

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GABRIELLE DELFRATE

**EFEITO DA PENTOXIFILINA E α -TOCOFEROL NA OSTEONECROSE DE
MANDÍBULA INDUZIDA POR BIFOSFONATO: ANTES E DEPOIS DA
EXODONTIA**

**PONTA GROSSA – PR
2021**

GABRIELLE DELFRATE

**EFEITO DA PENTOXIFILINA E α -TOCOFEROL NA OSTEONECROSE DE
MANDÍBULA INDUZIDA POR BIFOSFONATO: ANTES E DEPOIS DA
EXODONTIA**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa, área de atenção interdisciplinar em saúde.

Orientador (a): Prof. Dr. Gilson Cesar Nobre Franco
Coorientador (a): Prof. Dra. Mariane de Faria Moss

**PONTA GROSSA – PR
2021**

D351 Delfrate, Gabrielle
Efeito da pentoxifilina e α -tocoferol na osteonecrose de mandíbula induzida por bifosfonato: antes e depois da exodontia / Gabrielle Delfrate. Ponta Grossa, 2021.

39 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Atenção Interdisciplinar em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Gilson Cesar Nobre Franco.

Coorientadora: Profa. Dra. Mariane de Faria Moss.

1. Bifosfonatos. 2. Cirurgia bucal. 3. Osteonecrose. 4. Inibidores da fosfodiesterase. 5. Vitamina e. I. Franco, Gilson Cesar Nobre. II. Moss, Mariane de Faria. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atenção Interdisciplinar em Saúde. IV.T.

CDD: 617.6

GABRIELLE DELFRATE
**EFEITO DA PENTOXIFILINA E α -TOCOFEROL NA OSTEONECROSE DE
MANDÍBULA INDUZIDA POR BIFOSFONATO: ANTES E DEPOIS DA
EXODONTIA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde na
Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Atenção Interdisciplinar em Saúde.

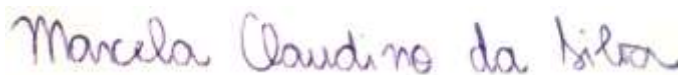
Ponta Grossa, 22 de abril de 2021.



Prof. Dr. Gilson Cesar Nobre Franco
Doutor em Odontologia
Associação Brasileira do Odontologia



Prof. Dr. Daniel Fernandes
Doutor em Farmacologia
Universidade Federal de Santa Catarina



Profa. Dra. Marcela Claudino da Silva Nardino
Doutora em Odontologia
Universidade Estadual de Ponta Grossa

RESUMO

Esse estudo avaliou o efeito da administração de pentoxifilina e α -tocoferol (PENTO) antes ou depois da exodontia, na terapia da osteonecrose de mandíbula relacionada a medicamentos (MRONJ) em ratos submetidos a aplicação de ácido zoledrônico (AZ). Sessenta ratos Wistar foram divididos em três grupos de prevenção (Controle, BF e BF+PENTO/P) e três grupos de tratamento (Controle, BF e BF+PENTO/T), com 10 animais cada. 0,1 mg/kg de AZ foi aplicado duas vezes por semana por 12 semanas nos grupos BF e BF+PENTO. Na 6ª semana, todos os animais foram submetidos a exodontia, sendo que BF+PENTO/P recebeu 50 mg/kg/dia de pentoxifilina e 80 mg/kg/dia de α -tocoferol uma semana antes do procedimento, até a eutanásia, com 12 semanas. BF+PENTO/T recebeu o mesmo protocolo PENTO a partir da 12ª semana, encerrando com 16 semanas. A presença e severidade da osteonecrose foi avaliada pela análise clínica, imaginológica e histológica da hemimandíbula. O tratamento com PENTO, pós-exodontia, reduziu a incidência histológica de osteonecrose em 50%. Além disso, o grupo BF+PENTO/T demonstrou diminuir porcentagem de lacunas de osteócitos vazias e área necrótica, diminuir a presença de sequestros ósseos e aumentar o número de osteócitos e fluxo sanguíneo alveolar, reduzindo a severidade da MRONJ ($p < 0,05$). No grupo BF+PENTO/P houve somente redução na porcentagem de lacunas vazias ($p < 0,05$). Não foi observado o efeito da pentoxifilina e α -tocoferol, quando administrados antes da exodontia, na prevenção de MRONJ. Entretanto, a aplicação de pentoxifilina e α -tocoferol como tratamento, pós exodontia, diminuiu a incidência radiológica e histológica de MRONJ, além de reduzir o escore de severidade da doença. Esse efeito foi atribuído ao aumento de osteócitos e do fluxo sanguíneo na área de exodontia.

Palavras chave: Bifosfonatos, Cirurgia Bucal, Osteonecrose, Inibidores da Fosfodiesterase, Vitamina E

ABSTRACT

This study evaluated the effect of the administration of pentoxifylline and α -tocopherol (PENTO) before or after tooth extraction, in the therapy of medication-related jaw osteonecrosis (MRONJ) in rats submitted to the application of zoledronic acid (AZ). Sixty Wistar rats were divided into three prevention groups (Control, BF and BF + PENTO / P) and three treatment groups (Control, BF and BF + PENTO / T), with 10 animals each. 0.1 mg / kg of AZ was applied twice a week for 12 weeks in the BF and BF + PENTO groups. On the 6th week, all animals underwent extraction. BF + PENTO / P received 50 mg / kg / day of pentoxifylline and 80 mg / kg / day of α -tocopherol one week before the procedure, until euthanasia, at 12 weeks. BF + PENTO / T received the same PENTO protocol from the 12th week, ending with 16 weeks. The presence and severity of osteonecrosis was assessed by clinical, imaging and histological analysis of the jaw. Treatment with PENTO, after extraction, reduced the histological incidence of osteonecrosis by 50%. In addition, the BF + PENTO / T group has been shown to decrease the percentage of empty osteocyte gaps and the necrotic area, decrease the presence of bone sequestration and increase the number of osteocytes and alveolar blood flow, reducing the severity of MRONJ ($p < 0.05$). In the BF + PENTO / P group, there was only a reduction in the percentage of empty gaps ($p < 0.05$). The effect of pentoxifylline and α -tocopherol, when administered before extraction, was not observed in the prevention of MRONJ. However, the application of pentoxifylline and α -tocopherol as a treatment, after extraction, decreased the radiological and histological incidence of MRONJ, in addition to reducing the disease severity score. This effect was attributed to the increase in osteocytes and blood flow in the extraction area.

Keywords: Bisphosphonates, Oral Surgery, Osteonecrosis, Phosphodiesterase Inhibitors, Vitamin E

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Delineamento experimental dos grupos de prevenção (a) e tratamento (b). Nos dois delineamentos, a exodontia do primeiro molar inferior foi realizada na sexta semana e administração de ácido zoledrônico foi realizada por 12 semanas. No delineamento “a”, pentoxifilina e tocoferol foram administrados uma semana antes da exodontia e 6 semanas depois. No delineamento “b”, pentoxifilina e tocoferol foram administrados após o fim da aplicação de AZ, da 12^o a 16^o semana.....16
- FIGURA 2 – Análise clínica. A) Modelo de reparo ósseo alveolar após exodontia do primeiro molar inferior esquerdo, a seta indica o local de exodontia. B) Modelo de exposição óssea após exodontia do primeiro molar inferior esquerdo, a seta indica o local de exodontia e presença de osteonecrose.....17
- FIGURA 3 – Casualização de campos. As quatro autoformas circulares em preto indicam as regiões de interesse fotografadas na análise histológica.....19
- FIGURA 4 – Elementos histológicos quantificados com o auxílio do software ImageJ. Seta 1: Vaso sanguíneo. Seta 2: Osteócito. Seta 3: Lacuna de osteócito vazia.....20
- FIGURA 5 – Incidência histológica de osteonecrose nos grupos de prevenção (a) e de tratamento (b).....22
- FIGURA 6 – Porcentagem das lacunas de osteócitos vazias presentes nos cortes histológicos nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b).....23
- FIGURA 7 – Medida do número de osteócitos por mm² presente nos cortes histológicos nos grupos de prevenção (a) e tratamento (b).....23
- FIGURA 8 – Percentual de área de tecido ósseo necrótico entre os grupos prevenção e tratamento.....24
- FIGURA 9 – Medida do fluxo sanguíneo (UA) no local da exodontia nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b).....25
- FIGURA 10 – Número de vasos sanguíneos por mm² presente nos cortes histológicos nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b).....26
- FIGURA 11 – Média dos escores de severidade da MRONJ de acordo com os parâmetros clínicos, imaginológicos e histológicos nos grupos de prevenção e tratamento.....26

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Severidade da osteonecrose subclínica e clínica de acordo com os escores I, II, III, IV.....	20
TABELA 2 – Análise macroscópica dos parâmetros clínicos da osteonecrose de mandíbula nos grupos que seguiram o delineamento de prevenção.....	21
TABELA 3 – Análise macroscópica dos parâmetros clínicos da osteonecrose de mandíbula nos grupos que seguiram o delineamento de tratamento.....	22
TABELA 4 – Análise radiográfica qualitativa das imagens digitais nos grupos prevenção.....	24
TABELA 5 – Análise radiográfica qualitativa das imagens digitais nos grupos de tratamento.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAOMS	Associação Americana de Cirurgiões Orais e Maxilofaciais
ANOVA	Análise da Variância
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>
AZ	Ácido Zoledrônico
BFs	Bifosfonatos
BRONJ	Osteonecrose de mandíbula relacionada a bifosfonatos
CEUA	Comissão de Ética na Utilização de Animais
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
i.p.	Intraperitoneal
MRONJ	Osteonecrose de mandíbula relacionada a medicamentos
NAEVI	Núcleo Avançado de Estudos da Vida
ORN	Osteorradiationecrose
p	Nível de Significância
PDE	Fosfodiesterase
PENTO	Pentoxifilina e Tocoferol
PTX	Pentoxifilina
SBCAL	Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratórios
SS	Solução Salina
TO	Tocoferol
UA	Unidades Arbitrárias
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
UI	Unidades Internacionais
VEGF	Fator de Crescimento Endovascular
VEGRF-2	Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular - 2

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	11
3 ARTIGO	12
3.1 INTRODUÇÃO	13
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.2.1 Considerações Éticas e Manipulação Animal	15
3.2.2 Delineamento Experimental	15
3.2.3 Análise Clínica	17
3.2.4 Análise do Fluxo Sanguíneo Local	18
3.2.5 Eutanásia	18
3.2.6 Análise Radiográfica	18
3.2.7 Análise Histológica	18
3.2.8 Classificação do Grau de Severidade.....	20
3.2.9 Análise Estatística	21
3.3 RESULTADOS	21
3.3.1 Manifestação Clínica da Osteonecrose	21
3.3.2 Incidência Histológica da Osteonecrose	22
3.3.3 Avaliação radiográfica da Qualidade Óssea	24
3.3.4 Vascularização Óssea.....	25
3.3.5 Grau de Severidade da Osteonecrose	26
3.4 DISCUSSÃO	27
REFERÊNCIAS	31
REFERÊNCIAS	37
ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO NA CEUA	39

1 INTRODUÇÃO GERAL

A osteonecrose de mandíbula relacionada a medicamentos, conhecida internacionalmente pelo termo *medication-related osteonecrosis of the jaw* (MRONJ) foi relatada pela primeira vez por Marx em 2003 (MARX, 2003). Desde então, o número de casos tem aumentado se tornando um desafio para os profissionais de saúde, por se tratar de uma condição clínica de difícil manejo que requer abordagem multidisciplinar (HEIFETZ-LI et al., 2019; DRUDGE-COATES et al., 2020). Inicialmente, a osteonecrose de mandíbula era relacionada exclusivamente ao uso de bifosfonatos (BFs). Porém, esta condição passou a ser desencadeada por outras classes de medicamentos, entre eles o antirreabsortivo denosumab e o anticorpo antiangiogênico bevacizumab (QI et al., 2013; SIVOLELLA et al., 2013). Ainda assim, a maioria dos casos de MRONJ são decorrentes do uso de BFs (EGUIA; BAGAN; CARDONA, 2020).

De acordo com a Associação Americana de Cirurgiões Orais e Maxilofaciais (AAOMS), pacientes com MRONJ se enquadram nas seguintes características: (1) tratamento atual ou anterior com agentes antirreabsortivos ou anti-angiogênicos; (2) osso exposto ou osso que possa ser sondado através de fístula intra ou extra-oral na região maxilofacial, e que persiste por mais de 8 semanas; e (3) sem histórico de radioterapia ou doença metastática na mandíbula (RUGGIERO et al., 2014). A condição manifesta-se com maior frequência após um fator traumático local, como doença periodontal, exodontia ou outras cirurgias orais (KUN-DARBORIS et al., 2018). Os mecanismos de desenvolvimento da doença envolvem a inibição da reabsorção e remodelação óssea, inibição da angiogênese e processo inflamatório e infeccioso (RUGGIERO et al., 2014; BOLETTE et al., 2019).

O tratamento de escolha depende do estágio de desenvolvimento da doença, podendo variar de analgésicos e antibióticos, até desbridamento e/ou ressecção completa da área necrótica (RUGGIERO et al., 2014; ALDHALAAN; BAQAIS; AL-OMAR, 2020). Visto que as estratégias atuais alcançam uma baixa taxa de remissão (BRIERLY et al., 2019), muitas pesquisas buscam desenvolver terapias adjuvantes (RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ et al., 2020). Pentoxifilina e tocoferol (PENTO) são medicamentos inicialmente utilizados para o tratamento da osteorradição (ORN), uma condição com fisiopatologia diferente da MRONJ, mas que compartilha

algumas similaridades, como a exposição óssea mandibular (DELANIAN; DEPONDT; LEFAIX, 2005; GRISAR et al., 2016). O tratamento com PENTO foi utilizado em estudos clínicos como protocolo de tratamento para MRONJ e apresentou resultados promissores. Entretanto, os autores reportam que a resolução dos casos ocorreu entre 3 e 48 meses, um tempo variável e que pode atingir uma longa duração (EPSTEIN et al., 2010; OWOSHO et al., 2016; HEIFETZ-LI et al., 2019). Nessas condições, é necessário estabelecer uma medida preventiva ao desenvolvimento de MRONJ. Diante do potencial do protocolo PENTO em reverter o quadro de necrose óssea, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito dos medicamentos pentoxifilina e α -tocoferol, quando administrados antes ou depois da exodontia, no desenvolvimento de MRONJ em ratos submetidos ao tratamento sistêmico com bifosfonato.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da administração de pentoxifilina e α -tocoferol, antes (prevenção) ou depois (tratamento) da exodontia, no desenvolvimento de osteonecrose de mandíbula, em ratos submetidos ao tratamento sistêmico com ácido zoledrônico.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

Analisar o efeito da pentoxifilina e α -tocoferol sobre as manifestações clínicas da osteonecrose de mandíbula: úlcera, fístula, exposição óssea, eritema e edema.

Avaliar a ação da pentoxifilina e α -tocoferol sobre a incidência da osteonecrose de mandíbula por meio da análise histológica.

Avaliar a ação da pentoxifilina e α -tocoferol sobre a presença/ausência de sequestros ósseos por meio da análise radiográfica.

Analisar o efeito da pentoxifilina e α -tocoferol sobre o escore de severidade da osteonecrose de mandíbula.

3 ARTIGO

EFEITO DA PENTOXIFILINA E α -TOCOFEROL NA OSTEONECROSE DE MANDÍBULA INDUZIDA POR BIFOSFONATO: ANTES E DEPOIS DA EXODONTIA

Gabrielle Delfrate¹, Marcela Claudino², Leandro Cavalcante Lipinski³, Mariane Faria Moss⁴, Tayline Mroczek Pereira Pinto⁵, Leomar Emanuel Almeida Mecca⁶, Jéssica Daniela Andreis⁷, Gilson Cesar Nobre Franco⁸

¹Farmacêutica, Mestranda em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). E-mail: g_delfrate@hotmail.com

²Doutorado em Biologia Oral, UEPG. E-mail: marcelaclaudino@hotmail.com

³Doutorado em Clínica Veterinária, UEPG. E-mail: leandrolipinski@yahoo.com.br

⁴Doutorado em Medicina, UEPG. E-mail: marianefaria.moss@gmail.com

⁵Mestranda em Ciências da Saúde, UEPG. E-mail: tayline_mpp@hotmail.com

⁶Doutorando em Odontologia, UEPG. E-mail: leoo.mecca@gmail.com

⁷Doutoranda em Odontologia, UEPG. E-mail: jdandreis@outlook.com

⁸Doutorado em Odontologia, UEPG. E-mail: gilsoncnf@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Esse estudo avaliou o efeito da administração de pentoxifilina e α -tocoferol (PENTO) antes ou depois da exodontia, na terapia da osteonecrose de mandíbula relacionada a medicamentos (MRONJ) em ratos submetidos a aplicação de ácido zoledrônico (AZ).

Metodologia: Sessenta ratos Wistar foram divididos em três grupos de prevenção (Controle, BF e BF+PENTO/P) e três grupos de tratamento (Controle, BF e BF+PENTO/T), com 10 animais cada. 0,1 mg/kg de AZ foi aplicado duas vezes por semana por 12 semanas nos grupos BF e BF+PENTO. Na 6ª semana, todos os animais foram submetidos a exodontia, sendo que BF+PENTO/P recebeu 50 mg/kg/dia de pentoxifilina e 80 mg/kg/dia de α -tocoferol uma semana antes do procedimento, até a eutanásia, com 12 semanas. BF+PENTO/T recebeu o mesmo protocolo PENTO a partir da 12ª semana, encerrando com 16 semanas. A presença e severidade da osteonecrose foi avaliada pela análise clínica, imaginológica e histológica da hemimandíbula.

Resultados: O tratamento com PENTO, pós-exodontia, reduziu a incidência histológica de osteonecrose em 50%. Além disso, o grupo BF+PENTO/T demonstrou diminuir porcentagem de lacunas de osteócitos vazias e área necrótica, diminuir a presença de sequestros ósseos e aumentar o número de osteócitos e fluxo sanguíneo alveolar, reduzindo a severidade da MRONJ ($p < 0,05$). No grupo BF+PENTO/P houve somente redução na porcentagem de lacunas vazias ($p < 0,05$).

Conclusões: PENTO antes da exodontia não preveniu o desenvolvimento de MRONJ. PENTO como tratamento pós exodontia, diminuiu a incidência radiológica e histológica de MRONJ, além de reduzir o escore de severidade da doença.

Palavras chave: Bifosfonatos, Cirurgia Bucal, Osteonecrose, Inibidores da Fosfodiesterase, Vitamina E

ABSTRACT

Objective: Evaluated the effect of the administration of pentoxifylline and α -tocopherol (PENTO) before or after tooth extraction, in the therapy of medication-related jaw osteonecrosis (MRONJ) in rats submitted to the application of zoledronic acid (AZ).

Methodology: Sixty Wistar rats were divided into three prevention groups (Control, BF and BF + PENTO/P) and three treatment groups (Control, BF and BF+PENTO/T), 10 animals each. 0.1 mg/kg of AZ was applied twice a week for 12 weeks in BF and BF+PENTO groups. On 6th week, all animals underwent extraction. BF+PENTO/P received 50 mg/kg/day of pentoxifylline and 80 mg/kg/day of α -tocopherol one week before the procedure, until euthanasia, at 12 weeks. BF+PENTO/T received the same PENTO protocol from the 12th week, ending with 16 weeks. The presence and severity of osteonecrosis was assessed by clinical, imaging and histological analysis of the jaw.

Results: Treatment with PENTO, after extraction, reduced the histological incidence of osteonecrosis by 50%. In addition, the BF+PENTO/T group has been shown to decrease the percentage of empty osteocyte gaps and the necrotic area, decrease the presence of bone sequestration and increase the number of osteocytes and alveolar blood flow, reducing the severity of MRONJ ($p<0.05$). In the BF+PENTO/P group, there was only a reduction in the percentage of empty gaps ($p<0.05$).

Conclusions: PENTO before extraction did not prevent the development of MRONJ. PENTO as a post-extraction treatment, decreased the radiological and histological incidence of MRONJ, in addition to reducing the disease severity score.

Keywords: Bisphosphonates, Oral Surgery, Osteonecrosis, Phosphodiesterase Inhibitors, Vitamin E

3.1 INTRODUÇÃO

A osteonecrose de mandíbula relacionada a bifosfonatos (BRONJ) foi relatada por Marx (2003) como exposição óssea dolorosa, não respondente à cirurgia ou tratamentos, em pacientes que faziam uso de pamidronato ou zoledronato. Desde então, outros medicamentos antirreabsortivos, antiangiogênicos, imunossupressores e anti-inflamatórios foram relacionados à doença, sendo aderido o termo osteonecrose de mandíbula relacionada a medicamentos (MRONJ) (Ruggiero et al., 2014; Eguia, Bagan, & Cardona, 2020). Ainda assim, a maioria dos casos são relacionados ao uso de bifosfonatos (BFs). BFs são uma classe de antirreabsortivos amplamente indicados para o tratamento de osteoporose, hipercalcemia, mieloma múltiplo e metástases ósseas. Essas drogas são bastante utilizadas em todo o mundo, colocando milhares de pessoas em risco de desenvolver MRONJ (Aldhalaan, Baqais, & Al-Omar, 2020; Adachi et al., 2020).

O manejo da MRONJ é um desafio para os profissionais da saúde. A doença pode levar a dor significativa, perda óssea e redução da qualidade de vida do paciente (Brauner et al., 2021). Além disso, muitos casos são refratários ao tratamento, não sendo definido um padrão ouro (Brierly et al., 2019; Drudge-Coates et al., 2020). Três categorias de intervenção são descritas na literatura: tratamento conservativo da osteonecrose (analgésicos e antimicrobianos sistêmicos e locais), sequestrectomia e tratamentos adjuvantes (Drudge-Coates et al., 2020; He et al., 2020; Varoni et al., 2021). Entre as terapias adjuvantes, destaca-se o uso de fatores de crescimento como proteína morfogenética óssea (Rahim, Salt, & Heliotis, 2015) e plasma rico em plaquetas (Cardoso et al., 2019), laser de baixa intensidade (Rodríguez-Sánchez et al., 2020) e pentoxifilina e tocoferol (PENTO) (Owosho et al., 2016).

A pentoxifilina (PTX) é um inibidor não seletivo da enzima fosfodiesterase (PDE) utilizada para o tratamento de doença vascular periférica (Windmeier, &

Gressner, 1997). O tocoferol (TO) é uma isoforma da vitamina E, um importante agente antioxidante com propriedades anti-inflamatórias e no metabolismo ósseo (Shuid et al., 2009). Inicialmente, esses medicamentos foram utilizados para o tratamento da osteorradionecrose (ORN), uma condição com fisiopatologia diferente da MRONJ, mas que compartilha algumas similaridades, como a exposição óssea mandibular. O protocolo PENTO mostrou bons resultados, sendo um dos principais tratamentos utilizados na ORN (Delanian; Depondt & Lefaix, 2005; Grisar et al., 2016).

Diante disso, estudos clínicos aplicaram o protocolo PENTO no tratamento da MRONJ (Epstein et al., 2010; Magremanne & Reychler, 2014; Owosho et al., 2016; Seo et al., 2020). Os resultados reportaram a remissão de casos em um tempo médio de 10,6 meses (variando de 3 a 48 meses) (Cavalcante & Tomasetti, 2020). A possibilidade de períodos muito prolongados de tratamento e a falta de evidências científicas, faz com que o protocolo PENTO ainda não seja utilizado como padrão ouro no tratamento da MRONJ (Heifetz-Li et al., 2019). Diante da dificuldade encontrada na terapia da doença, uma medida profilática para pacientes em risco de desenvolver MRONJ seria de grande relevância (Imada et al., 2019).

Até o momento, a prevenção da MRONJ é baseada em acompanhamento odontológico (Di Fede et al., 2018) e utilização de antibioticoterapia antes e depois de procedimentos orais (Bermúdez-Bejarano et al., 2017), visto que traumas na mucosa, como extrações dentárias, são considerados os principais fatores desencadeantes da MRONJ (Lodi et al., 2010; Khan et al., 2017). A PTX e TO possuem propriedades farmacológicas na remodelação óssea, angiogênese e diminuição da inflamação (Li, & Wang, 2019; Pal et al., 2019; Wong et al., 2019). Os medicamentos possuem efeitos sinérgicos que podem atuar na etiologia da MRONJ, mas a ação na prevenção da doença ainda não foi elucidada. A utilização do protocolo PENTO em pacientes de risco que necessitam de cirurgia oral poderia evitar um longo período de tratamento ou diminuir a gravidade da exposição óssea, facilitando o manejo da MRONJ. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da administração de pentoxifilina e α -tocoferol, antes ou depois da exodontia, no desenvolvimento da osteonecrose de mandíbula em ratos submetidos ao tratamento sistêmico com bifosfonato.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Considerações Éticas e Manipulação Animal

Foram utilizados ratos machos Wistar adultos ($294,5 \text{ g} \pm 24,5$) provenientes do Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (Ponta Grossa, PR). Gaiolas de polipropileno, com 4 a 5 animais cada, foram mantidas em estantes verticais, no regime 12/12h (claro e escuro), com temperatura controlada (25°C). Os animais receberam dieta comercial normoproteica e água natural *ad libitum*. Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (número de protocolo 0045162) e seguiu as recomendações da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e as diretrizes da *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* (ARRIVE) (Percie du Sert et al., 2020).

3.2.2 Delineamento Experimental

Sessenta animais foram separados aleatoriamente em 6 grupos experimentais, com 10 animais cada. Três grupos seguiram o delineamento experimental de prevenção (Controle, BF e BF+PENTO/P) (Fig. 1a) e três grupos seguiram o delineamento experimental de tratamento (Controle, BF e BF+PENTO/T) (Fig. 1b). O cálculo amostral foi realizado no programa Gpower 3.1 (Faul et al., 2007), com base em dados prévios dos grupos de pesquisa (Mecca, 2018). Os cálculos foram realizados a partir da média e desvio padrão da avaliação histológica, estabelecendo um poder do teste de 85%, tamanho de efeito (d de Cohen) de 0,5 e nível de significância (p) de 0,05.

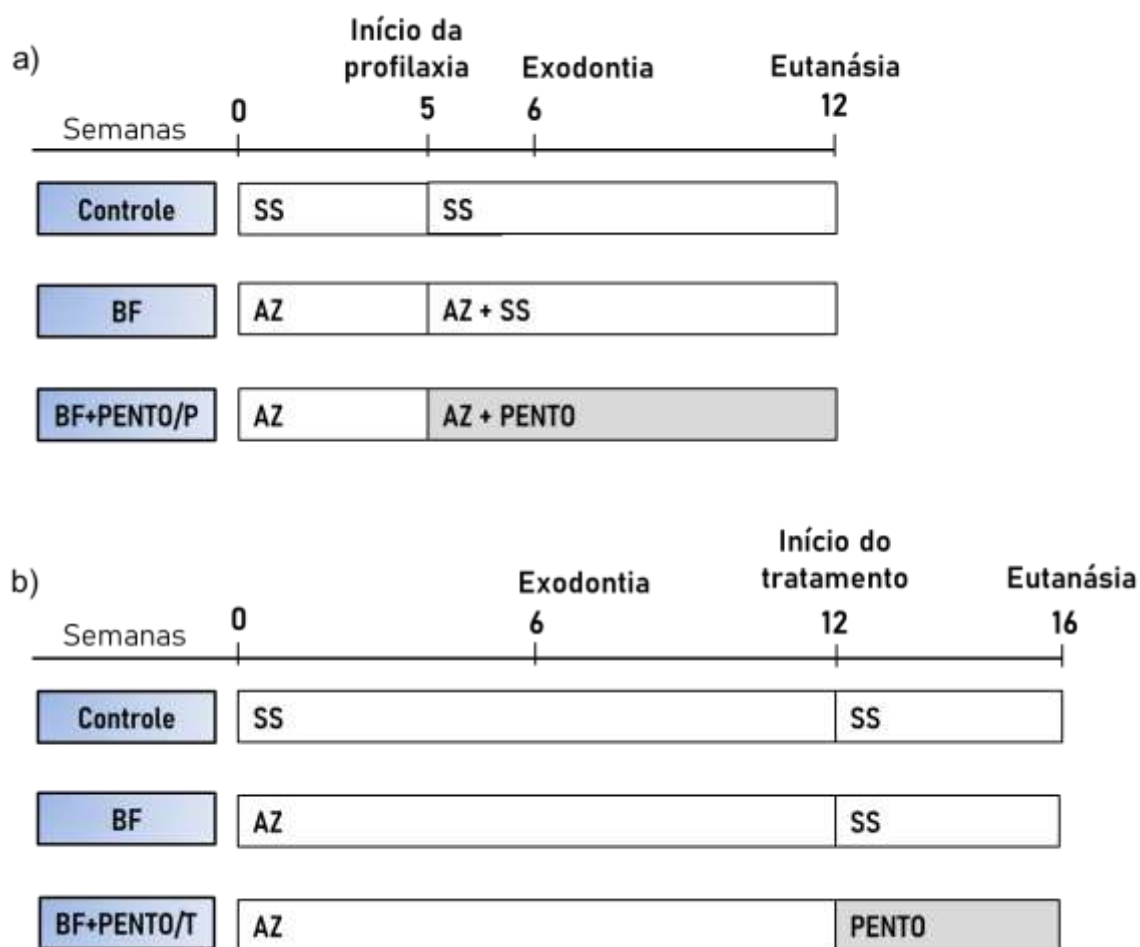


Figura 1. Delineamento experimental dos grupos de prevenção (a) e tratamento (b). Nos dois delineamentos, a exodontia do primeiro molar inferior foi realizada na sexta semana e administração de ácido zoledrônico foi realizada por 12 semanas. No delineamento “a”, pentoxifilina e tocoferol foram administrados uma semana antes da exodontia e 6 semanas depois. No delineamento “b”, pentoxifilina e tocoferol foram administrados após o fim da aplicação de AZ, da 12ª a 16ª semana. (SS: Solução salina; AZ: Ácido zoledrônico; PENTO: Pentoxifilina e α -tocoferol). Fonte: A autora.

O mesmo método para indução de MRONJ, adaptado de Córdova et al. (2016), foi utilizado em ambos os delineamentos. Foi administrado 0,1 mg/kg via intraperitoneal de ácido zoledrônico (AZ) (Sigma-Aldrich, Charleston, WV, EUA) duas vezes por semana, por 12 semanas, nos grupos BF, BF+PENTO/P e BF+PENTO/T. A dose total de AZ administrada foi equivalente a 4 semanas de terapia para mieloma múltiplo em um adulto de 70 kg (Pozzi et al., 2009). Os grupos controle receberam 1 mL/dia de solução salina (SS) via gavagem no mesmo período.

Na semana 5 o grupo BF+PENTO/P iniciou a terapia profilática com 50 mg/kg/dia i.p. de pentoxifilina (Vascer®; Chemical Union; São Paulo, SP, Brasil) e 80 mg/kg/dia de α -tocoferol (Florien Fitoativos; Piracicaba, SP, Brasil) via gavagem diária até o dia da eutanásia, com 12 semanas. As doses administradas foram baseadas na

fórmula de Reagan-Shaw, Nihal e Ahmad (2007), considerando uma dose diária total em humanos de 800 mg de PTX e 1000 UI de TO (Heifetz-Li et al., 2019).

Na semana 6, sob anestesia geral com quetamina (70 mg/kg i.p.; Cetamin®; Syntec, Santana de Parnaíba, SP, Brasil) e xilazina (10 mg/kg i.p.; Xilasin®; Syntec, Santana de Parnaíba, SP, Brasil), todos os seis grupos foram submetidos a exodontia do primeiro molar inferior esquerdo (Howie et al., 2015). Seis semanas após a exodontia, todos os grupos encerraram a administração de AZ, mas somente os três grupos de prevenção foram eutanasiados.

Já os grupos de tratamento foram eutanasiados com 16 semanas, após terapia de 4 semanas. A partir da 12ª semana, os grupos controle e BF receberam 1 mL de solução salina via gavagem e o grupo BF+PENTO/T recebeu o protocolo PENTO supracitado.

3.2.3 Análise Clínica

Antes do procedimento de eutanásia, sob anestesia geral, todos os animais foram posicionados em dispositivos experimentais apropriados. Um examinador experiente avaliou a área de exodontia quanto a presença de reparo ósseo alveolar ou exposição óssea (Fig. 2). Em seguida, foi avaliada a presença/ausência de úlcera, fístula, edema e eritema, características clínicas da osteonecrose.

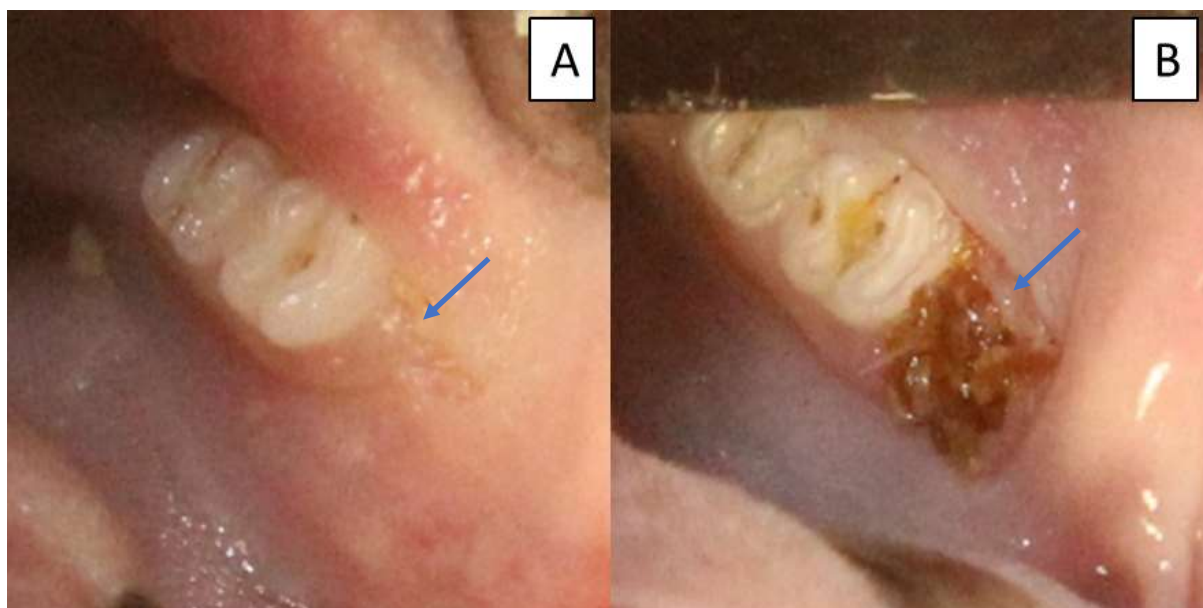


Figura 2. Análise clínica. A) Modelo de reparo ósseo alveolar após exodontia do primeiro molar inferior esquerdo, a seta indica o local de exodontia. B) Modelo de exposição óssea após exodontia do primeiro molar inferior esquerdo, a seta indica o local de exodontia e presença de osteonecrose. Fonte: A autora.

3.2.4 Análise do Fluxo Sanguíneo Local

Após a análise clínica, foi avaliado o fluxo sanguíneo no local da exodontia por meio do Laser Doppler Blood Flow (Moor Instruments Ltd, Axminster, UK). A sonda do equipamento foi posicionada na região central do alvéolo, evitando contato com a mucosa do animal com distância vertical de 1mm. Um único operador realizou três diferentes medidas de 10 segundos para cada região. Esses dados foram gravados e analisados utilizando o software fornecido pelo fabricante (MoorSoft for Windows / moorLDLS2). Os resultados foram expressos como unidades arbitrárias (UA).

3.2.5 Eutanásia

Após a análise clínica e do fluxo sanguíneo, os animais foram eutanasiados por sobredose anestésica utilizando quetamina (210 mg/kg i.p.; Syntec, Brasil) e xilazina (30 mg/kg i.p.; Syntec, Brasil). Em seguida, as hemimandíbulas esquerdas foram coletadas e fixadas em solução de formalina tamponada 10% por 24 horas.

3.2.6 Análise Radiográfica

As radiografias foram realizadas por meio de um aparelho digital (Gnatus, São Paulo, SP, Brasil). A obtenção das imagens radiográficas foi realizada com as hemimandíbulas posicionadas paralelamente ao filme radiográfico digital, com distância focal de 10 cm e tempo de exposição de 0,16 segundos. As imagens radiográficas foram avaliadas qualitativamente em relação a presença ou ausência de sequestro ósseo, raiz residual e reparo ósseo alveolar no local de exodontia (Jabbour et al., 2014; Silva et al., 2015).

3.2.7 Análise Histológica

Após a análise radiográfica, as hemimandíbulas foram submetidas à descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 9% com trocas diárias até a confirmação da desmineralização. Em seguida, as amostras foram processadas em um sistema histotécnico semi-fechado (Leica Microsystems, Buffalo Grove, IL, United States) seguindo as etapas de desidratação, diafanização e impregnação em

parafina (Howie et al., 2015). Cortes semi-seriados com espessura de 5 μm foram realizados em micrótomo (Lupetec, São Paulo, SP, Brasil) e coradas com hematoxilina e eosina (HE).

As lâminas foram analisadas usando um microscópio binocular em aumento de 400x (Olympus, São Paulo, SP, Brasil). Em cada lâmina, após a identificação do segundo e terceiro molar, quatro campos foram fotografados a partir do local de exodontia do primeiro molar inferior (Fig. 3). As imagens obtidas foram avaliadas por meio do software ImageJ (National Institute of Mental Health-Bethesda, Maryland, USA). Utilizando a ferramenta “pontos múltiplos”, os seguintes elementos foram quantificados: vasos sanguíneos, osteócitos e lacunas de osteócitos vazias (Fig. 4). A osteonecrose foi caracterizada como a presença de oito lacunas de osteócitos vazias adjuntas (Pacheco et al., 2015). A ferramenta “mãos livres” do programa foi utilizada para mensurar a área óssea total e área com lacunas vazias, obtendo a taxa de osso necrótico.



Figura 3. Casualização de campos. As quatro autoformas circulares em preto indicam as regiões de interesse fotografadas na análise histológica. Fonte: A autora.

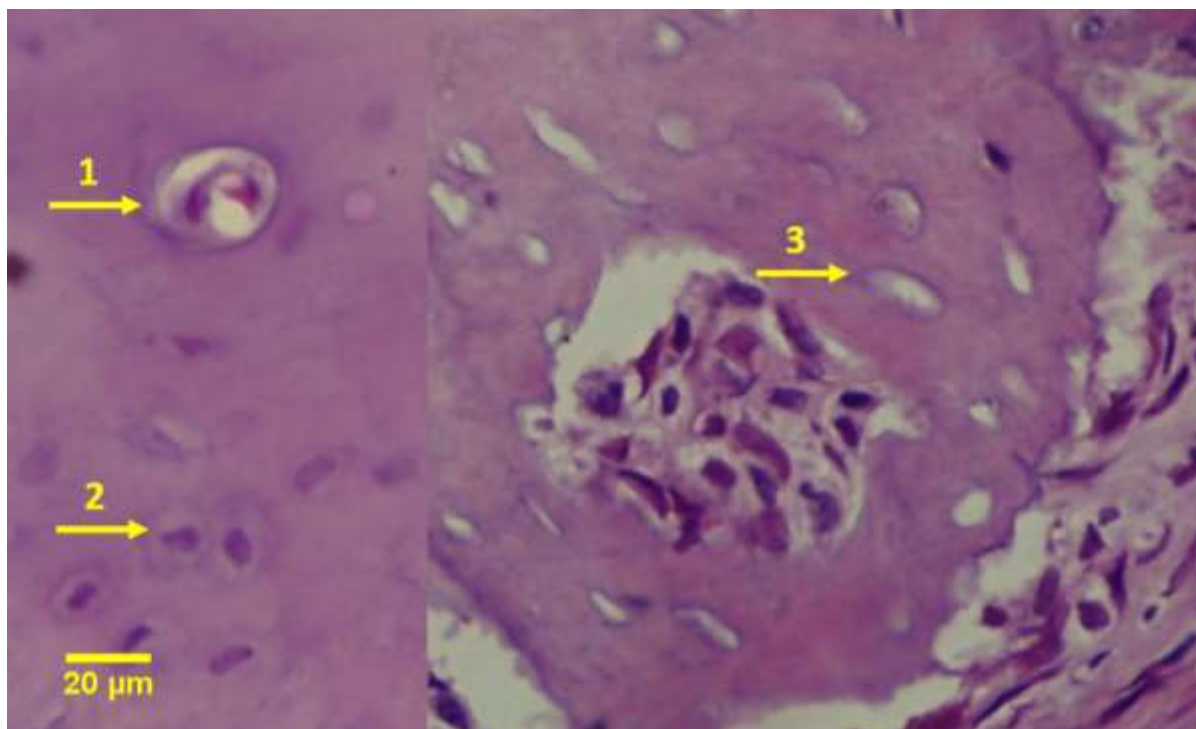


Figura 4. Elementos histológicos quantificados com o auxílio do software ImageJ. Seta 1: Vaso sanguíneo. Seta 2: Osteócito. Seta 3: Lacuna de osteócito vazia. Fonte: A autora.

3.2.8 Classificação do Grau de Severidade

Os animais que tiveram a presença de osteonecrose confirmada, foram classificados em relação ao grau de severidade da MRONJ. Esta classificação levou em consideração os parâmetros clínicos, imaginológicos e histológicos da doença, conforme descrito na Tabela 1. Os scores foram baseados nos estágios da MRONJ em humanos descritos por Ruggiero et al. (2014).

Tabela 1. Severidade da osteonecrose subclínica e clínica de acordo com os escores I, II, III, IV.

Escore	Osteonecrose subclínica		Osteonecrose clínica	
	Histologia (8 lacunas vazias adjuntas)	Radiografia (sequestro ósseo)	Úlcera macroscópica	Fístula macroscópica
I	+	-	-	-
II	+	+	-	-
III	+	+	+	-
IV	+	+	+	+

Fonte: A autora.

3.2.9 Análise Estatística

A normalidade dos dados quantitativos foi avaliada com o teste Shapiro-Wilk, bem como a análise da homogeneidade da variância. Estatísticas analíticas e descritivas foram conduzidas com modelos paramétricos (one-way ou two-way ANOVA e pós teste de Turkey) e não-paramétricos (Kruskal-Wallis e pós teste de Dunn's) pelo software Graph Pad Prism 7 (University of California, San Diego, USA). Para dados nominais dicotômicos qualitativos foi utilizado o teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi 5% ($p < 0,05$).

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Manifestação Clínica da Osteonecrose

A administração de PENTO antes da exodontia não diminuiu significativamente a presença de exposição óssea, úlcera, fístula, edema e eritema em relação ao grupo BF. (Tabela 2). A administração de PENTO como tratamento, pós exodontia, reduziu a presença de eritema ($p < 0,05$), porém não houve diferença significativa em relação a presença de exposição óssea, úlcera e edema em comparação ao grupo BF (Tabela 3).

Tabela 2. Análise macroscópica dos parâmetros clínicos da osteonecrose de mandíbula nos grupos do protocolo de prevenção.

PARÂMETROS CLÍNICOS	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	Controle	BF	BF+PENTO/P
EXPOSIÇÃO ÓSSEA	n = 0/ 0% ^A	n = 5/ 50% ^B	n = 1/ 10% ^{AB}
ÚLCERA	n = 1/ 10% ^A	n = 8/ 80% ^B	n = 3/ 30% ^{AB}
FÍSTULA	n = 0/ 0% ^A	n = 2/ 20% ^A	n = 0/ 0% ^A
EDEMA	n = 0/ 0% ^A	n = 9/ 90% ^B	n = 4/ 40% ^{AB}
ERITEMA	n = 0/ 0% ^A	n = 9/ 90% ^B	n = 4/ 40% ^{AB}

Observação macroscópica da frequência de exposição óssea, úlcera, fístula, edema e eritema nas áreas das exodontias nos grupos Controle, BF e BF+PENTO/P (n=10). As letras ao lado dos resultados expressam diferença significativa entre os grupos (Teste exato de Fischer, $p < 0,05$) A≠B.

Tabela 3. Análise macroscópica dos parâmetros clínicos da osteonecrose de mandíbula nos grupos do protocolo de tratamento.

PARÂMETROS CLÍNICOS	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	Controle	BF	BF+PENTO/T
EXPOSIÇÃO ÓSSEA	n = 0/ 0% ^A	n = 3/ 30% ^A	n = 3/ 30% ^A
ÚLCERA	n = 0/ 0% ^A	n = 7/ 70% ^B	n = 4/ 40% ^{AB}
FÍSTULA	n = 0/ 0% ^A	n = 1/ 10% ^A	n = 2/ 20% ^A
EDEMA	n = 0/ 0% ^A	n = 2/ 20% ^A	n = 0/ 0% ^A
ERITEMA	n = 0/ 0% ^A	n = 8/ 80% ^B	n = 2/ 20% ^A

Observação macroscópica da frequência de exposição óssea, úlcera, fístula, edema e eritema nas áreas das exodontias nos grupos Controle, BF e BF+PENTO/T (n=10). As letras ao lado dos resultados expressam diferença significativa entre os grupos (Teste exato de Fischer, $p < 0,05$) A \neq B.

3.3.2 Incidência Histológica da Osteonecrose

A identificação histológica de 8 lacunas de osteócitos vazias adjuntas caracterizou a incidência de osteonecrose (Fig. 5). Não foi identificada osteonecrose nos grupos controle, enquanto ambos os grupos BF prevenção e BF tratamento tiveram incidência de 100%. O grupo BF+PENTO/P também teve incidência histológica de 100% (Fig. 5a), enquanto no grupo BF+PENTO/T houve uma redução para 50% ($p < 0,05$) (Fig. 5b).

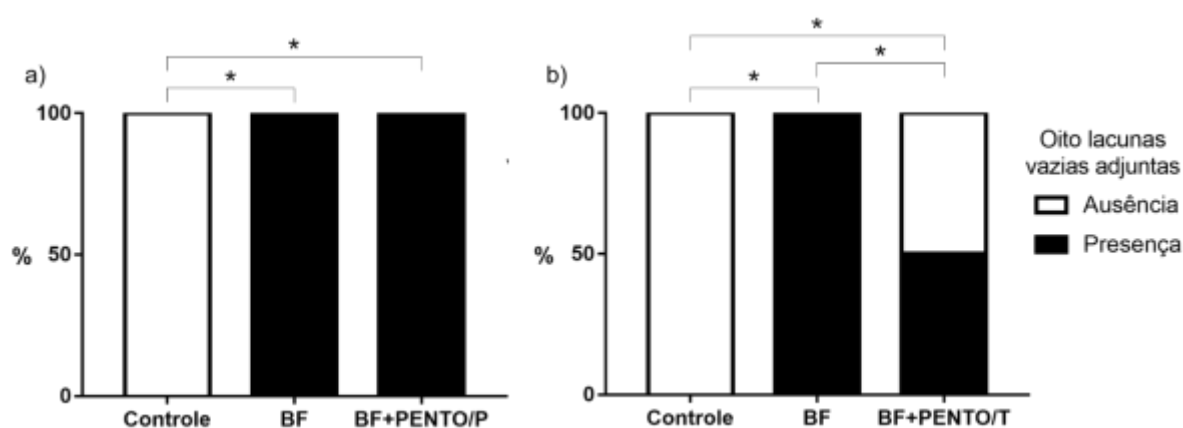


Figura 5. Incidência histológica de osteonecrose nos grupos de prevenção (a) e de tratamento (b). Os resultados estão expressos como porcentagem da frequência do evento (n=10). * $p < 0,05$ (Teste exato de Fisher).

Quantitativamente, ocorreu uma diminuição na porcentagem de lacunas vazias nos grupos BF+PENTO em comparação aos grupos BF prevenção e BF tratamento (Fig. 6). A utilização do protocolo PENTO como profilaxia antes da exodontia refletiu na diminuição da porcentagem de lacunas vazias de 80,10% para 56,62% ($p < 0,05$) (Fig. 6a). Além disso, o tratamento com PENTO seis semanas após a exodontia resultou na diminuição da porcentagem de lacunas vazias de 81,81% para 17,61% ($p < 0,05$) (Fig. 6b).

Em relação ao número de osteócitos, o grupo BF+PENTO/P teve semelhança com o grupo BF (Fig. 7a). Entretanto, o grupo que recebeu PENTO após a exodontia, mostrou número de osteócitos semelhantes ao grupo controle, significativamente maior que o grupo BF ($p < 0,05$) (Fig. 7b). Conseqüentemente, entre os grupos que desenvolveram osteonecrose, houve uma redução significativa na porcentagem da área óssea necrótica no grupo BF+PENTO/T ($p < 0,05$) (Fig. 8).

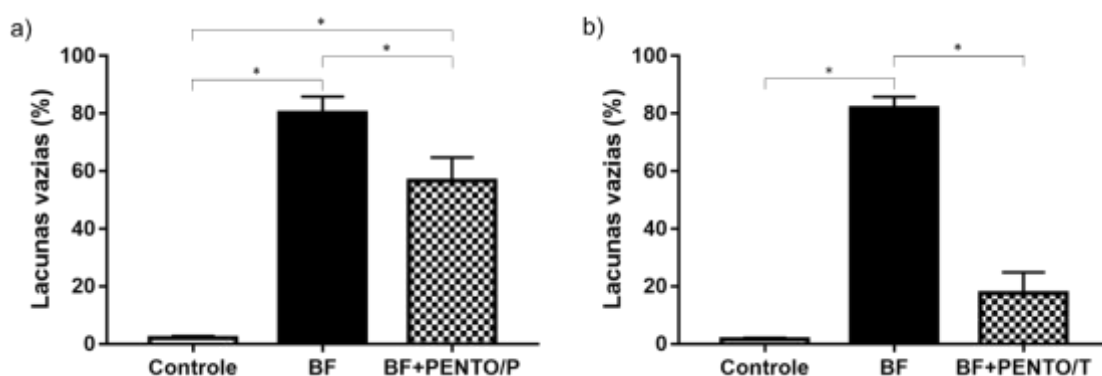


Figura 6. Porcentagem das lacunas de osteócitos vazias presentes nos cortes histológicos nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b). Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média ($n = 10$). * $p < 0,05$ (ANOVA, pós teste de Tukey).

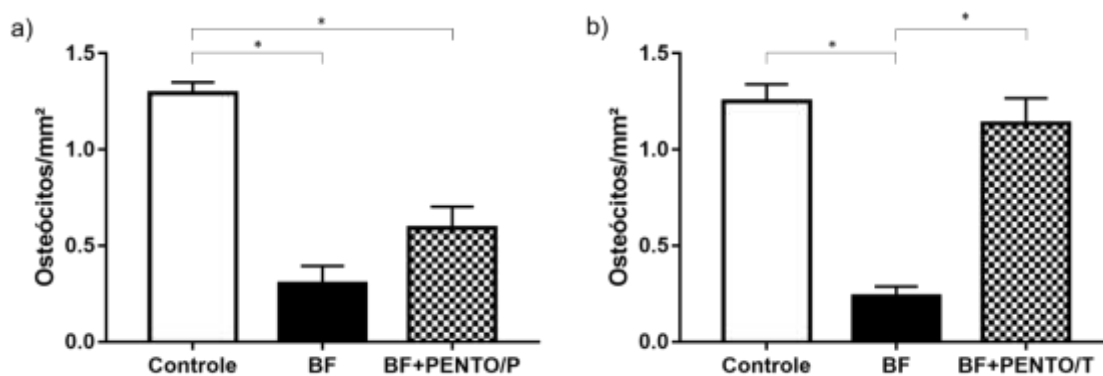


Figura 7. Medida do número de osteócitos por mm^2 presente nos cortes histológicos nos grupos de prevenção (a) e tratamento (b). Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média dos valores ($n = 10$). a) * $p < 0,05$ (ANOVA, pós teste de Tukey). b) * $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis, pós teste de Dunn' s).

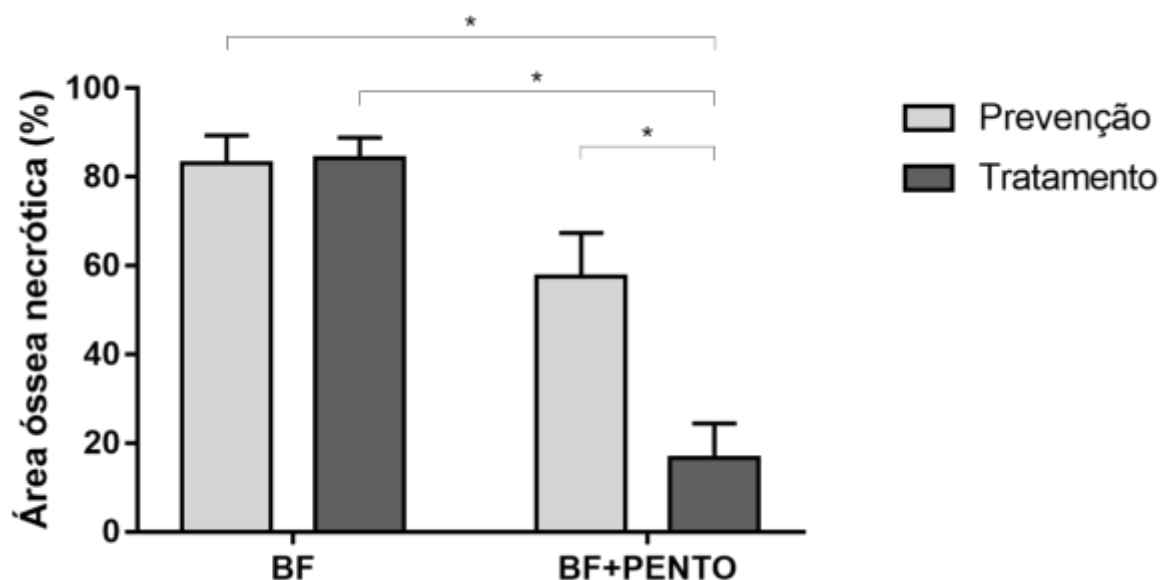


Figura 8. Percentual de área de tecido ósseo necrótico entre os grupos prevenção e tratamento. Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média (n=10). * $p < 0,05$ (Two-way ANOVA, seguido de pós teste de Tukey).

3.3.3 Avaliação radiográfica da Qualidade Óssea

Foi observado a presença de raízes residuais em todos os grupos experimentais (Tabela 4 e 5). Não houve diferença significativa na presença de sequestros ósseos e reparo alveolar entre os grupos BF e BF+PENTO/P (Tabela 4). Entretanto, houve redução significativa de sequestros ósseos e aumento de reparo ósseo alveolar no grupo BF+PENTO/T em comparação a BF ($p < 0,05$).

Tabela 4 – Análise radiográfica qualitativa das imagens digitais nos grupos prevenção.

AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	Controle	BF	BF+PENTO/P
RAIZ RESIDUAL	n = 2/ 20% ^A	n = 1/ 10% ^A	n = 6/ 60% ^A
SEQUESTRO ÓSSEO	n = 1/ 10% ^A	n = 7/ 70% ^B	n = 4/ 40% ^{AB}
REPARO ÓSSEO ALVEOLAR	n = 9/ 90% ^A	n = 2/ 20% ^B	n = 6/ 60% ^{AB}

Frequência de raiz residual, sequestro ósseo e reparo ósseo alveolar por meio de avaliação radiográfica qualitativa das áreas de exodontia nos grupos Controle, BF e BF+PENTO/P (n=10). As letras ao lado dos resultados expressam diferença significativa entre os grupos (Teste exato de Fischer, $p < 0,05$) A \neq B.

Tabela 5 – Análise radiográfica qualitativa das imagens digitais nos grupos de tratamento.

AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA	GRUPOS EXPERIMENTAIS		
	Controle	BF	BF+PENTO/T
RAIZ RESIDUAL	n = 2/ 20% ^A	n = 1/ 10% ^A	n = 2/ 20% ^A
SEQUESTRO ÓSSEO	n = 0/ 0% ^A	n = 10/ 100% ^B	n = 3/ 30% ^A
REPARO ÓSSEO ALVEOLAR	n = 10/ 100% ^A	n = 0/ 0% ^B	n = 7/ 70% ^A

Frequência de raiz residual, sequestro ósseo e reparo ósseo alveolar por meio de avaliação radiográfica qualitativa das áreas de exodontia nos grupos Controle, BF e BF+PENTO/T (n=10). As letras ao lado dos resultados expressam diferença significativa entre os grupos (Teste exato de Fischer, $p < 0,05$) A≠B

3.3.4 Vascularização Óssea

Houve redução na no fluxo sanguíneo alveolar nos grupos BF e BF+PENTO/P, quando comparados ao grupo controle, conforme ilustrado na Figura 9a. Em relação aos grupos de tratamento, BF+PENTO/T demonstrou um aumento ($p < 0,05$) no fluxo sanguíneo em comparação ao grupo BF (Figura 9b). A contagem histológica de vasos sanguíneos revelou resultados semelhantes. Os grupos BF e BF+PENTO/P apresentaram menor quantidade de vasos sanguíneos (Figura 10a). No grupo BF+PENTO/T, o número de vasos sanguíneos foi maior em relação a BF (Figura 10b).

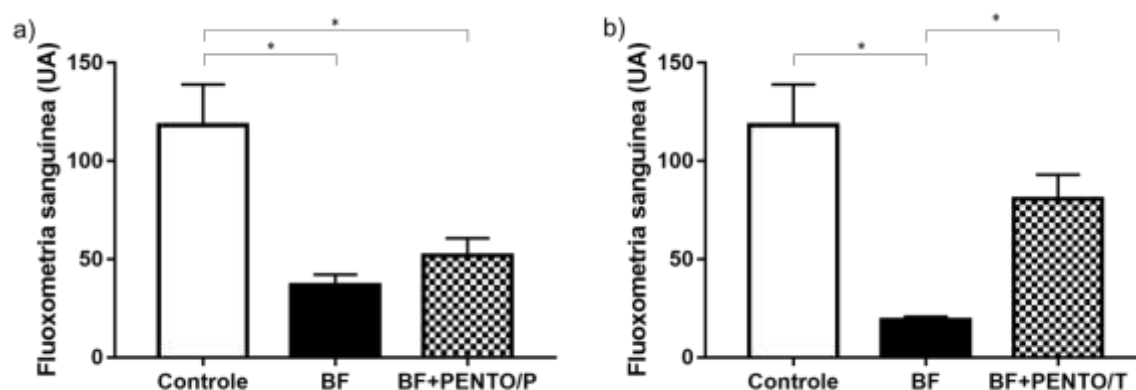


Figura 9. Medida do fluxo sanguíneo (UA) no local da exodontia nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b). Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média dos valores (n=10). * $p < 0,05$ (ANOVA, pós teste de Tukey).

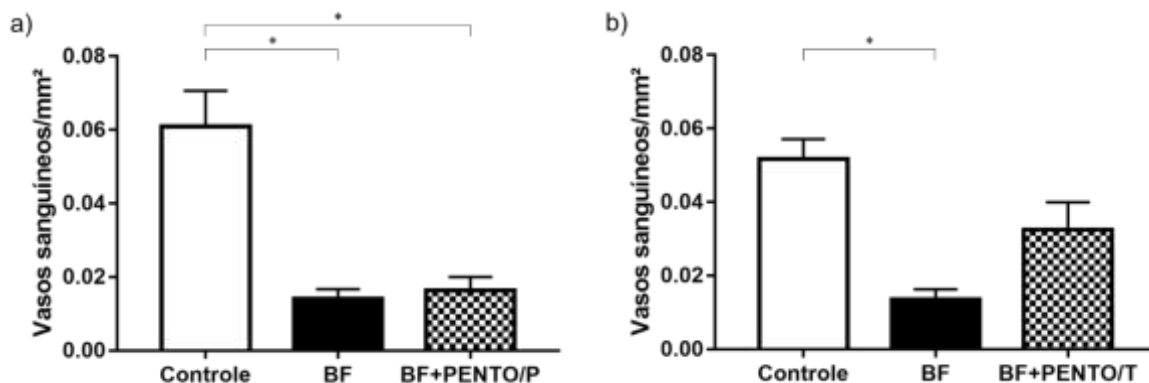


Figura 10. Número de vasos sanguíneos por mm² presente nos cortes histológicos nos grupos que receberam o protocolo de prevenção (a) e de tratamento (b). Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média dos valores (n=10). *p<0,05 (Kruskal-Wallis, pós teste de Dunn's).

3.3.5 Grau de Severidade da Osteonecrose

Entre os grupos que desenvolveram osteonecrose, apenas BF+PENTO/T apresentou redução significativa (p<0,05) no escore de severidade da doença (Figura 11).

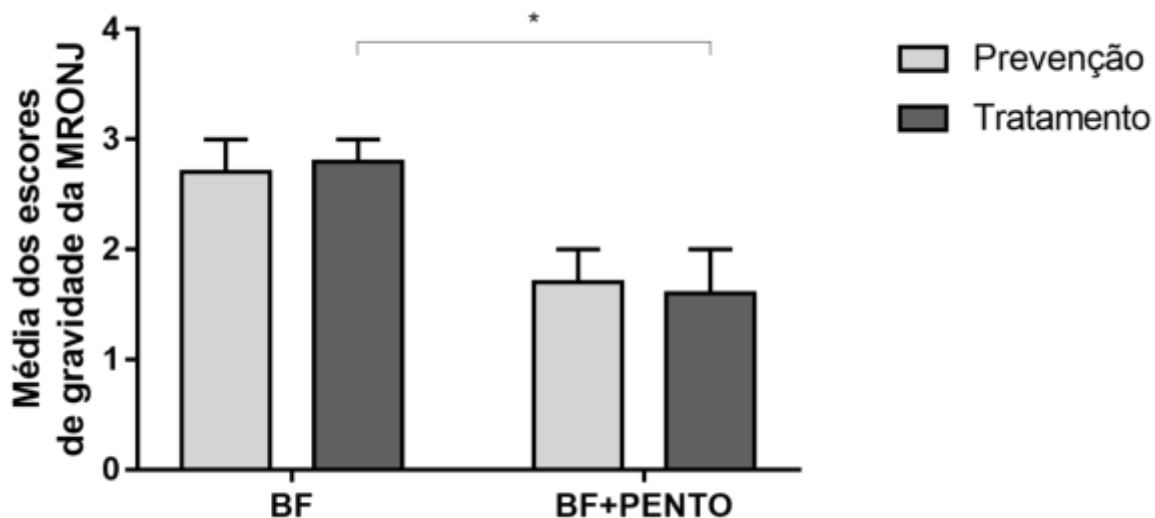


Figura 11. Média dos escores de severidade da MRONJ de acordo com os parâmetros clínicos, imaginológicos e histológicos nos grupos de prevenção e tratamento. Os resultados estão expressos como média e erro padrão da média dos valores (n=10). *p<0,05 (two-way ANOVA, pós teste de Tukey).

3.4 DISCUSSÃO

A MRONJ vem sendo discutida desde a sua descoberta, em 2003 (Marx, 2003). Segundo Ruggiero et al. (2014), a inibição da remodelação óssea e da angiogênese somados a processos inflamatórios e infecciosos são fatores importantes para o desenvolvimento da doença. A mandíbula é afetada pelas altas taxas de remodelação dessa região, caracterizada por estresse mecânico contínuo (Ruggiero et al., 2014; Bolette et al., 2019). A MRONJ pode ocorrer espontaneamente. Entretanto, exodontias e colocação de implantes são considerados fatores desencadeantes da doença (Kun-Darboris et al., 2018; Lu et al., 2021), pois quando ocorre um trauma na região mandibular, os medicamentos antireabsortivos ou antiangiogênicos utilizados interferem na recuperação do tecido lesado, levando a necrose óssea (Li & Wang, 2019; AlDhalaan, BaQais & Al-Omar, 2020).

O diagnóstico é frequentemente realizado após a manifestação clínica de exposição óssea dolorosa. Entretanto, a osteonecrose pode estar presente mesmo de forma assintomática. Assim, a exposição óssea é considerada como um método de diagnóstico tardio (Olutayo et al., 2010; Ruggiero et al., 2014; Kim, Yoo & Choi, 2020). Formas de detecção precoce da MRONJ incluem tomografia computadorizada, radiografia e histopatologia óssea (Yoneda et al., 2017; Ferreira et al., 2020). As manifestações imaginológicas da MRONJ são inespecíficas. Assim, a identificação de sequestros, osteosclerose e outras alterações ósseas, como o espessamento da lâmina dura, são achados que devem ser levados em consideração junto com o histórico do paciente (Devlin et al., 2017; Bolette et al., 2019; Kim, Yoo & Choi, 2020).

A coleta de amostras ósseas da mandíbula para a análise histopatológica em humanos nem sempre é viável. Estudos em modelos animais possuem a vantagem de permitir esse tipo de análise, possibilitando a identificação de alterações precoces referentes ao desenvolvimento de osteonecrose (Sharma et al., 2013; Nowicki et al., 2019). No presente estudo, a avaliação da MRONJ foi feita através das características clínicas, radiográficas e histológicas da doença. O delineamento experimental utilizado mostrou-se eficaz, uma vez que todos os animais dos grupos BF prevenção e tratamento apresentaram características histológicas de osteonecrose. Além disso, o grupo BF prevenção apresentou 100% de sequestros ósseos na análise radiográfica e 50% de exposição óssea na análise clínica. No grupo BF tratamento a frequência foi 70% e 30% de sequestros ósseos e exposição óssea, respectivamente.

Não foi observada diminuição significativa na presença de parâmetros clínicos (exposição óssea, úlcera, fístula, edema e eritema) e radiográficos (sequestros ósseos) da osteonecrose nos grupos que receberam a administração de PENTO uma semana antes da exodontia (prevenção). Além disso, na análise histopatológica, a presença de 8 lacunas vazias adjuntas foi identificada em 100% dos animais. De fato, a análise histopatológica permite identificar formas mais precoces da doença, enquanto a exposição óssea está relacionada a casos mais avançados (Kim, Yoo & Choi, 2020). Apesar do grupo BF+PENTO/P apresentar redução na porcentagem total de lacunas vazias em relação ao grupo BF ($p < 0,05$), não houve aumento de osteócitos, resultando em alta porcentagem de área necrótica. Portanto, a administração do protocolo PENTO antes da exodontia não foi relacionada a prevenção da manifestação de MRONJ.

Já a administração de PENTO como tratamento da MRONJ, após a exodontia, refletiu na diminuição significativa de sequestros ósseos identificados radiograficamente ($p < 0,05$). Clinicamente, houve redução significativa de eritema ($p < 0,05$). Entretanto, não houve diferença estatística em relação aos parâmetros edema, úlcera e fístula. Um resultado que chama a atenção é a frequência de exposição óssea igual nos grupos BF e BF+PENTO/T (30%), porém, resultados diferentes foram observados na análise histopatológica. Os animais que receberam o tratamento com o protocolo PENTO apresentaram uma redução na incidência de osteonecrose à nível histológico de 100% para 50% ($p < 0,05$). Além disso, houve redução significativa da porcentagem de lacunas vazias e área necrótica ($p < 0,05$). Portanto, a administração de PENTO após a exodontia, foi capaz de reduzir a incidência e extensão da osteonecrose. O número de osteócitos observados foi semelhante ao grupo controle, sugerindo que os medicamentos PTX e TO agiram na osteogênese revertendo o quadro de necrose óssea em 50% dos casos.

Analisando esses resultados em conjunto, foi atribuído um escore de severidade para cada animal que desenvolveu osteonecrose. A classificação foi feita baseada nos estágios da MRONJ em humanos, descrito por Ruggiero et al. (2014). Os animais que receberam o protocolo PENTO, tanto na prevenção quanto no tratamento, demonstraram um menor escore de severidade da doença em comparação aos grupos BF. Porém, apenas no grupo que utilizou PENTO como tratamento essa redução foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$). A diminuição da severidade da MRONJ é um achado importante, pois a taxa de regressão da doença

é maior nos estágios iniciais. O estudo de Watanabe et al. (2021) avaliou o tratamento cirúrgico associado a terapia com oxigênio hiperbárico em pacientes com MRONJ estágio 2 e 3. Foi observado que a taxa de cura foi maior nos pacientes em estágio 2 do que em estágio 3.

Uma diferença importante encontrada entre as duas formas de aplicação do protocolo PENTO foram os resultados relacionados a vascularização óssea. A formação de vasos sanguíneos é um processo essencial para a osteogênese e reparo de fraturas (Çakmak et al., 2015). Após o tratamento com AZ, é relatada a diminuição nos níveis séricos do fator de crescimento endovascular (VEGF) (He et al., 2020). Essa atividade antiangiogênica exercida pelos BFs diminui o suprimento vascular, possibilitando a ocorrência de isquemia e, conseqüentemente, de necrose tecidual. O relato de casos de MRONJ relacionados a outros medicamentos antiangiogênicos, como o bevacizumab, um inibidor do VEGF, suporta a teoria de que a diminuição de vasos sanguíneos está envolvida na patogênese da doença (Li & Wang, 2019; Eguia, Bagan & Cardona, 2020).

Efeitos angiogênicos da PTX foram relacionados ao aumento de VEGF e CD31 (Çakmak et al., 2015) e há evidências de que o TO também possui esse mecanismo. Wu et al. (2018) observaram um aumento da transcrição do receptor do fator de crescimento endotelial vascular-2 (VEGRF-2) em ratos que receberam vitamina E sob estresse oxidativo. Curiosamente, apenas o grupo que recebeu PENTO como forma de tratamento demonstrou aumento de vasos sanguíneos e fluxo sanguíneo na área de exodontia. Sendo que o grupo que recebeu profilaxia com PENTO não teve aumento desses mesmos parâmetros. No delineamento de tratamento, PENTO foram administrados sem a presença de AZ. Já no delineamento de prevenção, a administração de PENTO foi concomitante à administração de AZ. Esse resultado sugere que o efeito antiangiogênico do AZ suprimiu a formação de novos vasos sanguíneos no grupo PENTO prevenção. Mas na ausência de AZ, o mecanismo angiogênico de PENTO foi ativado, culminando em melhores resultados nesse grupo.

Além disso, a diferença entre o delineamento experimental dos grupos de prevenção e tratamento pode ter refletido também no potencial osteogênico do protocolo PENTO. Há evidências de que a PTX age na formação e reparo ósseo em ratos (Yalcin-Ulker, 2017; Farahani et al., 2019). A vitamina E também mostrou estar relacionada a formação óssea em coelhos (Akçay et al., 2019). Entretanto, apenas o

grupo que recebeu PENTO como tratamento demonstrou reparo ósseo na área de exodontia e manutenção do número de osteócitos viáveis.

O estudo de Yalcin-Ulker et al. (2017) obteve resultados diferentes. Na referida pesquisa, ratos submetidos a um modelo de MRONJ pela aplicação de AZ receberam PTX uma semana antes e três semanas depois da exodontia. Os animais que receberam a terapia profilática tiveram um aumento na vascularização e reparo das lesões necróticas em comparação ao grupo que só recebeu AZ. No protocolo utilizado, após a exodontia, o tratamento com AZ foi encerrado e nas três semanas seguintes, os animais receberam apenas a aplicação de PTX. Analisando esses resultados em conjunto, sugere-se que a administração concomitante de AZ, na presente pesquisa, interferiu no mecanismo de ação do protocolo PENTO na profilaxia da MRONJ.

É discutido na literatura a possibilidade da interrupção do tratamento com BFs antes de cirurgias orais a fim de diminuir o risco de MRONJ. Entretanto, as evidências são limitadas (Kang, Park & Kim, 2020; Ottesen, Schiodt & Gotfredsen, 2020). Além dos BFs possuírem meia-vida prolongada, com possibilidade de acúmulo no osso em ligação aos cristais de hidroxiapatita por vários anos (Cattalini et al., 2012), existe a possibilidade de aumentar o risco de fraturas no período de suspensão dos medicamentos (Bindon et al., 2018). Porém, no presente estudo foi observado que a presença de AZ interferiu na terapia medicamentosa com PENTO, portanto, existe a necessidade de avaliar o risco e o benefício da interrupção do tratamento com BFs.

Esse estudo possui algumas limitações: (1) Na prática clínica, pacientes com risco de desenvolver MRONJ recebem antibioticoterapia antes e depois de procedimentos cirúrgicos. No presente estudo, não foi utilizada nenhuma forma de prevenção de infecções bacterianas. (2) O medicamento escolhido para o modelo de MRONJ foi o ácido zoledrônico, porém, a utilização do protocolo PENTO deve ser investigada também em modelos de osteonecrose de mandíbula induzida por outras classes de medicamentos. A presença de raízes remanescentes do procedimento de exodontia foi considerada uma limitação da técnica, entretanto, pareceu não interferir no experimento. Pois apesar da presença de raízes residuais nos grupos controle, foi observado reparo ósseo alveolar em 90% e 100% dos animais do grupo controle prevenção e tratamento, respectivamente. Bolette et al. (2019) relataram resultados semelhantes, com a presença de remanescentes radiculares em 94% dos sítios de extração.

Diante disso, a aplicação concomitante de AZ e PENTO em ratos submetidos a exodontia não foi relacionada a prevenção da MRONJ. Contudo, os fármacos pentoxifilina e tocoferol demonstraram propriedades benéficas no tratamento da doença, reduzindo a incidência histológica de osteonecrose em 50%, aumentando a vascularização, número de osteócitos e reparo ósseo alveolar, e reduzindo a severidade da doença em ratos submetidos a aplicação prévia de AZ. Portanto, o aumento da vascularização e a osteogênese parecem ser fatores importantes no tratamento da MRONJ. Porém, outros estudos são necessários para otimização dos níveis de evidência, especialmente no que se refere ao tempo ideal de tratamento. Assim sendo, ensaios clínicos prospectivos, com maiores números amostrais seriam de extrema relevância para avaliação do possível efeito benéfico da pentoxifilina e do α -tocoferol no tratamento da MRONJ.

REFERÊNCIAS

- Adachi, N., Ayukawa, Y., Yasunami, N., Furuhashi, A., Imai, M., Sanda, K., et al. (2020). Preventive effect of fluvastatin on the development of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Scientific reports*, 10, 1-8. [<https://doi.org/10.1038/s41598-020-61724-6>]
- Akçay, H., Kuru, K., Tatar, B., & Simsek, F. (2019). Vitamin E Promotes Bone Formation in a Distraction Osteogenesis Model. *Journal of Craniofacial Surgery*, 30, 2315-2318. [[10.1097/SCS.0000000000005685](https://doi.org/10.1097/SCS.0000000000005685)]
- AlDhalaan, N. A., BaQais, A., & Al-Omar, A. (2020). Medication-related Osteonecrosis of the Jaw: A Review. *Cureus*, 12, e6944. [[10.7759/cureus.6944](https://doi.org/10.7759/cureus.6944)]
- Bolette, A., Lecloux, G., Rompen, E., Albert, A., Kerckhofs, G., & Lambert, F. (2019). Influence of induced infection in medication-related osteonecrosis of the jaw development after tooth extraction: A study in rats. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 47, 349-356. [<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.08.011>]
- Brauner, E., Mezi, S., Ciolfi, A., Ciolfi, C., Pucci, R., Cassoni, A., et al. (2021). A New Medical Record Proposal to the Prognostic Risk Assessment for MRONJ in Oncologic Patients: "Sapienza Head and Neck Unit" Proposal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 1851. [<https://doi.org/10.3390/ijerph18041851>]
- Brierly, G. I., Ren, J., Baldwin, J., Saifzadeh, S., Theodoropoulos, C., Tsurkan, M. V., et al (2019). Investigation of sustained BMP delivery in the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) in a rat model. *Macromolecular Bioscience*, 19, 1900226. [<https://doi.org/10.1002/mabi.201900226>]

- Çakmak, G., Şahin, M. Ş., Özdemir, B. H., & Karadeniz, E. (2015). Effect of pentoxifylline on healing of segmental bone defects and angiogenesis. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Turcica*, 49, 676-682. [10.3944/AOTT.2015.15.0158]
- Cardoso, C. L., Curra, C., Curi, M. M., Matsumoto, M. A., Argentino, C. D., Franzolin, S. D. O. B., et al. (2019). Treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis using platelet-rich plasma: microtomographic, microscopic, and immunohistochemical analyses. *Brazilian oral research*, 33, e050. [https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2019.vol33.0050]
- Cavalcante, R. C., & Tomasetti, G. (2020). Pentoxifylline and tocopherol protocol to treat medication-related osteonecrosis of the jaw: A systematic literature review. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 48, 1080-1086. [https://doi.org/10.1016/j.jcms.2020.09.008]
- Córdova, L.A., Guilbaud, F., Amiaud, J., Battaglia, S., Charrier, C., Lezot, F., et al. (2016). Severe compromise of preosteoblasts in a surgical mouse model of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 44, 1387-1394. [https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.07.015]
- Delanian, S., Depondt, J., Lefaix, J. (2005). Major healing of refractory mandible osteoradionecrosis after treatment combining pentoxifylline and tocopherol: a phase II trial. *Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck*, 27, 114-123. [https://doi.org/10.1002/hed.20121]
- Devlin, H., Greenwall-Cohen, J., Benton, J., Goodwin, T. L., Littlewood, A., & Horner, K. (2018). Detecting the earliest radiological signs of bisphosphonate-related osteonecrosis. *British dental journal*, 224, 26-31. [https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.1001]
- Drudge-Coates, L., Van den Wyngaert, T., Schiødt, M., van Muilekom, H. A. M., Demonty, G., & Otto, S. (2020). Preventing, identifying, and managing medication-related osteonecrosis of the jaw: a practical guide for nurses and other allied healthcare professionals. *Supportive Care in Cancer*, 28, 4019–4029. [https://doi.org/10.1007/s00520-020-05440-x]
- Eguia, A., Bagan, L., & Cardona, F. (2020). Review and update on drugs related to the development of osteonecrosis of the jaw. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 25, e71. [10.4317/medoral.23191]
- Epstein, M. S., Wicknick, F. W., Epstein, J. B., Berenson, J. R., & Gorsky, M. (2010). Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series. *Oral Surgery, Oral medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 110, 593-596. [https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2010.05.067]
- Farahani, M. M. V., Farahani, R. M., Abdollahifar, M. A., Ghatresaman, M., Ghoreishi, S. K., Hajihossainlou, B., et al. (2019). Effects of pentoxifylline and alendronate on fracture healing in ovariectomy-induced osteoporosis in rats. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 10, 93-100. [10.30466/vrf.2018.82732.2089]

- Faul, F., Erdfelder, E., Land, A., Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39, 175–191. [<https://doi.org/10.3758/bf03193146>]
- Ferreira, V.C.S., Lopes, A.P., Alves, N.M., Sousa, F.R.N., Pereira, K.M.A., Gondim, D.V., et al. (2020). Bisphosphonate-related osteonecrosis induced change in alveolar bone architecture in rats with participation of Wnt signaling. *Clinical Oral Investigations*, 25, 673-682. [<https://doi.org/10.1007/s00784-020-03551-7>]
- Grisar, K., Schol, M., Schoenaers, J., Dormaar, T., Coropciuc, R., Vander Poorten, V., & Politis, C. (2016). Osteoradionecrosis and medication-related osteonecrosis of the jaw: similarities and differences. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 45, 1592-1599. [<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2016.06.016>]
- He, L., Sun, X., Liu, Z., Qiu, Y., & Niu, Y. (2020). Pathogenesis and multidisciplinary management of medication-related osteonecrosis of the jaw. *International Journal of Oral Science*, 12, 1-11. [<https://doi.org/10.1038/s41368-020-00093-2>]
- Heifetz-Li, J. J., Abdelsamie, S., Campbell, C. B., Roth, S., Fielding, A. F., & Mulligan, J. P. (2019). Systematic review of the use of pentoxifylline and tocopherol for the treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 128, 491-497. [<https://doi.org/10.1016/j.oooo.2019.08.004>]
- Howie, R. N., Borke, J. L., Kurago, Z., Daoudi, A., Cray, J., Zakhary, I. E., et al. (2015). A model for osteonecrosis of the jaw with zoledronate treatment following repeated major trauma. *PloS one*, 10, e0132520. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132520>]
- Imada, M., Yagyuu, T., Ueyama, Y., Maeda, M., Yamamoto, K., Kurokawa, S., et al. (2019). Prevention of tooth extraction-triggered bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws with basic fibroblast growth factor: An experimental study in rats. *PloS one*, 14, e0211928. [<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211928>]
- Jabbour, Z., El-Hakim, M., Henderson, J. E., & Rubens, F. (2014). Bisphosphonates inhibit bone remodeling in the jaw bones of rats and delay healing following tooth extractions. *Oral oncology*, 50, 485-490. [<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.02.013>]
- Khan, A. A., Morrison, A., Kendler, D. L., Rizzoli, R., Hanley, D. A., Felsenberg, D., et al. (2017). Case-based review of osteonecrosis of the jaw (ONJ) and application of the international recommendations for management from the international task force on ONJ. *Journal of clinical densitometry*, 20, 8-24. [<https://doi.org/10.1016/j.jocd.2016.09.005>]
- Kim, J.E., Yoo, S., & Choi, S.C. (2020). Several issues regarding the diagnostic imaging of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Imaging Science in Dentistry*, 50, 273-279. [<https://doi.org/10.5624/isd.2020.50.4.273>]
- Kün-Darbois, J. D., Libouban, H., Mabileau, G., Pascaretti-Grizon, F., & Chappard, D. (2018). Bone mineralization and vascularization in bisphosphonate-related

osteonecrosis of the jaw: an experimental study in the rat. *Clinical oral investigations*, 22, 2997-3006. [<https://doi.org/10.1007/s00784-018-2385-2>]

Li, J., & Wang, W. (2019). Positive effect of pentoxifylline on medication-related osteonecrosis of the jaw. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*, 121, 264-267. [<https://doi.org/10.1016/j.jormas.2019.12.003>]

Lodi, G., Sardella, A., Salis, A., Demarosi, F., Tarozzi, M., & Carrassi, A. (2010). Tooth extraction in patients taking intravenous bisphosphonates: a preventive protocol and case series. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 68, 107-110. [<https://doi.org/10.1016/j.joms.2009.07.068>]

Lu, S.Y., Ma, M.C., Wang, M.C., & Hsue, S.S. (2021). The status of jaw lesions and medication-related osteonecrosis of jaw in patients with multiple myeloma. *Journal of the Formosan Medical Association*. [<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.01.015>]

Magremanne, M., Reyhler, H. (2014). Pentoxifylline and Tocopherol in the Treatment of Yearly Zoledronic Acid–Related Osteonecrosis of the Jaw in a Corticosteroid-Induced Osteoporosis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 72, 334-337. [<https://doi.org/10.1016/j.joms.2013.06.188>]

Marx, R. E. (2003). Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *Journal of oral and Maxillofacial Surgery*, 61, 1115-1117. [[10.1016/s0278-2391\(03\)00720-1](https://doi.org/10.1016/s0278-2391(03)00720-1)]

Mecca, L.E.A. (2018). Avaliação do Ranelato de Estrôncio na indução ou proteção de osteonecrose. Estudo em ratas ovariectomizadas. Dissertação (Mestrado em Odontologia), Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 66f.

Nowicki, B., Nehrbass, D., Arens, D., Stadelmann, V. A., Zeiter, S., Otto, S., et al. (2019). Medication-related osteonecrosis of the jaw in a minipig model: parameters for developing a macroscopic, radiological, and microscopic grading scheme. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 47, 1162-1169. [<https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.03.002>]

Olutayo, J., Agbaje, J. O., Jacobs, R., Verhaeghe, V., Velde, F. V., & Vinckier, F. (2010). Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw bone: radiological pattern and the potential role of CBCT in early diagnosis. *Journal of oral & maxillofacial research*, 1, e3. [[10.5037/jomr.2010.1203](https://doi.org/10.5037/jomr.2010.1203)]

Owosho, A. A., Estilo, C. L., Huryn, J. M., & Yom, S. K. (2016). Pentoxifylline and tocopherol in the management of cancer patients with medication-related osteonecrosis of the jaw: an observational retrospective study of initial case series. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, 122, 455-459. [<https://doi.org/10.1016/j.oooo.2016.06.019>]

Pacheco, V. N., Langie, R., Etges, A., Ponzoni, D., & Puricelli, E. (2015). Nitrogen-containing bisphosphonate therapy: assessment of the alveolar bone structure in rats—a blind randomized controlled trial. *International Journal of Experimental Pathology*, 96, 255-260. [<https://doi.org/10.1111/iep.12133>]

- Pal, S., Porwal, K., Singh, H., Malik, M. Y., Rashid, M., Kulkarni, C., et al. (2019). Reversal of Osteopenia in Ovariectomized Rats by Pentoxifylline: Evidence of Osteogenic and Osteo-Angiogenic Roles of the Drug. *Calcified tissue international*, 105, 294-307. [<https://doi.org/10.1007/s00223-019-00567-4>]
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., et al. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 40, 1769-1777. [<https://doi.org/10.1177/0271678X20943823>]
- Pozzi, S., Vallet, S., Mukherjee, S., Cirstea, D., Vaghela, N., Santo, L., et al. (2009). High-dose zoledronic acid impacts bone remodeling with effects on osteoblastic lineage and bone mechanical properties. *Clinical Cancer Research*, 15, 5829-5839. [[10.1158/1078-0432.CCR-09-0426](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0426)]
- Rahim, I., Salt, S., & Heliotis, M. (2015). Successful long-term mandibular reconstruction and rehabilitation using non-vascularised autologous bone graft and recombinant human BMP-7 with subsequent endosseous implant in a patient with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 53, 870-874. [<https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2015.08.006>]
- Reagan-Shaw, S., Nihal, M., & Ahmad, N. (2008). Dose translation from animal to human studies revisited. *The FASEB journal*, 22, 659-661. [<https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSF>]
- Rodríguez-Sánchez, M. D. P., Statkiewicz, C., de Mello-Neto, J. M., Toro, L. F., Bassi, A. P. F., Garcia, V. G., et al. (2020). The Effectiveness of the Low-Level Laser, Antibiotic and Surgical Therapy in the Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: A Case Report. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 11, 98. [[10.15171/jlms.2020.16](https://doi.org/10.15171/jlms.2020.16)]
- Ruggiero, S. L., Dodson, T. B., Fantasia, J., Goodday, R., Aghaloo, T., Mehrotra, B., & O'Ryan, F. (2014). American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw—2014 update. *Journal of oral and maxillofacial surgery*, 72, 1938-1956. [<https://doi.org/10.1016/j.joms.2014.04.031>]
- Seo, M. H., Eo, M. Y., Myoung, H., Kim, S. M., & Lee, J. H. (2020). The effects of pentoxifylline and tocopherol in jaw osteomyelitis. *Journal of the Korean Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 46, 19-27. [[10.5125/jkaoms.2020.46.1.19](https://doi.org/10.5125/jkaoms.2020.46.1.19)]
- Sharma, D., Hamlet, S., Petcu, E., Ivanovski, S. (2013). Animal models for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—an appraisal. *Oral Diseases*, 19, 747–754. [[10.1111/odi.12067](https://doi.org/10.1111/odi.12067)]
- Shuid, A. N., Mehat, Z., Mohamed, N., Muhammad, N., & Soelaiman, I. N. (2010). Vitamin E exhibits bone anabolic actions in normal male rats. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 28, 149-156. [<https://doi.org/10.1007/s00774-009-0122-2>]
- Silva, P.G., Junior A. E. C. F., Teofilo C. R., Barbosa M. C., Júnior R. C. P. L., Sousa F. B., et al. (2015). Effect of different doses of zoledronic acid in establishing of

bisphosphonate-related osteonecrosis. *Archives of oral biology*, 60, 1237-1245. [https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.05.015]

Varoni, E. M., Lombardi, N., Villa, G., Pispero, A., Sardella, A., & Lodi, G. (2021). Conservative Management of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws (MRONJ): A Retrospective Cohort Study. *Antibiotics*, 10, 195. [https://doi.org/10.3390/antibiotics10020195]

Watanabe, T., Asai, K., Fukuhara, S., Uozumi, R., & Bessho, K. (2021). Effectiveness of surgery and hyperbaric oxygen for antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw: A subgroup analysis by disease stage. *Plos one*, 16, e0244859. [https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244859]

Windmeier, C., & Gressner, A. M. (1997). Pharmacological aspects of pentoxifylline with emphasis on its inhibitory actions on hepatic fibrogenesis. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29, 181-196. [https://doi.org/10.1016/S0306-3623(96)00314-X]

Wong, S. K., Mohamad, N. V., Ibrahim, N. I., Chin, K. Y., Shuid, A. N., & Ima-Nirwana, S. (2019). The molecular mechanism of vitamin E as a bone-protecting agent: a review on current evidence. *International journal of molecular sciences*, 20, 1453. [https://doi.org/10.3390/ijms20061453]

Wu, Z., Zheng, X., Meng, L., Fang, X., He, Y., Li, D., et al. (2018). α -Tocopherol, especially α -tocopherol phosphate, exerts antiapoptotic and angiogenic effects on rat bone marrow-derived endothelial progenitor cells under high-glucose and hypoxia conditions. *Journal of vascular surgery*, 67, 1263-1273. [https://doi.org/10.1016/j.jvs.2017.02.051]

Yalcin-Ulker, G. M., Cumbul, A., Duygu-Capar, G., Uslu, Ü., & Sencift, K. (2017). Preventive effect of phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline against medication-related osteonecrosis of the jaw: an animal study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 75, 2354-2368. [https://doi.org/10.1016/j.joms.2017.04.017]

Yoneda, T., Hagino, H., Sugimoto, T., Ohta, H., Takahashi, S., Soen, S., et al. (2017). Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw: Position Paper 2017 of the Japanese Allied Committee on Osteonecrosis of the Jaw. *Journal of bone and mineral metabolism*, 35, 6-19. [https://doi.org/10.1007/s00774-016-0810-7]

REFERÊNCIAS

- ALDHALAAN, N. A.; BAQAIS, A.; AL-OMAR, A. Medication-related Osteonecrosis of the Jaw: A Review. **Cureus**, v. 12, n. 2, p. e6944, 2020.
- BOLETTE, A. et al. Influence of induced infection in medication-related osteonecrosis of the jaw development after tooth extraction: A study in rats. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 47, n. 2, p. 349-356, 2019.
- BRIERLY, G. I. et al. Investigation of sustained BMP delivery in the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ) in a rat model. **Macromolecular bioscience**, v. 19, n. 11, p. 1900226, 2019.
- DELANIAN, S.; DEPONDT, J.; LEFAIX, J. L. Major healing of refractory mandible osteoradionecrosis after treatment combining pentoxifylline and tocopherol: a phase II trial. **Head & Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck**, v. 27, n. 2, p. 114-123, 2005.
- DRUDGE-COATES, L. et al. Preventing, identifying, and managing medication-related osteonecrosis of the jaw: a practical guide for nurses and other allied healthcare professionals. **Supportive Care in Cancer**, v. 28, n. 9, p. 4019-4029, 2020.
- EGUIA, A.; BAGAN, L.; CARDONA, F. Review and update on drugs related to the development of osteonecrosis of the jaw. **Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal**, v. 25, n. 1, p. e71, 2020.
- EPSTEIN, M. S. et al. Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series. **Oral Surgery, Oral medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 110, n. 5, p. 593-596, 2010.
- GRISAR, K. et al. Osteoradionecrosis and medication-related osteonecrosis of the jaw: similarities and differences. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 45, n. 12, p. 1592-1599, 2016.
- HEIFETZ-LI, J. J. et al. Systematic Review of the Use of Pentoxifylline and Tocopherol for the Treatment of Medication Osteonecrosis of the Jaw. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 128, n. 5, p. 491-497, 2019.
- KÜN-DARBOIS, J. D. et al. Bone mineralization and vascularization in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: an experimental study in the rat. **Clinical oral investigations**, v. 22, n. 9, p. 2997-3006, 2018.
- MARX, R. E. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 61, n. 9, p. 1115-7, 2003.
- OWOSHO, A. A. et al. Pentoxifylline and Tocopherol in the Management of Cancer Patients with Medication-related Osteonecrosis of the Jaw: an observational retrospective study of initial case series. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 122, n. 4, p. 455-459, 2016.

QI, W. X. et al. Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: a meta-analysis of seven randomized controlled trials. **International journal of clinical oncology**, v. 19, n. 2, p. 403-410, 2013.

RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, M. D. P. et al. The Effectiveness of the Low-Level Laser, Antibiotic and Surgical Therapy in the Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: A Case Report. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 98, 2020.

RUGGIERO, S. L. et al. American Association of oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. **Journal of Oral And Maxillofacial Surgery**, v. 72, n. 10, p. 1938-1956, 2014.

SIVOLELLA, S. et al. Denosumab and anti-angiogenetic drug-related osteonecrosis of the jaw: an uncommon but potentially severe disease. **Anticancer research**, v. 33, n. 5, p. 1793-1797, 2013.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO NA CEUA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4740 - Bairro Uirapuru - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <http://uepg.br>

CARTA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo/Processo CEUA - 0045162

Processo UEPG - 19800020430-0

Título - Efeito da administração de pentaxifilina e a-tocopherol na prevenção da osteonecrose de mandíbula induzida por bifosfonato.

Interessado - Prof. Gibson César Nobre Frasco

e-mail: gfrasco1@gmail.com

Data de Entrada - 25/07/2019

Resultado: Aprovado

Considerações

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa acima especificado estão de acordo com a Diretiva Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecidas pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Desse forma, fica autorizada a utilização de 34 ratos Wistar (filhos svevíctos) machos de 120 dias com peso entre 200 e 300g para a execução desse projeto.

Ponta Grossa, 08 de agosto de 2019

Prof.ª Dra. Luciana de Silva Leal Karolewski
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA-UEPG



Documento assinado eletronicamente por Luciana de Silva Leal Karolewski, Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais PROPESP, em 08/08/2019, às 22:54, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <http://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador 0045162 e o código CRC 0040F157.

19.00000118-0

00110204