

FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ANA CAROLINA PERES
ANDRESSA CATERINE LOPES DA SILVA

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO TRATAMENTO DA
OSTEONECROSE DOS MAXILARES INDUZIDA PELO USO DE
BIFOSFONATOS EM RATOS

VOLTA REDONDA

2019

FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO TRATAMENTO DA
OSTEONECROSE DOS MAXILARES INDUZIDA PELO USO DE
BIFOSFONATOS EM RATOS**

Monografia apresentada ao Curso de Odontologia do Centro Universitário de Volta Redonda, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Odontologia.

Alunos: Ana Carolina Peres

Andressa Caterine L. da Silva

Orientadora: Máira Tavares de Faria

Coorientador: Rodrigo Cesar C. Freitas

VOLTA REDONDA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Bibliotecária: Alice Tacão Wagner - CRB 7/RJ 4316

P434a Peres, Ana Carolina.

Avaliação microbiológica do tratamento da osteonecrose dos maxilares induzida pelo uso de bifosfonatos em ratos. / Ana Carolina Peres; Andressa Caterine Lopes da Silva. – Volta Redonda: UniFOA, 2019.

49 p. II

Orientador (a): Maíra Tavares de Faria

Monografia (TCC) – UniFOA / Curso de Odontologia, 2019.

1. Odontologia - TCC. 2. Oncologia. 3. Terapia fotodinâmica. 4. Osteonecrose - arcada ósseo-dentária – disfosfonatos. I. Faria, Maíra Tavares de. II. Centro Universitário de Volta Redonda. III. Título.

CDD 617 6



FOLHA DE APROVAÇÃO



Trabalho de Conclusão do Curso intitulado: “Avaliação microbiológica do tratamento da osteonecrose induzida pelo uso de bifosfonatos em ratos”

Elaborado por: Ana Carolina Peres

Andressa Caterine Lopes da Silva

E apresentado publicamente perante a Banca Avaliadora, como parte dos requisitos para conclusão do Curso de Odontologia.

Aprovada em 03 de Dezembro de 2019.

Banca Avaliadora:

.....
Prof^a Mestre Máira Tavares de Faria

.....
Prof^o Doutor Rodrigo César de Carvalho Freitas

.....
Prof^a Mestre Danúcia da Silva Vilela

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho aos nossos pais, que nos incentivaram, apoiaram, aconselharam e nos deram todo o amor necessário para que o nosso sonho de nos tornarmos cirurgiões-dentistas fosse realizado. A nossa orientadora e amiga Mestre Maíra Tavares de Faria que compartilhou conosco seu conhecimento, fazendo com que este trabalho agregasse valores para nossa vida profissional e pessoal. Aos nossos professores e amigos que contribuíram para a conclusão deste trabalho.

Ana Carolina Peres

Andressa Caterine Lopes da Silva

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pelas oportunidades dadas a mim e por nunca me desamparar. A minha mãe e ao meu pai por todo amor e carinho, por me apoiarem e abdicarem de tantas coisas para que meu sonho se tornasse realidade. A minha avó, que é essencial em minha vida e que se preocupou comigo todos os dias em que estive longe, me dando forças para prosseguir em minha caminhada até aqui. A minha orientadora, Mestre Maíra Tavares de Faria por quem tenho profunda admiração, por todos ensinamentos, paciência e dedicação ao longo desses anos. E a todos que contribuíram para que esse sonho se concretizasse.

Ana Carolina Peres

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as bênçãos alcançadas, por todas as oportunidades que me foram dadas e por estar comigo em todos os momentos. À minha mãe Elda Maria de Souza Lopes da Silva e ao meu pai Sergio Ribeiro da Silva, por me amarem e não medirem esforços para realização dos meus sonhos, vocês são fundamentais em minha vida. Compartilho com meu irmão Igor Mateus o mérito desta conquista. E por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de algum modo em minha formação.

Andressa Caterine Lopes da Silva

RESUMO

Os bifosfonatos são medicamentos antirreabsortivos, utilizados em diversas patologias ósseas médicas, com uma meia-vida farmacológica que pode durar de meses a anos. Quando ativo no organismo, combinado a procedimentos odontológicos invasivos, poderá causar uma isquemia óssea crônica. As osteonecroses são lesões de difícil controle e que podem levar a infecções graves em região bucal, dificultando seu tratamento. Algumas terapias não cirúrgicas, como o laser de baixa potência associado à terapia fotodinâmica, têm sido utilizadas para trazer ao paciente uma diminuição do quadro infeccioso, dor, assim como a exposição óssea, entretanto, as mesmas apresentam um custo ainda alto aos pacientes. O objetivo dessa pesquisa foi a avaliação da ação microbiológica do LED na osteonecrose dos maxilares induzida pelo uso de bifosfonato em ratos, comparando-o com a terapia fotodinâmica com laser. Foi realizada uma pesquisa experimental de caráter exploratório com 10 ratos Wistar, que receberam doses semanais de ácido zolêndrônico, seguidos de exodontia para indução da osteonecrose. Após oito semanas de acompanhamento, os ratos foram tratados com quatro diferentes protocolos (controle com solução salina, antibióticoterapia, terapia fotodinâmica com laser de baixa potência e terapia fotodinâmica com luz de LED) por 14 dias consecutivos. Para a análise total de bactérias foram delimitados 3 momentos (antes, durante e após o tratamento) no qual foram feitas coletas de amostras orais do local da osteonecrose e posteriormente foram analisadas microbiologicamente por cultura de bactérias totais. Na análise microscópica foi possível confirmar a presença de osso desvitalizado. Através da análise microbiológica não foi possível obter diferenças estatísticas significantes nos diferentes tipos de tratamento utilizados. Por se tratar da primeira fase de um estudo, com um número amostral reduzido, não foi possível chegar a resultados significativos, sendo necessária a continuidade com um número maior de ratos.

Palavras-chave: Oncologia; Osteonecrose da arcada ósseodentária associada a difosfonatos, terapia fotodinâmica.

ABSTRACT

Biphosphonates are anti-resortive drugs used in several medical bone pathologies, which has a pharmacological half-life that can last from months to years. When this drug is active in the body, associated with invasive dental procedures, it can cause a chronic bone ischemia that calls osteonecrosis. Osteonecrosis is a difficult pathology to control and it may cause a severe infection in oral cavity, making it difficult to treat. Some non-surgical therapies have been used to treat this pathology, like Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, that brings to patients a decrease in infection, pain and bone exposure. However, lasertherapy is an expensive treatment. The aim of this study is to evaluate the microbiological effect of Light Emitting Diode on osteonecrosis induced by bisphosphonate in rats, comparing it with photodynamic laser therapy. An exploratory research was conducted with 10 Wistar rats, which received weekly doses of zoledronic acid, followed by dental extraction to induce osteonecrosis. After eight weeks of follow-up, rats were treated with four different protocols (saline control, antibiotic therapy, photodynamic laser therapy and photodynamic LED therapy) for 14 consecutive days. For the bacterial analysis, three moments were delimited (before, during and after treatment). Oral samples were collected from the osteonecrosis site and prepared in lab for a total bacteria count. The microscopic analysis confirmed the presence of devitalized bone. The microbiological analysis did not show a statistical difference between the groups of treatment. Since this is the phase one of a study, with a reduced amount of samples, it was not possible to reach significant results, requiring continuity with a larger number of rats.

Keywords: Medical Oncology; Biphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw; Photochemotherapy.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AlGaAs	Alumínio-gálio-arsenieto
ANT	Antes do tratamento
AZ	Ácido Zolendrônico
BF	Bifosfonato
BHI	Brain Heart Infusion Agar
CEUA	Comitê de ética no Uso de Animais
COBEA	Sociedade Brasileira de Ciência de Animais Laboratoriais
DPS	Depois do tratamento
DRT	Durante o tratamento
NIH	Instituto Nacional de Saúde
OMIB	Osteonecrose dos Maxilares Induzida por Bifosfonatos
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UniFOA	Centro Universitário de Volta Redonda
%	Porcentagem

LISTA DE ANEXOS

Anexo A	Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais.....	47
---------	---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Bifosfonatos	13
2.2 Osteonecrose dos Maxilares Induzida por Bifosfonatos.....	14
2.3 Osteomielite em Osteonecrose.....	15
2.4 Tratamento da OMIB.....	15
2.5 Avaliações Antimicrobianas em Osteonecrose.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
4 RESULTADOS.....	30
5 DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	42
7 REFERÊNCIAS.....	43
ANEXOS	49

1 INTRODUÇÃO

Os bifosfonatos são uma classe de medicamentos utilizados em larga escala em doenças que afetam o metabolismo ósseo e estão associadas à reabsorção excessiva como: osteoporose, câncer de mama, próstata, pulmão e mieloma múltiplo. Mais frequentemente são utilizados em doenças que afetam o metabolismo ósseo e estão associadas à reabsorção excessiva como: osteoporose, câncer de mama, próstata, pulmão e mieloma múltiplo (GEGLER et al., 2006; BARLT, TRESCKOW e BARLT, 2007).

Através de ação antiosteoclástica e antiangiogênica, os bifosfonatos atuam inibindo a reabsorção e diminuindo a remodelação óssea. Em nível celular, atuam sobre os osteoclastos alterando sua viabilidade e bioviabilidade de seu progenitor. Já em nível molecular modulam a função dos osteoclastos, reagindo como um receptor de superfície ou com uma enzima intracelular (RUGGIERO et al., 2004).

Um efeito adverso importante da terapia com bifosfonatos é a osteonecrose dos ossos maxilares. A Osteonecrose dos Maxilares induzida por bifosfonatos possui como característica osso exposto em região de mandíbula ou maxila que persiste por mais de 8 semanas, em paciente sem história de terapia de radiação prévia ou doença metastática nos maxilares e com atual tratamento ou anterior utilizando agentes anti angiogênicos (YAROM et al., 2007; RUGGIERO et al., 2014).

Devido ao risco elevado do desenvolvimento da lesão óssea nos maxilares, os fabricantes, como exemplo a Novartis, sugerem que o paciente passe por um tratamento odontológico antes do início da utilização do Zometa[®]. O risco acumulativo do ácido zolendrônico é maior que os outros tipos de bifosfonatos, alcançando 1% no primeiro ano de tratamento, porém aumenta para 21% em três anos (BAMIAS et al., 2005; CALDAS, PONTES, ANTUNES, 2008).

Trata-se de uma condição irreversível e limitante que inicialmente poderá formar um sequestro ósseo, entretanto, na maioria dos casos seu tratamento é paliativo (RIBEIRO et al., 2011). São empregados alguns tratamentos nas lesões de OMIB, como a antibioticoterapia, suspensão do tratamento com BF, laserterapia, uso de enxaguatórios bucais, terapia em câmara hiperbárica e desbridamento cirúrgico.

Entretanto, não há a resolução do quadro clínico em alguns casos (BROZOWSKI et al., 2012).

Por apresentar uma exposição óssea em meio bucal, sob a presença de microorganismos, a lesão pode facilmente desenvolver uma osteomielite como infecção secundária, levando a um quadro purulento e álgico (RUGGIERO et al., 2004; ANTONI et al., 2018).

O objetivo dessa pesquisa é avaliar a ação microbiológica de três diferentes tipos de tratamento: antibióticoterapia, laserterapia e LEDterapia na osteonecrose induzida pelo uso de bisfosfonato em ratos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bifosfonatos

Os bifosfonatos são uma classe de medicamentos utilizados em larga escala na medicina atual em diversos seguimentos: osteologia, ortopedia, cirurgia, hematologia e particularmente em oncologia. Mais frequentemente são utilizados em doenças que afetam o metabolismo ósseo e estão associadas à reabsorção excessiva como: osteoporose, câncer de mama, próstata, pulmão e mieloma múltiplo (GEGLER et al., 2006; BARLT, TRESCKOW e BARLT, 2007).

Através de ação antiosteoclástica e antiangiogênica, os bifosfonatos atuam inibindo a reabsorção e diminuindo a remodelação óssea. Em nível celular, atuam sobre os osteoclastos alterando sua viabilidade e bioviabilidade de seu progenitor. Já em nível molecular modulam a função dos osteoblastos, reagindo como um receptor de superfície ou com uma enzima intracelular (RUGGIERO et al., 2004).

Os bifosfonatos são análogos sintéticos do pirofosfato inorgânico e apresentam em sua estrutura química dois grupamentos fosfato ligados covalentemente a um carbono central, acrescidos de duas cadeias denominadas genericamente de R1 e R2. A primeira delas é responsável pelas propriedades farmacocinéticas e químicas dos BF, além de conferir, em conjunto com os grupamentos fosfato, alta afinidade ao tecido ósseo. Já a cadeia R2 determina o mecanismo de ação farmacológico e a potência antirreabsortiva. O medicamento possui alta afinidade pela hidroxiapatita, principal componente do tecido ósseo, com meia vida que pode durar de meses a anos (JUNIOR; CASADO; BARBOZA, 2007; BARIN et al., 2016).

Os BF são divididos em gerações, aos quais suas propriedades antirreabsortivas se potencializam. A primeira geração inclui o etidronato e clodronato, a segunda compreende os aminobifosfonatos, como o alendronato e o pamidronato, e a terceira geração é representada pelo risedronato e o zoledronato. Estes ainda são divididos em dois subgrupos, de acordo com a ausência (etidronato) e a presença (alendronato, zoledronato, risedronato) de nitrogênio nas suas cadeias laterais. A associação entre pamidronato e zoledronato têm demonstrado maior desenvolvimento da OMIB (BARIN et al., 2016).

Já é bem estabelecido pela literatura que, assim como outros medicamentos anti reabsortivos, o ácido zolendrônico (Zometa[®], Novartis) está relacionado com o risco de osteonecrose dos maxilares, por ser um dos mais potentes inibidores de reabsorção óssea conhecidos até o momento. Por ser infundido de forma intravenosa, apresenta um risco ainda maior de desenvolvimento da osteonecrose, estando altamente relacionado de acordo com os casos relatados na literatura (MARX; CILLO; ULLOA, 2007; SOARES et al., 2018). De acordo Bamias et al. (2005) o risco no primeiro ano de uso é de 1%, aumentando para 21% em três anos de uso.

2.2 Osteonecrose dos Maxilares induzida por Bifosfonatos

A OMIB possui como característica osso exposto em região de maxilares que persiste por mais de 8 semanas, em paciente sem história de terapia de radiação prévia ou doença metastática nos maxilares e com atual tratamento ou anterior utilizando agentes anti angiogênicos (YAROM et al., 2007; RUGGIERO et al., 2014).

A fisiopatogenia da osteonecrose ainda é incerta. Sabe-se que há uma alteração no processo de remodelação óssea, principalmente na inibição de osteoclastos, associado a diminuição da vascularização local (ALLEN; BURR, 2009).

Tem sido relatado na literatura o acometimento de lesões de OMIB em pacientes que fazem uso de bifosfonatos por tempo prolongado, seguido intervenções odontológicas iatrogênicas, principalmente após extrações dentárias (FLORES et al., 2016).

Fatores de risco como potência do fármaco, tempo de uso, cirurgias dento-alveolares e fatores sistêmicos como: idade, raça, doenças sistêmicas como anemia, contribuem para o aparecimento da OMIB (NETO; GOUVEIA, 2012).

A extração dentária mostrou-se a principal causa de OMIB, seguido de instalação de implantes, doenças periodontais, trauma por próteses mal adaptadas e lesões que aparecem espontaneamente (NOZARI, 2016).

De acordo com Faria (2017) é importante que o cirurgião dentista realize todos os procedimentos odontológicos necessários, principalmente envolvendo cicatrização óssea, como exodontias e tratamento periodontal, uma vez que o medicamento irá

inibir o processo de reparação. Após o uso da medicação, deverá ser realizada uma avaliação individualizada e evitados procedimentos invasivos.

2.3 Osteomielite em Osteonecrose

Por apresentar uma exposição óssea em meio bucal, sob a presença de microorganismos, a lesão pode facilmente desenvolver uma osteomielite como infecção secundária, levando a um quadro purulento e álgico (RUGGIERO et al., 2004; ANTONI et al., 2018).

Foram realizados estudos em animais que indicam que a presença de inflamação e infecção, associado ao uso de antirreabsortivos sistêmicos são suficientes para induzir a OMIB (AGHALOO et al., 2011; AGUIRRE et al., 2012).

Alguns trabalhos realizados relatam o papel das infecções bacterianas, sendo estas mais importantes na OMIB do que na osteorradionecrose (HELLSTEIN; MAREK, 2005; LUGASSY et al., 2004).

São apontadas colonizações por *Actinomyces*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp* e por bactérias originárias da flora bucal. (BOONYAPAKORN et al., 2008; RUGGIERO; FANTASIA; CARLSON, 2006).

2.4 Tratamento da OMIB

Por ser uma doença de patogenia ainda incerta, associadas a diferentes fármacos e quadros clínicos pessoais, a OMIB apresenta na literatura diversas formas de tratamento individualizados a cada caso, como a antibioticoterapia, suspensão do tratamento com bifosfonatos, laserterapia, uso de enxaguatórios bucais, terapia em câmara hiperbárica e debridamento cirúrgico. Entretanto, não há a resolução do quadro clínico em alguns casos (BROZOSKI et al., 2012).

Os antibióticos inovaram o tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias e assim reduziram mundialmente as taxas de morbidade e mortalidade associadas a infecções bacterianas. Porém, o mau uso desses fármacos, assim como

seu uso recorrente, acelera o processo de resistência das bactérias contra os antibióticos (COSTA; JUNIOR, 2017). Fatores como a falta de diagnóstico da doença infecciosa, fármacos falsificados, utilização de antibióticos de largo espectro, dentre outros, auxiliam para o surgimento da resistência microbiana (LOUIE; BELL, 2002).

A antibioticoterapia se faz necessária em quadros agudos, com supuração. Em infecções leves será realizado um protocolo com amoxicilina 500mg de 6 em 6 horas ou 8 em 8 horas por 10 dias, sendo a manutenção feita de 12 em 12 horas. Já em infecções mais graves pode ser utilizada a associação de amoxicilina com clavulanato de potássio 500mg de 6 em 6 horas e metronidazol 500mg de 8 em 8 horas (SALDANHA et al., 2012).

O uso da terapia fotodinâmica possui vantagens como a baixa probabilidade de desenvolvimento de resistência microbiana e a ausência de morte celular, quando comparadas ao uso dos agentes antimicrobianos habituais (GUANABARA; MOURA; SANTOS, 2016). São utilizadas substâncias com propriedades fotossensibilizadoras nos tecidos biológicos, ativadas pela presença de luz, com o objetivo de desinfetar as regiões contaminadas. Células consideradas alvo da terapia fotodinâmica são coradas com o fotossensibilizador e irradiadas com luz, resultando na morte celular (MESQUITA et al., 2013).

Para que a ação antimicrobiana seja eficaz, a terapia fotodinâmica irá depender da presença de oxigênio, luz e do fotossensibilizador biologicamente estável e fotoquimicamente eficaz, que possua baixa toxicidade às células normais, seletividade pela célula-alvo e deve ser administrado de forma local/tópica, com tempo ideal, irradiado com luz em dose e comprimento de onda adequada, utilizando-se fibra ótica e ponta difusora (SILVA, 2015).

Alguns dos fotossensibilizadores mais utilizados em patologias bucais são azul de metileno, azul de toluidina, cristal de violeta enquanto a fonte de luz é proveniente de aparelhos de laser de baixa potência. O uso de diodos emissores de luz tem se tornado viável, possibilitando uma redução significativa do custo do tratamento (MACHADO, 2000).

Almeida et al. (2007) avaliou os efeitos da terapia fotodinâmica na progressão da doença periodontal induzida em ratos. Foi utilizado o azul de metileno (100 µg/mL) para corar a área a ser tratada e a mesma foi irradiada com laser ($\lambda=685\text{nm}$ e

P=0,05W) pelo tempo de 120 s. Puderam ser observados nos dados histológicos uma grande diferença na extensão da área inflamatória do tecido gengival e menor perda óssea nos exames radiográficos, levando os autores a concluir o efeito benéfico do tratamento.

Chan e Lai em 2003, tentaram criar um protocolo na aplicação da terapia fotodinâmica frente a bactérias periodontopatogênicas e utilizaram o azul de metileno a 0,01% e três diferentes fontes de luz. O melhor efeito bactericida foi obtido na combinação do fotossensibilizador com o laser diodo.

Vescovi et al. (2008) em sua pesquisa constatou o efeito benéfico da laserterapia quando aplicada nos tecidos orais, através da sua ação antimicrobiana e bioestimuladora, influenciando na proliferação celular e causando a regeneração óssea. Foram submetidos à bioestimulação a laser 14 pacientes. Desses, 9 relataram sucesso clínico (ausência de sintomas de infecção, dor, osso exposto ou fístula), e 3 relataram melhora apenas na sintomatologia, com seguimento entre 4 e 7 meses.

Rossato (2016) realizou um estudo, no qual foi possível observar maior reepitelização nas bordas da lesão, crescimento de anexos cutâneos e avanço no processo de diferenciação do tecido conjuntivo nos grupos tratados com Ledterapia. Desta forma, os achados qualitativos sugerem um efeito positivo do tratamento no processo de reparo.

2.5 Avaliações Antimicrobianas em Osteonecrose

Foram detectados em todos os pacientes com OMIB estudados a presença da *Actinomyces* spp, demonstrando uma associação entre a presença de bactérias desse gênero e a patologia (HANSEN et al., 2006; LEE et al., 2011; CASO et al., 2012).

Badros et al., (2006), Dannemann et al., (2006) e Wongchuensoontorn et al., (2009) em análise histológica, utilizaram a cultura microbiológica para detecção dos microrganismos envolvidos com as lesões de OMIB. Descreveram, além de *Actinomyces* spp, a presença dos gêneros *Peptostreptococcus* spp, *Bacteroides melaninogenicus* *Streptococcus* spp, *Actinomyces israelii*, *Bacteroides fragilis* e *Enterococcus faecal*.

Na literatura, existem trabalhos estudando o perfil microbiológico da osteonecrose. Pode ser observada que a maior população é de bactérias presentes na microbiota bucal, especialmente as periodontopatogênicas (RUGGIERO; FANTASIA; CARLSON, 2006; BOONYAPAKORN et al., 2008; SEDGHIZADEH et al., 2008; LIMA et al., 2017).

Foi constatado o efeito benéfico da laserterapia quando aplicada nos tecidos orais, através da sua ação antimicrobiana e bioestimuladora, influenciando na proliferação celular e causando a regeneração óssea (VESCOVI et al., 2008).

A terapia fotodinâmica apresenta um efeito antimicrobiano importante nas osteonecroses, diminuindo a incidência de infecções e por sua vez, as prescrições antibióticas (SILVA, 2015).

Em um estudo realizado por Statkiewicz (2016), 29 ratas induzidas à osteonecrose em região oral após administração com zolendronato associada a exodontia posterior, foram tratadas com laserterapia e terapia fotodinâmica em diferentes grupos. Após os tratamentos, concluiu-se que a terapia fotodinâmica é o método mais eficaz para evitar a osteonecrose dos maxilares, quando comparado à laserterapia.

A fototerapia com LED, ledterapia, é um tratamento que utiliza o LED energia luminosa que se comporta em ondas de fluxo de partículas denominadas fótons, através de equipamentos com cristais semicondutores. Esse tipo de terapia, tem demonstrado uma boa resposta no processo de cicatrização do tecido, atuando na proliferação e maturação celular, produção de tecido de granulação, proliferação de fibroblastos e macrófagos, promoção da angiogênese, além de efeitos antimicrobianos, analgésicos e anti-inflamatórios com comprimento de onda específicos (FERREIRA et al, 2013; ROSSATO, 2016).

Em um estudo realizado por Rossato (2016) com luz de LED em feridas epiteliais de pele de ratas, houve uma melhora qualitativa na reepitelização, diferenciação de tecido conjuntivo, além de proliferação de anexos cutâneos.

Poucos artigos estudaram o uso da Ledterapia na Odontologia. Campos (2014) estudou o efeito do LED em reimplantes dentários de ratos. Os ratos que foram

irradiados com LED a 940nm, uma dose total de 4J mostraram áreas de neoformação óssea, tecido de granulação e reparo do ligamento periodontal, enquanto o grupo que não recebeu a radiação, apresentou áreas de necrose óssea. Com isso, nos leva a pensar em uma possível utilização nos casos de osteonecrose dos maxilares mediada pelo uso dos bifosfonatos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA. Foi pesquisa experimental de caráter exploratório baseados nos *guideline* para cuidados e uso de animais em laboratórios do Instituto Nacional de Saúde (NIH), assim como o da Sociedade Brasileira de Ciência de Animais Laboratoriais (COBEA).

Essa pesquisa faz parte da pesquisa piloto da tese de Doutorado em Clínicas Odontológicas da professora e orientadora do trabalho.

1. Modelo da Pesquisa

a. Animais

Foram utilizados 12 ratos Wistar (*Rattus norvegicus, albinus*) machos com média de idade de 8 semanas de idade, pesando entre 250-400g do biotério do Centro Universitário de Volta Redonda – UniFOA, Volta Redonda, Brasil. Os animais ficaram durante 7 dias em adaptação (D1-D7), alojados em caixas plásticas revestidas com cama de madeira natural autoclavada (3 ratos em cada caixa, separados aleatoriamente em grupos G1 a G4 – Tabela 1), em um ambiente climatizado com 12 horas de iluminação diária em ciclo claro/escuro, a uma temperatura de 21 a 30° C. Foram alimentados com ração padrão do biotério e com acesso ilimitado a água potável filtrada. As gaiolas eram limpas por um funcionário do biotério e suas águas eram trocadas 2 vezes por semana durante toda a pesquisa.

Os animais foram pesados 1 vez por semana para controle, desde o primeiro dia de experimento (Figura 1).

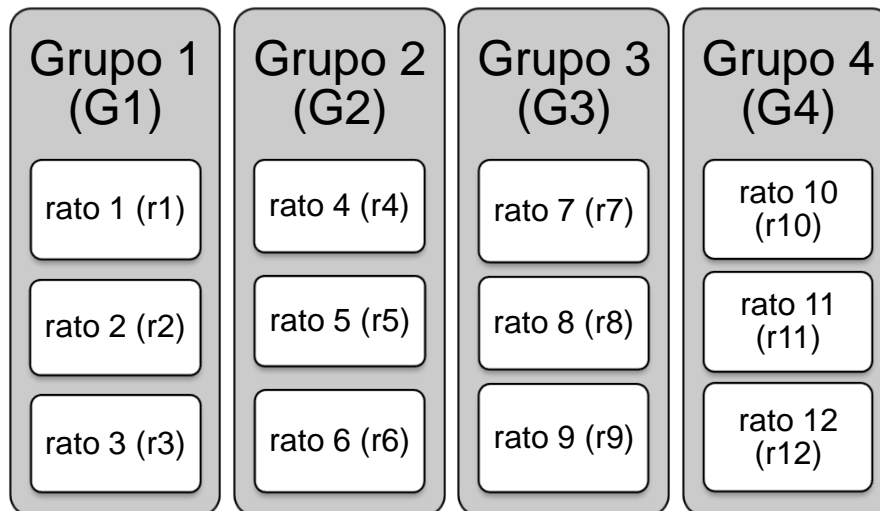


Tabela 1 – Grupos da pesquisa

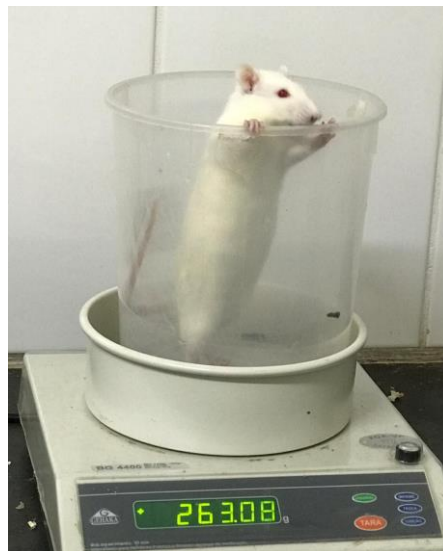


Figura 1 – Pesagem semanal

b. Indução da exposição óssea

Para o desenvolvimento da osteonecrose foi utilizado o modelo desenvolvido por Vidal-Gutiérrez, Gómez-Clavel e Gaitán-Cepeda (2017), que obteve êxito, sem sofrimento dos animais.

Os 12 ratos receberam no primeiro dia da pesquisa (D7) uma dose de 0.06mg/kg de ácido zolendrônico - AZ (Ácido Zolendrônico, Eurofarma, São Paulo, Brasil) aplicado intraperitoneal. Sete dias após (D14), os animais foram pesados novamente para o cálculo da segunda dose do ácido zolendrônico e realizada aplicação via intraperitoneal de 0.06mg/kg (Figura 2).



Figura 2 – Aplicação do AZ

Após 21 dias de experimento (D21), os animais foram submetidos a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo e acompanhados por 6 semanas, período encontrado como ideal por Vidal-Gutiérrez, Gómez-Clavel e Gaitán-Cepeda (2017), para o desenvolvimento da osteonecrose.

No período de observação (D21-D63) foi administrado nos animais, gotas de acetaminofeno (200 mg/mL) adicionadas à água de beber do animal (5 mg/mL de água; Tylenol, Janssen- Cilag Farmacêutica Ltda., São José dos Campos, São Paulo, Brasil), de acordo com o peso. A cada troca de água, era administrada uma nova dosagem de acordo com o peso dos animais.

c. Procedimento da Exodontia e Pós-operatório

Foram realizadas, pelas próprias pesquisadoras, cirurgiã dentista e estudantes, exodontias dos primeiros molares inferiores esquerdos dos ratos sob o seguinte protocolo utilizado por Weber et al. (2017):

- Pesagem do animal para cálculo das doses;
- Anestesia geral com sedação administrando de forma intraperitoneal uma mistura de 20 mg/mL de cloridrato de xilazina (0,05mL x 100g de peso) (Anasedan, Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, São Paulo, Brasil), com 100 mg/mL de cloridrato de cetamina (0,1 mL/100 g peso; Dopalen, Ceva Saúde Animal Ltda, Paulínia, SP, Brasil).

- Da imobilização dos ratos: foi utilizada uma cama de madeira fabricada pelos próprios pesquisadores. A cama apresentava um furo arredondado com um clipe para encaixe da cabeça dos animais e ganchos para abertura da boca com o auxílio de borrachas elásticas (Figura 3).

- Do procedimento cirúrgico: foi realizada anestesia local infiltrativa no tecido gengival ao redor do dente com cloridrato de lidocaína com epinefrina (Alphacaine 100, DFL, Rio de Janeiro, Brasil) para controle do sangramento. Após a separação do tecido gengival circundante, o dente foi luxado com um micro cinzel de Ochsenbein e extraídos com uma pinça hemostática curvada. Não foi realizada a sutura do tecido, para facilitar a exposição óssea (Figuras 4 e 5).

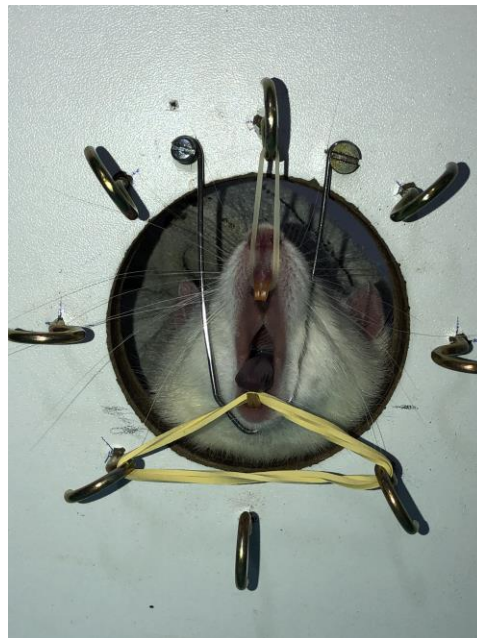


Figura 3 – Imobilização dos animais durante a exodontia



Figura 4 – Antes do procedimento da exodontia

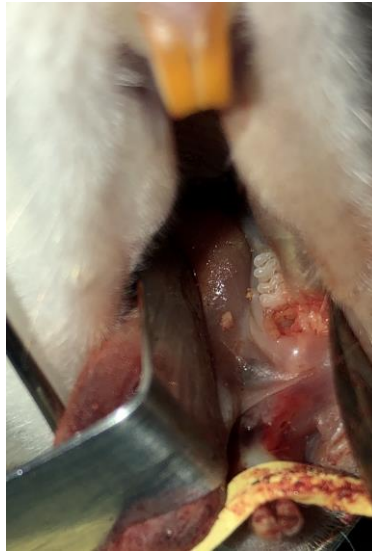


Figura 5 – Depois do procedimento da exodontia

Dois animais, um do G1 (r1) e um do G2 (r4) foram a óbito durante o procedimento de exodontia, apesar de ter sido utilizado o mesmo protocolo. A avaliação do óbito foi realizada pela médica veterinária responsável, através do controle de reflexo pupilar e sinais vitais dos animais.

d. Tratamento da Exposição Óssea

Após 6 semanas da exodontia (D63), os 10 animais receberam tratamentos diferentes para a exposição óssea. Um grupo (G1 – r2 e r3) foi considerado grupo controle negativo, sendo administrada solução salina 0.06mg/kg uma vez por semana.

Em dois grupos controle positivos (G2 – r5 e r6; G3 – r7, r8, r9) foram utilizadas formas de tratamento já esclarecidas pela literatura (Almeida et al., 2007; Vescovi et al., 2008; Saldanha et al., 2012) como tratamentos eficazes para controle infeccioso da osteonecrose (G2 – antibióticoterapia; G3 – laserterapia). No grupo experimental (G4 – r10, r11 e r12), os animais foram tratados com LEDterapia na osteonecrose, tratamento ainda desconhecido na literatura para esse tipo de lesão.

Sobre os tratamentos dos grupos (Tabela 2):

G1 – Grupo Controle Negativo – Foi realizada administração de solução salina 0.06mg/kg uma vez por semana via intraperitoneal.

G2 – Grupo Controle Positivo Antibiótico - A administração do antibiótico Tilosina 0,5mg/mL via oral em uso contínuo por 14 dias diluído em água filtrada do bebedouro conforme utilizado em protocolo estabelecido pelo CEUA da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. A cada troca de água era inserida uma nova dose do antibiótico para cada animal, de acordo com seu peso.

G3 – Grupo Controle Positivo Laserterapia – Foi realizada aplicação diária de terapia fotodinâmica com laser de baixa potência de diodo de alumínio-gálio-arsenieto - AlGaAs - (Photon Lase III/DMC Equipamentos, São Paulo, Brasil) por 14 dias consecutivos. Os ratos foram imobilizados pelo cuidador, de modo a ficar com a boca aberta para visualização do defeito ósseo. Foi realizada a aplicação de um corante fotossensibilizador, azul de metileno 1%, no local da exposição todos os dias previamente à terapia com laser. Foram irradiados 2 pontos em cada rato, um ponto interno no local exato da exposição óssea e o outro extra oral na região relacionada à exodontia. Foi utilizado o laser vermelho (comprimento de onda 660nm +- 10nm), em uma potência de 0,3 W, sob uma energia de 4 J, densidade de energia foi de 67 J/cm² e a densidade de potência foi de 5 W/cm² (duração de 134 s por ponto) conforme Weber et al. (2017).

G4 – Grupo Experimental Ledterapia – Foi aplicação diária de terapia fotodinâmica com LED luz vermelha (DB686 Helen+, Coxo[®] Foshan City, China) por 14 dias consecutivos. Os ratos foram imobilizados pelo cuidador, de modo a ficar com a boca aberta para visualização do defeito ósseo. Foi realizada a aplicação de um corante fotossensibilizador, azul de metileno 1%, no local da exposição todos os dias

previamente à terapia com laser. Foram irradiados 2 pontos em cada rato, um ponto interno no local exato da exposição óssea e o outro extra oral na região relacionada à exodontia, por 60 segundos cada.

Tabela 2 – divisão dos grupos da pesquisa

G1	G2	G3	G4
• Solução salina	• Antibiótico	• Terapia fotodinâmica com laser de baixa potência	• Terapia fotodinâmica com luz de led

Os tratamentos da exposição óssea foram realizados por 14 dias consecutivos e após esse período, e coleta dos materiais para avaliação microbiológica, os animais sofreram eutanásia.

e. Análise microscópica

Foi realizada descalcificação do material com ácido fórmico 20% por 7 dias e corado com o método convencional de Hematoxilina-Eosina.

f. Análise microbiana

Para análise de bactérias totais, foram delimitados 3 momentos de coleta. O primeiro (D62) um dia antes do início dos tratamentos da osteonecrose nos ratos, o segundo (D69) na metade do tratamento e o terceiro (D76) após a finalização do tratamento da osteonecrose. Todas as coletas e análises foram realizadas pelos mesmos pesquisadores seguindo a mesma metodologia, orientados e supervisionados pelo funcionário responsável pelo laboratório de biotecnologia do Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA.

Antes do início do tratamento da patologia (D62) foi realizada uma citologia esfoliativa na exposição óssea com um microbrush estéril (Microaplicador KG Brush, KG Sorensen, Cotia, Brasil). Em cada rato foi utilizado um microbrush diferente. A

ponta do microbrush foi cortada com tesoura estéril dispensada em um eppendorf contendo 1mL de meio de Stuart como solução de transporte do material colhido. Os eppendorfs foram levados imediatamente ao laboratório de biotecnologia, sendo transportados em caixas de isopor sem gelo, para preparação e contagem de bactérias totais presentes.

Já no laboratório de biotecnologia, foi realizada diluição decimal seriada com a amostra para inoculação em técnica de Pour Plate em meios de cultura.

Foram esterilizados 5 tubos de ensaio para cada rato contendo solução salina, para realização da diluição. A ponta do microbrush foi removida do eppendorf, depositada no primeiro tubo de ensaio (-1) e agitado por 10 segundos em um agitador de tubos. Com uma pipeta foi removido 0,5mL do líquido no tubo -1 e inserido no tubo -2. O material foi novamente agitado por 10 segundos, removido 0,5mL e inserido no tubo -3. Esse procedimento foi repetido para todas as amostras até a diluição em tubo -5, totalizando 5 diluições de cada rato.

A partir da diluição, 1,0mL de cada tubo foi dispensado em placas de Petri descartáveis individualizadas e identificadas. Em seguida, pegou-se o meio de cultura de BHI (*brain heart infusion Agar*) fundido em banho maria, esfriado e vertendo em seguida sobre a placa de Petri contendo a suspensão diluída da amostra. O material foi homogeneizado girando-se a placa através de movimentos circulares no sentido horário e anti-horário por 10 vezes.

Para cada amostra, foram realizadas 5 diluições (-1 a -5), totalizando 50 placas para todos os ratos (Figura 6). Após a solidificação do meio, as placas tampadas foram invertidas e incubadas em estufas na temperatura e atmosfera apropriadas.

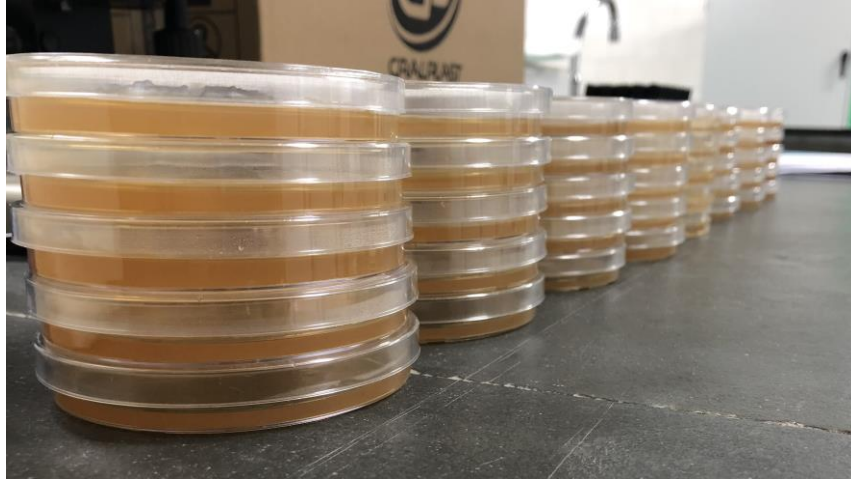


Figura 6 – Placas de Petri contendo BHI prontas para serem incubadas

Após 48 horas de incubação, foi realizada a contagem direta de bactérias (unidade formadora de colônias – UFC) (Figura 7).

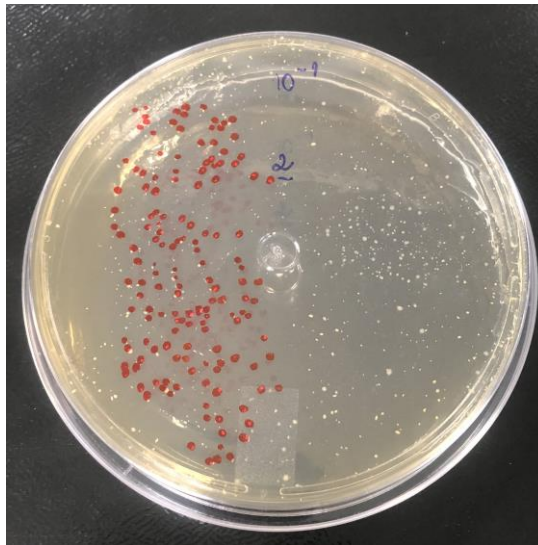


Figura 7 – Contagem de UFC – à direita as colônias de bactérias e à esquerda as mesmas sendo marcadas e contadas com uma caneta de retroprojektor.

No último dia de intervenção (D76), antes da eutanásia foi realizada nova citologia esfoliativa, sendo realizado o procedimento da mesma forma, através da diluição seriada / técnica pour plate, conforme descrito acima, para contagem de bactérias totais após o tratamento.

2. Metodologia de análise

a. Análise clínica

A análise clínica foi realizada pelos próprios pesquisadores antes e após de tratamento, sendo avaliado se havia exposição óssea e padrão da mucosa ao redor da exposição.

b. Análise microscópica

Foram realizadas leituras das lâminas pela própria pesquisadora. Foi observada presença de osso necrótico e contagem de osteoclastos localizados em osso próximo ao tecido epitelial. Além disso foi avaliada presença de infiltrado inflamatório e colônias bacterianas.

c. Análise microbiológica

A mesma metodologia de avaliação foi utilizada nas três coletas (Ant – Antes; Drt – durante o tratamento; Dps – depois do tratamento).

Após 48 horas de incubação, a avaliação foi realizada através da contagem direta de bactérias, sendo contado clinicamente o número de colônias presentes na placa. O resultado final foi registrado em UFC. Quando havia um número superior a 300 UFC, foi utilizado o valor 300. Quando inferior a 30 UFC, foi utilizado o valor 30. E entre 300 e 30, foi utilizado o valor de UFC encontrado.

Ao fim do tratamento, os valores obtidos em todas as placas, foram tabelados no excel, sendo separados pelos mesmos grupos de tratamento (G1; G2; G3, G4). As placas escolhidas para análise estatísticas foram as placas -2 devido ao menor padrão de repetição dos dados.

A análise estatística foi realizada através do programa Bioestat 5.3. O teste utilizado foi o T de student para amostras independentes, pois foram comparadas 2 amostras por vez. Inicialmente foram comparados os valores obtidos na coleta antes do tratamento (Ant) e após ao tratamento (Dps) de todos os grupos. O valor da coleta Drt foi excluído pois não mostrou diferença de dados. Em um segundo momento, foram comparados os valores obtidos depois entre os grupos controle x tratamentos (G1 x G2; G1 x G3; G1 x G4) e entre os dois grupos tratamento com terapia fotodinâmica (G3 x G4). Foi considerado apresentando diferença estatística valores em que $p \geq 0,05$.

4 RESULTADOS

Todos os animais apresentaram ganho de peso ao final do experimento, mostrando que houve uma boa recepção ao protocolo de pesquisa.

a. Análise Clínica

Todos os 10 animais apresentaram exposição óssea antes de iniciar os tratamentos, bem como mucosa com aspecto inflamatório. Somente um animal (G2 - r5) apresentou sequestro ósseo resultando em sua remoção.

Após os 14 dias de tratamento eles foram reavaliados. 5 ratos (50%) apresentaram exposição óssea (G1 - r2; G2 - r5, r6; G3 - r8; G4 - r12) e 5 sem exposição (G1 - r3; G3 - r7, r9; G4 - r10, r11). Nenhum dos ratos apresentou sinais clínicos de inflamação aguda (edema, rubor, sangramento). O rato 3 apresentou aumento de volume normocrômico no local da cirurgia (Figuras 8 – 17).



Figura 8 - Aspecto clínico final – Grupo 1 (controle) - rato 2

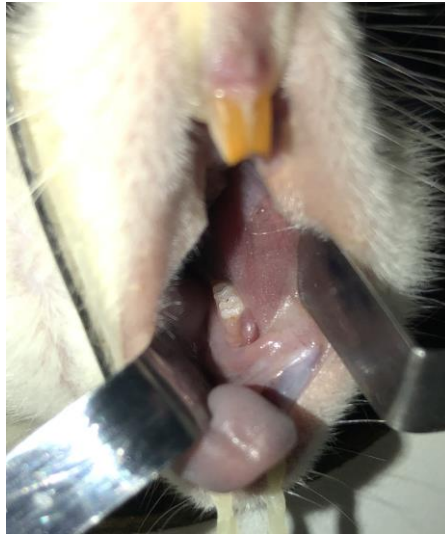


Figura 9 – Aspecto clínico final – Grupo 1 (controle) – rato 3

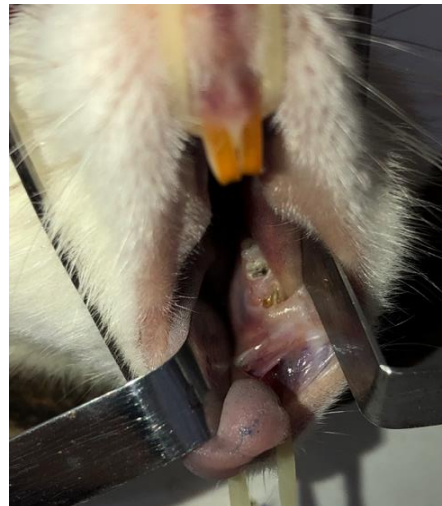


Figura 10 – Aspecto clínico final – Grupo 2 (antibiótico) – rato 5

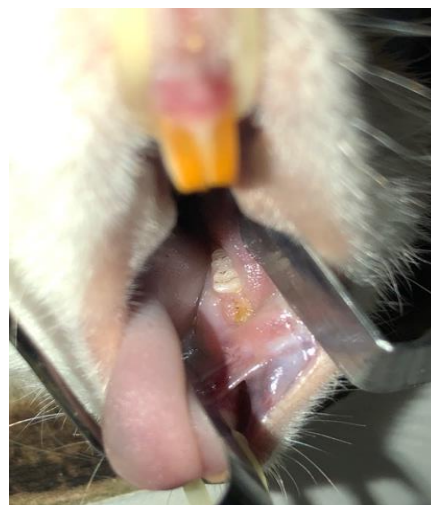
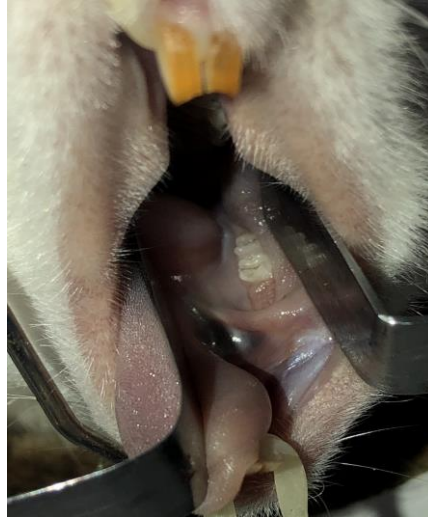


Figura 11 – Aspecto clínico final – Grupo 2 (antibiótico) – rato 6



Figuras 12 – Aspecto clínico final – Grupo 3 (laserterapia) – rato 7

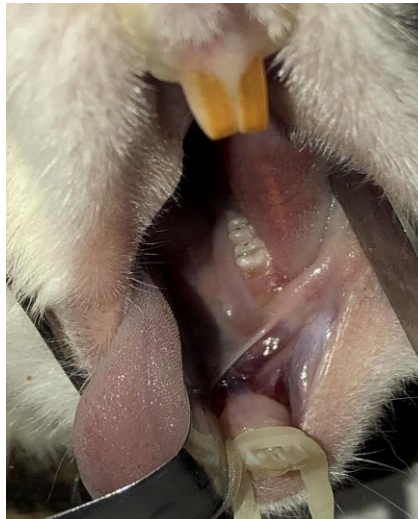


Figura 13 – Aspecto clínico final – Grupo 3 (laserterapia) – rato 8

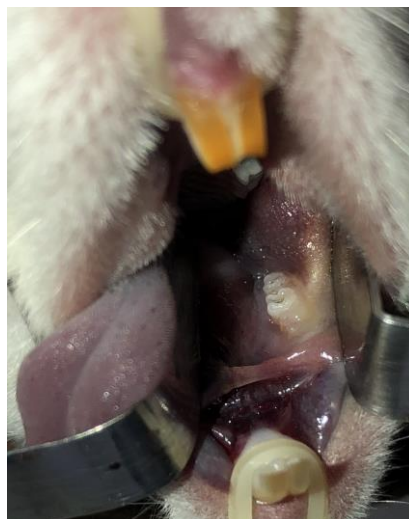


Figura 14 – Aspecto clínico final – Grupo 3 (laserterapia) - rato 9

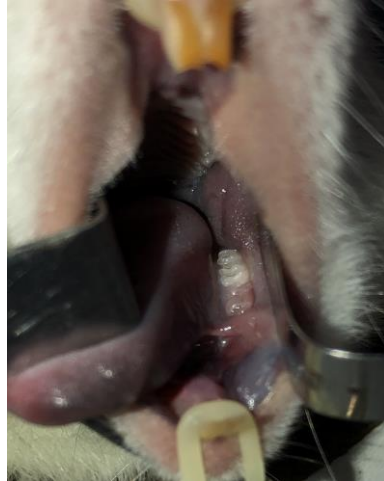


Figura 15 – Aspecto clínico final – Grupo 4 (ledterapia) – rato 10

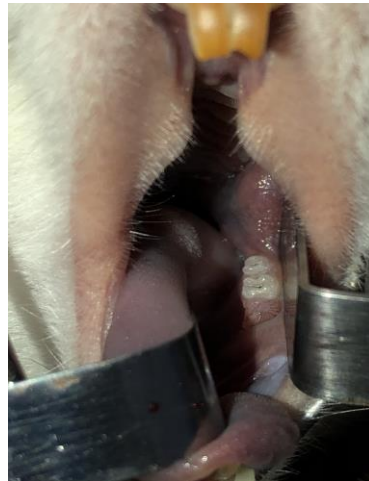


Figura 16 – Aspecto clínico final – Grupo 4 (ledterapia) – rato 11

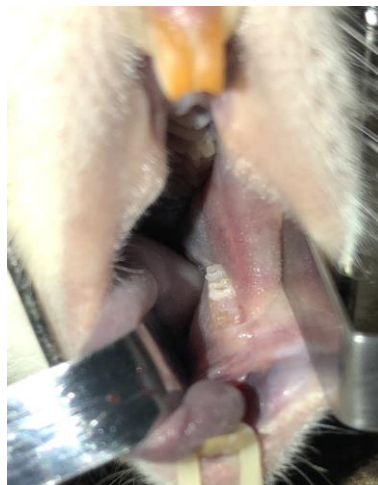


Figura 17 – Aspecto clínico final – Grupo 4 (ledterapia) –rato 12

b. Análise Microscópica

Em todas as lâminas foi observada presença de osso desvitalizado (Figura 25). Entretanto a quantidade de osso no local da exodontia nos ratos dos grupos 3 e 4 foi maior do que nos grupos 1 e 2, sendo o grupo 4 com presença abundante de trabéculas ósseas.

Ao ser avaliada presença de infiltrado inflamatório, apenas o rato 5 (grupo antibiótico) apresentou infiltrado inflamatório polimorfonuclear associado a presença de múltiplas colônias bacterianas e vegetais no local da exodontia (Figuras 18 e 19).

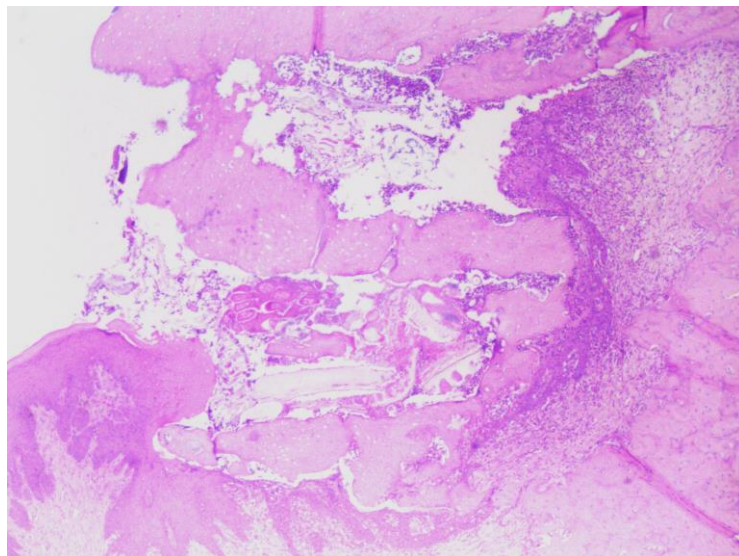


Figura 18 – Aumento de 4x: inflamação aguda associada a colônias bacterianas

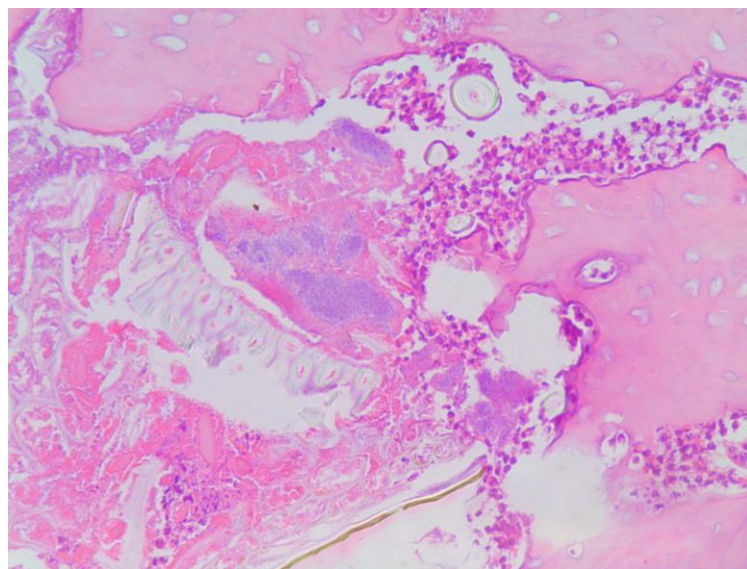


Figura 19 – Aumento de 20x: presença de colônias bacterianas e vegetais

A avaliação da presença de osteoclastos evidenciou uma quantidade da célula maior em grupo G2 quando comparada a G4 (Figuras 20 e 21). Em G1 houve uma média de 1,4 osteoclastos; G2 a média de 2,5 osteoclastos; G3 em média 2,0 osteoclastos e em G4 foi 1,0 osteoclastos por área selecionada.

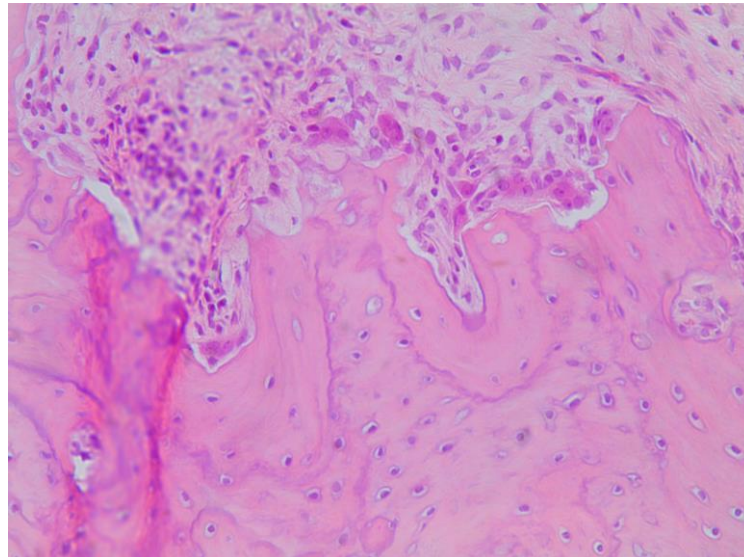


Figura 20 – Aumento de 20x: Presença de osteoclastos em G2

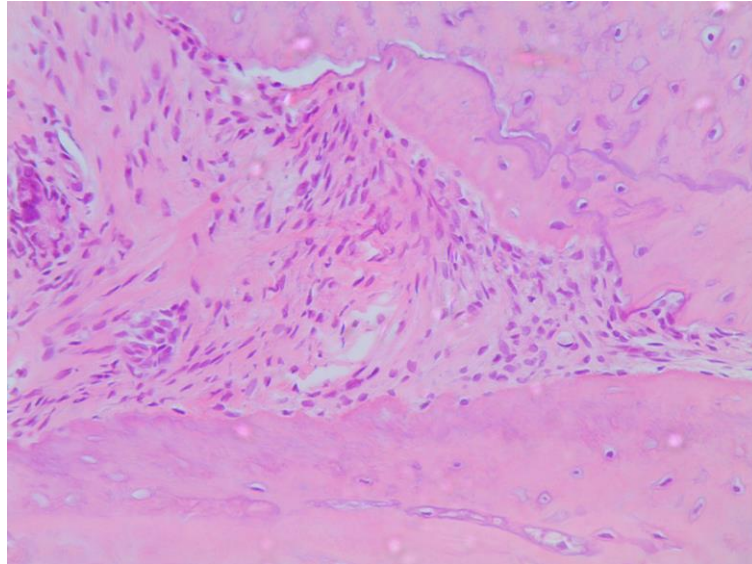


Figura 21 – Aumento de 20x: Ausência de osteoclastos em G4

c. Análise microbiológica

Ao avaliar os resultados encontrados após os tratamentos com antibiótico, laserterapia e ledterapia, comparando-os com o grupo controle, não foi observada diferença estatística. Fazendo a avaliação individualmente comparando o grupo

controle ($x = 217$) com grupo antibiótico ($x = 136,33$) o valor de $p = 0,45$. Comparando grupo controle com grupo laserterapia ($x = 300$) $p = 0,5$, e grupo controle com ledterapia ($x = 154$) o valor de $p = 0,63$.

Para avaliar a diferença dos resultados dos dois tipos de tratamento com terapia fotodinâmica, foram comparados os valores finais de G3 e G4 ($p = 0,86$), não havendo diferença estatística entre os dois protocolos.

Aos comparar os resultados encontrados antes e após os tratamentos, grupo controle ($x_a = 165$; $x_d = 217$; $p = 0,77$), antibiótico ($x_a = 300$; $x_d = 300$; $p = 0,77$), laserterapia ($x_a = 230$; $x_d = 154$; $p = 0,51$) e ledterapia ($x_a = 202,66$; $x_d = 136,33$; $p = 0,43$) não mostraram diferença estatística (Tabela 3).

Tabela 3 - da análise microbiológica de cada rato antes, durante, depois dos tratamentos

	1ª Coleta					2ª Coleta					3ª Coleta				
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
G1 2	300	300	77	30	30	300	209	30	30	30	300	300	174	30	
G1 3	300	30	30	30	30	300	142	30	30	30	300	134	30	30	
G2 5	300	300	>300	50	30	300	300	300	125	300	300	300	300	64	
G2 6	300	300	259	30	30	300	300	99	30	30	300	300	35	30	
G3 7	300	90	30	30	30	300	115	30	30	30	271	30	30	30	
G3 8	300	300	80	30	30	300	300	53	30	300	300	64	30	30	
G3 9	300	300	30	30	30	300	230	30	30	300	132	30	30	30	
G4 10	300	193	30	30	30	300	229	30	30	300	164	30	30	30	
G4 11	300	115	30	30	30	300	151	30	30	300	287	30	30	30	
G4 12	300	300	147	38	30	300	300	300	61	300	300	215	30	30	

5 DISCUSSÃO

A osteonecrose dos maxilares causada pelo uso de bifosfonatos, assim como de outros antiangiogênicos, é uma patologia óssea limitante, caracterizada pela exposição óssea, desconforto e repetitivos quadros de osteomielite (MINAMISAKO et al., 2016). Foi descrita pela primeira vez no ano de 2003 por Marx, sendo considerada no âmbito da medicina, uma patologia recente. Devido a isso, sua patogênese vem sendo amplamente estudada, assim como suas formas de tratamento.

Após resultado clínico e microscópico, pôde ser confirmado o êxito na metodologia realizada na presente pesquisa para indução da osteonecrose mandibular nos ratos, conforme resultados encontrados por Vidal-Gutiérrez, Gómez-Clavel e Gaitán-Cepeda (2017). Em todas as lâminas microscópicas, foi observada presença de osso desvitalizado e trabeculado irregular resultado similar ao encontrado por Marx e Tursun (2012) que verificaram em análise histopatológica de 37 lesões de osteonecrose a presença de osso necrótico contendo trabéculas irregulares.

Além dos resultados encontrados na análise microscópica para confirmar o sucesso do protocolo da osteonecrose, foram observadas nas análises após os tratamentos (controle, antibiótico, laserterapia e LEDterapia) a presença de osteoclastos de tamanhos e formatos normais em todos os grupos, diferente do que deveria ter sido encontrado segundo Neville et al. (2016), que seriam osteoclastos aumentados, irregulares, apresentando numerosos vacúolos intracitoplasmáticos.

Aguirre et al. (2012) induziram a osteonecrose sob antirreabsortivos sistêmicos, através de doença periodontal, em maxila e mandíbula de 34 ratos após análise microscópica da região estudada pode ser observada presença de colônias bacterianas e destruição periodontal. No presente estudo foi observada presença de colônia bacteriana associada ao osso desvitalizado em um dos ratos analisados.

Devido a sucessivos quadros de osteomielite encontrados em pacientes resultante das infecções bacterianas (HELLSTEIN; MAREK, 2005; LUGASSY et al., 2004) e a indefinição na literatura sobre o melhor tipo de tratamento para a osteonecrose (BROZOSKI et al. 2012), a presente pesquisa objetivou analisar a presença de bactérias totais com diferentes tipos de tratamento: antibiótico, laser de baixa potência e luz de LED.

Segundo Costa e Junior (2017), os antibióticos inovaram o tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias e assim reduziram mundialmente as taxas de morbidade e mortalidade associadas a infecções bacterianas. Ruggiero, Fantasia e Carlson (2006) e Boonyapakorn et al. (2008), apontam bactérias presentes na flora bucal original como os maiores causadores das frequentes infecções vistas na osteonecrose, concluindo que a antibioticoterapia seria imprescindível para controle da doença. Na presente pesquisa, não foi encontrada diferença estatística entre o tratamento contendo antibiótico e os que não utilizaram a medicação antimicrobiana.

Em uma revisão de literatura realizada por Lima et al. (2017) buscou traçar o perfil microbiológico para estabelecer uma conexão entre patogênese da osteonecrose e tipos de microorganismos envolvidos. O *Actinomyces* spp foi o microorganismo mais encontrado nas análises histopatológicas das lesões ósseas, enquanto *Pseudoramibacter* spp, *Streptococcus* spp, *Parvimonas* spp, *Mogibacterium* spp, *Gemella* spp, *Eubacterium* spp (Filo Firmicutes), *Atopobium* spp (Filo Actinobacteria) e *Bacteroides* spp (Filo Bacteroidetes) foram os encontrados nas análises biomoleculares. Sedghizadeh et al. (2008) caracterizaram o biofilme de quatro pacientes com osteonecrose causada pelo uso de bifosfonato, observando a presença predominante de bactérias variando de 2 a 15 espécies do gênero *Fusobacterium*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Selenomonas*.

Uma pesquisa realizada por Kobayashi et al. (2010), mostrou que o ácido zolendrônico promoveu a adesão de *Streptococcus mutans* a hidroxiapatita e aumentou a proliferação em indivíduos saudáveis, sugerindo que a medicação pode ser capaz de aumentar o processo infeccioso. Esse resultado, corrobora com o encontrado em nosso trabalho, pois ao avaliar a presença de bactérias antes do início dos tratamentos, vemos um número de colônias bacterianas elevado.

A terapia fotodinâmica vem sendo utilizada em larga escala, associada a outras terapias em osteonecrose. Para uma ação antimicrobiana eficaz, a terapia fotodinâmica dependerá da presença de oxigênio, do fotossensibilizador biologicamente estável e fotoquimicamente eficaz (azul de toluidina, azul de metileno, curcumina), que possua baixa toxicidade às células normais, seletividade pela célula-alvo e deve ser administrado de forma local/tópica, com tempo ideal, irradiado

com luz em dose e comprimento de onda adequada, utilizando-se fibra ótica e ponta difusora (SILVA, 2015).

Segundo Garcez, Ribeiro e Núñez (2012), a luz mais utilizada é o laser de baixa potência em radiação vermelha. Entretanto, em algumas patologias cutâneas e orais vem sendo realizados estudos utilizando a fototerapia com o LED – *Light Emitting Diode*. De acordo com Rossato (2016), esse tipo de terapia, tem demonstrado uma boa resposta no processo de cicatrização do tecido, atuando na proliferação e maturação celular, produção de tecido de granulação, proliferação de fibroblastos e macrófagos, promoção da angiogênese, além de efeitos antimicrobianos, analgésicos e anti-inflamatórios com comprimento de onda específicos.

Toro (2016) avaliou o potencial osteogênico da terapia fotodinâmica com laser de baixa potência em 30 ratas Wistar, através da avaliação clínica, histopatológica e imunoistoquímica. Os animais foram divididos em quatro grupos: solução salina, solução salina/terapia fotodinâmica, ácido zolendrônico e ácido zolendrônico/terapia fotodinâmica. O grupo ácido zolendrônico teve o processo de reparação tecidual severamente comprometido tanto no grupo tratado quanto no não tratado com terapia fotodinâmica. Concluindo que a terapia fotodinâmica não foi capaz de melhorar o processo de formação óssea em ratos em uso do bifosfonato. O mesmo resultado foi encontrado na avaliação histológica do presente estudo, pois não houve diferença entre as lâminas estudadas dos diferentes grupos tratamento e controle.

De acordo com Silva (2015), a terapia fotodinâmica apresenta um efeito antimicrobiano importante nas osteonecroses, diminuindo a incidência de infecções e por sua vez, as prescrições antibióticas. Guanabara, Moura e Santos (2016), traça as vantagens como a baixa probabilidade de desenvolvimento de resistência microbiana e a ausência de morte celular, quando comparadas ao uso dos agentes antimicrobianos habituais.

Junior (2014) avaliou in vivo e in vitro a ação da terapia fotodinâmica de azul de toluidina associada ou não ao laser de baixa potência. Nesse estudo foi comprovado que a terapia fotodinâmica de azul de toluidina com laser foi eficaz na redução bacteriana in vivo e in vitro. Clinicamente foi observado feridas completamente fechadas, com ausência de fístula, exsudato purulento e uma contagem bacteriana significativamente menor após o tratamento.

Chan e Lai em 2003, avaliaram em um estudo in vitro os efeitos bactericidas de diferentes luzes (laser de hélio-neônio; laser de diodo no comprimento de onda vermelho; laser de diodo no comprimento de onda infra-vermelho) na terapia fotodinâmica em bactérias periodontopatogênicas e encontraram melhor efeito bactericida na combinação do azul de metileno com o laser diodo vermelho.

Em outro estudo in vitro, Sousa (2007) comparou a utilização de lasers e LED através da terapia fotodinâmica no processo de redução bacteriana periodontopatogênica (*Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* e *Prevotella intermedia*). Concluiu-se que independente do tipo de luz utilizado, a presença do agente fotossensibilizador apresenta excelente potencial para sensibilização letal das bactérias.

Há uma escassez grande de artigos na literatura que façam avaliação microbiológica da osteonecrose induzida por bifosfonatos, tanto em animais quanto em seres humanos. Na presente pesquisa, pudemos observar que não houve diferença estatística entre os resultados encontrados após os tratamentos com antibiótico, laserterapia e ledterapia, comparando-os com o grupo controle.

Além disso, ao comparar os resultados microbiológicos dos dois tipos de tratamento com terapia fotodinâmica não foi observada diferença estatística. Guanabara, Moura e Santos (2016), comparou, através de uma meta-análise, o efeito da terapia fotodinâmica com laser e do Led na proliferação microbiana de diferentes patogenias. Concluiu-se nesse estudo o laser combinado ao azul de metileno é método mais eficaz na inibição da proliferação microbiana.

Parente (2010) em sua pesquisa in vitro, teve como objetivo analisar o perfil de resistência a antibióticos e da ação da terapia fotodinâmica com LED na redução do crescimento bacteriano em culturas de células planctônicas e biofilme. Foram utilizadas 55 amostras: 23 de biofilme intra oral; 22 de bactérias de infecções extra orais e 10 de bactérias ambientais. Após experimento, observou-se a associação de antibiótico com terapia fotodinâmica com LED foi efetivo para a redução bacteriana, sendo assim eficaz no controle da resistência microbiana.

6 CONCLUSÃO

Tendo em vista o objetivo de avaliar a ação microbiológica de três diferentes tipos de tratamento: antibioticoterapia, laserterapia e LEDterapia na osteonecrose induzida pelo uso de bisfosfonato em ratos, foi possível concluir que:

- Foi observada presença de osso desvitalizado na análise microscópica sugerindo que o protocolo utilizado para indução da osteonecrose - ácido zolendrônico associada a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo - foi eficaz.
- Foi encontrada presença de colônia bacteriana associada ao osso desvitalizado em um dos ratos analisados, evidenciando a presença da contaminação mesmo após tratamento, sendo assim capaz de aumentar o processo infeccioso.
- Não foi encontrada no presente estudo diferença estatística entre os grupos – controle, que recebeu tratamento contendo antibiótico e os grupos que não utilizaram a terapia fotodinâmica.
- Não foi observada diferença estatística entre a terapia fotodinâmica realizada com laser de baixa potência ou LED.

7 REFERÊNCIAS

AGHALOO, T.L.; KANG, B.; SUNG, E.C.; SHOFF, M.; RONCONI, M.; GOTCHER, J.E., et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. **J Bone Miner Res**, New York, v. 26, n. 8, p. 1871- 82, aug. 2011.

AGUIRRE, J.I.; AKHTER, M.P.; KIMMEL, D.B.; PINGEL, J.E.; WILLIAMS, A.; JORGENSEN, M., 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**, New York, v. 27, n. 10, p. 2130-43, oct. 2012.

ALLEN, M.R.; BURR, D.B. A patogênese da osteonecrose da mandíbula relacionada ao bisfosfonato: tantas hipóteses, poucos dados. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 67, p. 61-70, mai. 2009.

ALMEIDA, J.M.; THEODORO, L.H.; BOSCO, A.F.; NAGATA, M.J.; OSHIWA, M.; GARCIA, V.G. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. **J Periodontol Res**, Chicago, v. 78, n. 3, p. 566-75, 2007.

ANTONI, C.C.; MATSUMOTO, M.A.; SILVA, A.A.D.; CURI, M.M.; JÚNIOR, J.F.S.; SASSI, L.M., et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw, osteoradionecrosis, and osteomyelitis: a comparative histopathological study. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 32, n. 23, 2018.

BADROS, A.; WEIKEL, D.; SALAMA, A.; GOLOUBEVA, O.; SCHNEIDER, A.; RAPOPORT, A., et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. **Journal of Clinical Oncology**, New York, v. 24, n. 6, p. 945-52, feb. 2006

BAMIAS, A.; KASTRITIS, E.; BAMIA, C.; MOULOPOULOS, L.A.; MELAKOPOULOS, I.; BOZAS, G. et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. **J Clin Oncol**, New York, v. 23, n. 34, p. 8580-7, dec. 2005

BARIN, L.M.; PILLUSKY, F.M.; PASINI, M.M.; DANESI, C.C. Osteonecrose dos maxilares associada ao uso de bifosfonatos: uma revisão de literatura. **Rev Odontol Univ Cid São Paulo**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 126-34, mai/ago. 2016

BARLT, R.F.B.; TRESCHOW, V.E.; BARLT, C. **Bisphosphonates in Medical Practice: Actions, Side Effects, Indications, Strategies**. 1sted. ed. Berlin (Germany) Springer, p. 264, 2007.

BOONYAPAKORN, T.; SCHIRMER, I.; REICHART, P.A.; STURM, I.; MASSENKEIL, G. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: prospective study of 80 patients with multiple myeloma and other malignancies. **Oral Oncol**, Oxford, v. 44, n. 9, p. 857-69, sep. 2008.

BROZOSKI, M.A.; TRAINA, A.A.; DEBONI, M.C.Z.; MARQUES, M.M.; NACLÉRIO-HOMEM, M.G. Osteonecrose maxilar associada ao uso de

bisfosfonatos. Artigo de revisão de literatura. **Rev Bras Reumatol**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 2, p. 260-270, dez. 2012.

CAMPOS, A.A. **Efeitos da ledterapia a 940nm sobre o reimplante dentário em ratos**. 2014. 27 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.

CALDAS, R.J.; PONTES, J.R.M.; ANTUNES, H.S. Osteonecrose dos maxilares induzida por bifosfonatos: relato de caso clínico. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 55, n. 2, p. 151-5, nov. 2008.

CASO, A.J.A.; BALLESTER, F.E.; POMBE, N.S; PIZARRO, L.V; MOMPELLO, D.J.L.; LOZANO, R.A. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw and infection with Actinomyces. **Med Clin**, Barcelona, v. 139, n. 15, p. 676-80, dec. 2012.

CHAN, Y.; LAI, C.H. Bactericidal effects os different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. **Lasers Med Sci**, London, v. 18, p. 51-5, 2003.

COSTA, A.L.P.; JUNIOR, A.C.S.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá. v. 7, n. 2, p. 45-57, maio/ago. 2017.

DANNEMANN, C.; ZWAHLEN, R.; GRÄTZ, K.W. Clinical experiences with bisphosphonate induced osteochemonecrosis of the jaws. **Swiss Medical Weekly**, Basel, v. 136, p. 504- 9, aug. 2006.

DOTTO, MARCELO LUIZ; DOTTO, ANDERSON CESAR. Osteonecrose dos maxilares induzida por bisfosfonatos – revisão de literatura e relato de caso. **RFO UPF**, Passo Fundo, v. 16, n. 2, p. 229-233, 2011.

FARIA, M.T. **Atendimento odontológico ao paciente com câncer: orientação para cirurgões dentistas**. 2007. 73p. Dissertação (Mestrado Profissional em Ensino em Ciências da Saúde e do Meio Ambiente) - Centro Universitário de Volta Redonda-UNIFOA, Volta Redonda, 2017.

FERREIRA, C.L.R.; NICOLAU, R.A.; OLIVEIRA, M.A.; COSTA, D.R.; JÚNIOR, A.C.G.P. Efeito da terapia LED ($\lambda = 945 \pm 20$ nm) de baixa intensidade sobre tecido epitelial de ratos diabéticos em processo de reparo. **Rev Bras Eng Bioméd**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 4, p. 404-413, dez. 2013.

FLORES, J.A.; FLORES, F.W.; DIESEL, P.G.; TREVISAN, R.F.; GUARDA, V.T. Osteonecrose associada ao uso de bifosfonatos: um novo desafio para a odontologia. **Rev. Conhecimento e Sociedade**, Campo Mourão, v. 1, n.1, jan/jul. 2016.

GARCEZ, A.S.; RIBEIRO, M.S.; NÚÑEZ, S.C. **Laser de baixa potência: princípios básicos e aplicações clínicas na odontologia**. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2012.

GEGLER, A.; CHERUBINI, K.; FIGUEIREDO, M.A.Z.; YURGEL, L.S.; AZAMBUJA, A.A. Bisfosfonatos e osteonecrose maxilar: revisão de literatura e relato de dois casos. **Rev Bras Cancerol**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 1, p. 25-31, ago. 2006.

GUANABARA, L.C.R.; MOURA, T.B.; SANTOS, D.R. **Fototerapia por radiação laser e Led na terapia fotodinâmica na inibição da proliferação bacteriana no processo de cicatrização**. 2018. 12p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Fisioterapia) - Universidade de Ribeirão Preto, Guarujá, 2016.

HANSEN, T.; KUNKEL, M.; WEBER, A.; JAMES, K.C. Osteonecrosis of the jaws in patients treated with bisphosphonates - histomorphologic analysis in comparison with infected osteoradionecrosis. **J Oral Pathol Med**, Copenhagen, v. 35, n. 3, p. 155- 60, mar. 2006.

HELLSTEIN, J.W.; MAREK, C.L. Bisphosphonate osteochemonecrosis (bisphossy jaw): is this phossy jaw of the 21st century? **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v.63, v. 5, p. 682-9, may. 2005.

JUNIOR, C.D.F.; CASADO, P.L.; BARBOZA, E.S.P. Osteonecrose associada aos bifosfonatos na Odontologia. **R Periodontia**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 4, dez. 2007.

JÚNIOR, J.A.R. **Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) associada ou não a fototerapia LASER em osteomielite induzida por Staphylococcus aureus: estudo microbiológico e histológico**. 2014. 95p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

KOBAYASHI, Y.; HIRAGA, T.; UEDA, A.; WANG, L.; MATSUMOTO-NAKANO, M.; HATA, K., et al. Zoledronic acid delays wound healing of the tooth extraction socket, inhibits oral epithelial cell migration, and promotes proliferation and adhesion to hydroxyapatite of oral bacteria, without causing osteonecrosis of the jaw, in mice. **J Bone Miner Metab**, Tokyo, v. 28, n. 2, p.165-75, mar. 2010.

LEE, C.Y.; PIEN F.D.; SUZUKI, J.B. Identification and treatment of bisphosphonate-associated actinomycotic osteonecrosis of the jaws. **Implant Dentistry**, Baltimore, v. 20, n. 5, p. 331-6, oct. 2011.

LIMA, B.K.S.; BRANCO, S.J.S.C.; FONTES, V.C.; PINHEIRO, J.M.C.R.; HASS, V.; NETO, L.G.L. et al. Perfil microbiológico dos portadores de osteonecrose maxilar induzida por bifosfonatos. **Rev Invest Biomed**, São Luís, v. 9, n. 2, p. 187-97, 2017.

LOUIE, J.P.; BELL, L.M. Appropriate use of antibiotics for common infections in an era of increasing resistance. **Emerg Med Clin North Am**, Philadelphia, v. 20, n.1, p. 69-91, feb. 2002.

LUGASSY, G.; SHAHAM, R.; NEMETS, A.; BEN-DOR, D.; NAHLIELI, O. Severe osteomyelitis of the jaw in longterm survivors of multiple myeloma: a new clinical entity. **Am J Med**, New York, v. 117, n. 6, p. 440-1, sep. 2004.

MACHADO, A.E.H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Rev Quím Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-43, 2000.

MARX, R.E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 61, n. 9, p. 1115-7, sep. 2003.

MARX, R.E.; TURSUN, R. Suppurative osteomyelitis, bisphosphonate induced osteonecrosis, osteoradionecrosis: a blinded histopathologic comparison and its implications for the mechanism of each disease. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, v. 41, n. 3, p. 283–289, mar. 2012.

MARX, R.E.; CILLO, J.E.J.; ULLOA, J.J. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention and treatment. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 65, n. 12, p. 2397-410, dez. 2007.

MESQUITA, K.S.; QUEIROZ, A.M.; NELSON-FILHO, P.; BORSATTO, M.C. Terapia fotodinâmica: tratamento promissor na odontologia. **Rev Fac Odontol Unimep**, Piracicaba, v. 23, n. 2, p. 43-49, dez. 2013.

MINAMISAKO, M.C.; RIBEIRO, G.H.; LISBOA, M.L.; CORDEIRO, M.M.R.; GRANDO, L.J. Medication-Related Osteonecrosis of Jaws: A Low-Level Laser Therapy and Antimicrobial Photodynamic Therapy Case Approach. **Case Reports in Dentistry**, Cairo, p. 4, sep. 2016.

NETO, T.; GOUVEIA, H. Osteonecrose Maxilar associada ao uso de Bifosfonatos (OMAB) – artigo de revisão. **Revista da Associação dos Médicos Estomatologistas Portugueses**, Porto, nov. 2012.

NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D.; ALLEM, C.M.; BOUQUOT, J.E. **Oral and maxillofacial pathology**. 3rd ed. St Louis: Saunders Elsevier, v. 4, 2016.
NOZARI, L. B. **Prevalência de Osteonecrose dos maxilares por bifosfonatos associada à exodontia: revisão sistemática**. 2016. 26 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

PARENTE, T.M.L. **Análise do perfil de resistência à antibióticos e da ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica em isolados ambientais, orais e extra orais de *Serratia Marcescens***. 2010. 89p. Dissertação (Pós Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2010.

RIBEIRO, R.C.; VITORINO, N.S.; FREITAS, P.H.L.; SOUZA, R.C.N. Osteonecrose dos maxilares relacionada ao uso de bisfosfonatos orais: relato de caso. **Rev Odontol UNESP**, Araraquara, v. 40, n. 5, p. 264-267, set./out. 2011.

ROSSATO, B.M.C. **Efeito da ledterapia no processo de cicatrização de feridas em ratos**. 2016. 30p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Universidade Estadual de Londrina, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RUGGIERO, S.L.; DODSON, T.B.; FANTASIA, J.; GOODDAY, R.; AGHALOO, T.; MEHROTRA, B.; O'RYAM, F. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the Jaw. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 72, n. 10, p. 1938-56, oct. 2014.

RUGGIERO, S.L.; FANTASIA, J.; CARLSON, E. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: background and guidelines for diagnosis, staging and management. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 102, n. 4, p. 433-41, oct. 2006.

RUGGIERO, S.L.; MEHROTRA, B.; ROSENBERG, T.J.; ENGROFF, S.L. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 62, n. 5, p. 527-34, may. 2004.

SALDANHA, S.; SHENOY V.K.; EACHAMPATI P.; UPPAL U. Dental implications of bisphosphonate-related osteonecrosis. **Gerodontology**, Mount Desert, v. 29, n. 3, p.177-87, sep. 2012.

SEDGHIZADEH, P.P.; KUMAR, S.K.; GORUR A.; SCHAUDINN, C.; SHULER, C.F.; COSTERTON, J.W.; Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. **J Oral Maxillofac Surg**, Philadelphia, v. 66, n. 4, p. 767–75, 2008.

SILVA, G.X. **Uso da laserterapia na osteonecrose e na osteorradioneecrose dos maxilares**. 2015. 67p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

SOARES, M.Q.S.; VAN DESSEL, J.; JACOBS, R.; SANTOS, S.S.P.; CESTARI, T.M.; GARLET, G.P.; DUARTE, M.A.H.; IMADA, T.S.N.; LAMBRICHTS I.; RUBIRA-BULLEN I.R.F. Zoledronic acid induces site-specific structural changes and decreases vascular area in the alveolar bone. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 76, n. 9, p. 1893-1901, mar. 2018.

SOUSA, G.R.; **Análise comparativa da emissão de luz por led e lasers emitindo no vermelho do espectro eletromagnético na redução de bactérias periodontopatogênicas**. estudo "in vitro". 2007. 119p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

STATKIEVICZ, C. **Efeito do zoledronato sobre o processo de reparo alveolar: estudo envolvendo os principais fatores de risco para a osteonecrose dos maxilares e avaliação da terapia com laser em baixa intensidade e terapia fotodinâmica antimicrobiana como propostas preventivas**. 2016. 96p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo- Facial) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Araçatuba, 2016.

TORO, L.F. **Avaliação do potencial osteogênico da terapia fotodinâmica em ratas com os principais fatores de risco para a osteonecrose dos maxilares.** 2016. 70p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Araçatuba, 2016.

VESCOVI, P.; MERIGO, E.; MANFREDI M.; MELETI, M.; FORNAINI C.; BONANINI M. et al. Nd:YAG laser biostimulation in the treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: clinical experience in 28 cases. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, v. 26, n. 1, p. 37–46, 2008.

VIDAL-GUTIÉRREZ, X.; GÓMEZ-CLAVEL, J.F.; GAITÁN-CEPEDA, L.A. Dental extraction following zoledronate, induces osteonecrosis in rat's jaw. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Valencia, v. 22, n. 2, p. 177-84, mar. 2017.

WEBER, J.B.B.; CAMILOTTI, R.S.; JASPER, J.; CASAGRANDE, L.C.O.; MAITO, F.L.D.M. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. **Journal of Biomedical Optics**, Bellingham, v. 22, n. 5, mai. 2017.

WONGCHUENSOONTORN, C.; LIEBEHENSCHER, N.; WAGNER, K.; FAKLER, O.; GUTWALD, R.; SCHEMLZEISEN, R.; et al. Pathological fractures in patients caused by bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: report of 3 cases. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v. 67, p. 1311-16, 2009.

YAROM, N.; YALOM, R.; SHOSHANI, Y.; HAMED, W.; REGEV, E.; ELAD, S. Osteonecrosis of the jaw induced by orally administered bisphosphonates: incidence, clinical features, predisposing factor on treatment outcome. **Osteoporosis Int**, London, v. 18, n. 10, p. 1363-70, oct. 2007.



Fundação Oswaldo Aranha

Comitê de Ética no Uso de Animais
(CEUA - UniFOA)




PARECER Nº 014/18

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**TRATAMENTO DA ISQUEMIA ÓSSEA DOS MAXILARES INDUZIDA PELO USO DE BISFOSFONATOS EM RATOS COM LUZ DE LED**”, registrada com o número de **Protocolo 036/18**, sob a responsabilidade de **Maira Tavares de Faria** – que envolve a produção, manutenção, ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** pelo **COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UniFOA)**, do CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA / RJ - UniFOA, em reunião de **05/12/18**.

Finalidade	() Ensino	(X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 01/01/2018	Término: 31/12/2020
Espécie / linhagem / raça	Rato heterogênico / Wistar.	
Nº de animais	52	
Peso / idade	250-300g / 08 semanas.	
Sexo	Macho.	
Origem	Biotério.	
Observação	-----	

Volta Redonda, 05 de dezembro de 2018.


Dimitri Ramos Alves
 Coordenador do Comitê de Ética no Uso de Animais
 (CEUA-UniFOA)