochem. Cell Biol.**, v. 146, n. 3, p. 337-350, 2016.

- TÜRKER, M. et al. Histological and biomechanical effects of zoledronate on fracture healing in an osteoporotic rat tibia model. **Eklem Hastalik Cerrahisi**, v. 27, n. 1, p. 9-15, 2016.
- UBAIDUS, S. et al. FGF23 is mainly synthesized by osteocytes in the regularly distributed osteocytic lacunar canalicular system established after physiological bone remodeling. **J. Electron. Microsc.** (Tokyo), v. 58, n. 6, p. 381-392, 2009.
- VAN POZNAK, C. H. et al. American Society of Clinical Oncology executive summary of the clinical practice guideline update on the role of bone-modifying agents in metastatic breast cancer. **J. Clin. Oncol.**, v. 29, n. 9, p. 1221-1227, 2011.
- VIMALRAJ, S. et al. Runx-2: structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation. **Int. J. Biol. Macromol.**, v. 78, p. 202-208, 2015.
- VOHRA, F. et al. Efficacy of systemic bisphosphonate delivery on osseointegration of implants under osteoporotic conditions: lessons from animal studies. **Arch. Oral Biol.**, v. 59, n. 9, p. 912-920, 2014.
- WALTER, C. et al. Dental implants in patients treated with antiresorptive medication – a systematic literature review. **Int. J. Implant Dent.**, v. 2, n. 1, p. 9, 2016.
- WALTER, C. et al. Bisphosphonates affect migration ability and cell viability of HUVEC, fibroblasts and osteoblasts in vitro. **Oral Dis.**, v. 17, n. 2, p. 194-199, 2011.
- WANG, J.; GOODGER, N. M.; POGREL, M. A. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. **J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 61, n. 9, p. 1104-1107, 2003.
- WEBER, J. B. B. et al. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. **J. Biomed. Opt.**, v. 22, n. 5, p. 58001, 2017.
- WEN, D. et al. Anatomic site variability in rat skeletal uptake and desorption of fluorescently labeled bisphosphonate. **Oral Dis.**, v. 17, n. 4, p. 427-432, 2011.
- YAMACHIKA, E. et al. Treatment of Osteonecrosis of the Jaw. **J. Craniofac. Surg.**, v. 26, n. 7, p. e575-577, 2015.
- YAMAMOTO-SILVA, F. P. et al. Ultrastructural and immunohistochemical study of early repair of alveolar sockets after the extraction of molars from alendronate-treated rats. **Microsc. Res. Tech.**, v. 76, n. 6, p. 633-640, 2013.
- YAMAN, F. et al. Effects of systemic zoledronic Acid administration on osseointegration of hydroxyapatite-coated and resorbable blast material surface implants in rabbit models. **Int. J. Oral Maxillofac. Implants**, v. 27, n. 6, p. 1443-1447, 2012.
- YAMASHITA, J.; MCCAULEY, L. K. Antiresorptives and osteonecrosis of the jaw. **J. Evid. Based Dent. Pract.**, v. 12, n. 3 Suppl, p. 233-247, 2012.
- YANG, H. et al. A novel model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in rats. **Int. J. Clin. Exp. Pathol.**, v. 8, n. 5, p. 5161-5167, 2015.

YANG, Y. et al. Effect of zoledronic acid on vertebral marrow adiposity in postmenopausal osteoporosis assessed by MR spectroscopy. **Skeletal Radiol.**, v. 44, n. 10, p. 1499-1505, 2015.

YING, G. et al. Effect of a local, one time, low-dose injection of zoledronic acid on titanium implant osseointegration in ovariectomized rats. **Arch. Med. Sci.**, v. 12, n. 5, p. 941-949, 2016.

YOGUI, F. C. et al. A SERM increasing the expression of the osteoblastogenesis and mineralization-related proteins and improving quality of bone tissue in an experimental model of osteoporosis. **J. Appl. Oral Sci.**, v. 26, p. e20170329, 2018.

ZHANG, X. et al. Bis-enoxin blocks alveolar bone resorption in rats ovariectomy-induced osteoporosis. **Mol. Med. Rep.**, v. 17, n. 2, p. 3232-3238, 2018.