

Fotobiomodulação Para Prevenção e Tratamento de Osteonecrose Induzida por Bisfosfonato: Estudo Piloto em Modelo Animal

Photobiomodulation for the Prevention and Treatment of Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis: Pilot Study in Animal Model

Thamisa Martins Secchi¹, Thaysa Luany Pacheco Oliveira², Talissa Iurko Martins Pereira³, Patrícia Fernandes de Araújo⁴, Juliana Tomaz Sganzerla⁵.

¹ Cirurgiã-Dentista. Residente da Saúde da Família e Comunidade. UnirG. Bolsista de Iniciação Científica -PIBIC/UnirG

E-mail: mthamisa46@gmail.com

ORCID: 0009-0008-2782-2166

² Cirurgiã-Dentista. Residente da Saúde da Família e Comunidade. UnirG. Voluntária de Iniciação Científica -PIVIC/UnirG. ORCID: 0009-0002-9103-4136

³ Cirurgiã-Dentista. UnirG. ORCID: 0009-0004-9601-5131

⁴ Cirurgiã-Dentista. Voluntária de Iniciação Científica -PIVIC/UnirG. ORCID: 0009-0005-0272-3696

⁵ Cirurgiã-Dentista. Mestre em Estomatologia. Docente do Curso de Odontologia da Universidade de Gurupi - UnirG. ORCID: 0000-0002-3023-0611

RESUMO

A osteonecrose ou necrose ósseas, possuem inúmeros fatores locais e sistêmicos que causam a diminuição do fluxo sanguíneo para os tecidos locais. Os fármacos bisfosfonatos são uma classe medicamentosa muito utilizada em pacientes em tratamento de câncer e osteoporose, sendo um dos efeitos adversos a ocorrência de necrose óssea principalmente em mandíbula, após procedimentos cirúrgicos odontológicos ou até mesmo de forma espontânea. Encontram-se várias tentativas de tratamento para necrose óssea, mas nenhum totalmente resolutivo e nem mesmo protocolos definidos. A fotobiomodulação é uma opção de tratamento de baixo custo e que tem como ação estimular a formação tecidual e aumentar a circulação sanguínea no local. O protocolo de pesquisa é a partir de um estudo piloto, a fim de prevenir ou diminuir a ocorrência de osteonecrose em mandíbulas de ratos submetidos a terapia com bisfosfonato, após a realização de exodontia. O estudo piloto a fim de se estabelecer o protocolo de realização dos experimentos. A necessidade de desenvolver esse estudo se deu por conta das limitações de equipamentos, instalações e instrumentais disponíveis no laboratório. O estudo piloto foi executado em três ratos da linhagem Wistar, todos os procedimentos aconteceram no biotério da UnirG.

Palavras-chave: Osteonecrose, Fotobiomodulação, Laser, Bisfosfonato, Modelo animal, estudo piloto.

ABSTRACT

Osteonecrosis, or bone necrosis, has numerous local and systemic factors that cause decreased blood flow to local tissues. Bisphosphonate drugs are a drug class widely used in patients undergoing cancer and osteoporosis treatment, and one of the adverse effects is the occurrence of bone necrosis, especially in the mandible, after dental surgical procedures or even spontaneously. There are several treatment attempts for bone necrosis, but none are completely resolute and not even defined protocols. Photobiomodulation is a low-cost treatment option whose action is to stimulate tissue formation and increase blood circulation at the site. The research protocol is based on a pilot study in order to prevent or decrease the occurrence of osteonecrosis in the mandibles of rats undergoing bisphosphonate therapy after extraction. The pilot study in order to establish the protocol for carrying out the experiments. The need to develop this study was due to the limitations of equipment, facilities and instruments available in the laboratory. The pilot study was carried out in three Wistar rats, all procedures took place in the UnirG vivarium.

Keywords: Osteonecrosis, Photobiomodulation, Laser, Bisphosphonate, Animal model, pilot study

1. INTRODUÇÃO

A osteonecrose ou necrose óssea é a interrupção da vascularização óssea, no qual as estruturas não recebem o suprimento sanguíneo adequado. As principais etiologias relacionadas às necroses ósseas são a radioterapia na região de cabeça e pescoço, além do uso de medicamentos, como os bifosfonatos (BORJAILLE, et al, 2006). É o resultado de inúmeras causas envolvendo fatores locais, sistêmicos que ocasiona a interrupção do fluxo sanguíneo para os tecidos moles e ósseos (VESCOVI *et al.*, 2010). Na literatura os procedimentos de extrações dentoalveolar, medicações, paciente com diabetes, tabagismo, má higiene bucal, drogas quimioterápicas e medicamentos da classe dos bisfosfonato, foram diversas vezes citados como grandes causas da interrupção sanguínea (RUGGIERO *et al.*, 2009).

Atualmente, a osteonecrose está estabelecida como osso visível ou uma região que apresenta uma fístula intraoral ou extraoral na região bucal que dura mais de 8 semanas (POLI *et al.*, 2019). Os relatos de casos de necrose em mandíbula são de pacientes com infecção microbiana envolvendo tecido ósseo, causado por problemas de origem dentária associados a ausência de saúde gengival e/ou periodontal, trauma cirúrgico, exodontias e em pacientes imunocomprometidos (VESCOVI, *et al*, 2010).

Embora seja amplamente pesquisada, ainda não há uma definição clara. No momento atual considera-se sua etiopatogenia às infecções, trauma local, efeito antigênico, toxicidade da mucosa oral e procedimentos cirúrgicos. (CURRA *et al.*, 2016).

Quando causada pela radioterapia, a necrose óssea é denominada osteorradionecrose (ORN), enquanto a causada por medicações é conhecida atualmente como osteonecrose dos maxilares relacionada a medicamentos (MRONJ). Os principais medicamentos envolvidos na MRONJ são antirreabsortivos ou antiangiogênicos (BORJAILLE, et al, 2006).

Os medicamentos antirreabsortivos ou antiangiogênicos possuem um efeito que modifica a remodelação óssea, causando um desequilíbrio na atividade osteoblástica, a qual possui função de estimular a proliferação óssea e também afeta a atividade osteoclástica, que desempenha o papel de reabsorção óssea. Quando ocorre um desequilíbrio entre essas duas funções, as consequências clínicas são necrose óssea, dor,

disgeusia, podendo evoluir para fístula oroantral, odor fétido, trismo ou fístula extraoral (BORJAILLE, et al, 2006).

Dentre as medicações antirreabsortivas e com relevância na odontologia, estão os bifosfonatos, uma classe farmacológica utilizada no controle de metástases ósseas, no qual ocorre um crescimento descontrolado das células, como câncer de mama, próstata, mieloma múltiplo e, também utilizados no tratamento osteoporose (WUTZL *et al*, 2006; ZANATA *et al*, 2013). Os bifosfonatos são classificados em gerações, no qual as vias administrativas são orais, endovenosos, sendo os mais comuns o Pamidronato (Aredia®), Ácido Zoledrônico (Zometa®) (ZANATA *et al*, 2013). Enquanto a administração via oral é mais utilizada nos tratamentos de osteoporoses, a administração endovenosa é mais recomendada para pacientes oncológicos, sendo essa a maior via de risco para desenvolvimento das osteonecroses. (MD *et al*, 2006).

Além disso, possuem uma propriedade angiogênica que causa a queda do oxigênio dos tecidos moles e ósseos, possibilitando a entrada de microbiorganismos, o que facilita o aparecimento de infecções oportunistas causadas por bactérias anaeróbicas presente na cavidade bucal e também no biofilme dentário (ZANATA *et al*, 2013). Além disso, possuem efeitos antirreabsortivos, causando danos às atividades ósseas. (RUGGIERO *et al*, 2009).

Existem várias formas de tratamento para osteonecrose, mas nenhum protocolo foi definido na forma de padronizar as orientações das escolhas. O tratamento é dividido em cirúrgico e não cirúrgico, depende do estágio clínico da doença. As terapias disponíveis são antibioterapia via oral, irrigação da lesão com solução antimicrobiana, retirada cirúrgica para realizar o desbridamento de tecido necrosado, sequestrectomia, ressecções ósseas, laserterapia (ZANATA, et al, 2013; MINAMISAKO, et al, 2016).

Dentre as terapias disponíveis, a fotobiomodulação, também denominada como laserterapia de baixa potência, detêm propriedades analgésicas e anti-inflamatórias estimuladas pela energia fotônica que penetra no tecido ósseo, principalmente a partir do comprimento de onda infravermelho (LINS, et al, 2010). As células expostas fotobiomodulação podem ter suas reações oxidação-redução reduzidas, alterando o seu pH e induzindo a estimulação celular (CONVISSAR, et al, 2011).

O laser tem ação de estimular a proliferação das atividades dos macrófagos e a quimiotática dos leucócitos nos tecidos, após a sua aplicação na lesão. Com isso, facilita a limpeza da lesão e ajuda no ciclo da proliferação consequente. Além disso, outra grande ação do fotobiomodulação é a estimulação dos tecidos endoteliais, no qual origina vários

vasos sanguíneos que tem um papel importante na reparação alveolar, promovendo a formação e adesão do coágulo (LINS, et al, 2010).

O laser tem como função modular o metabolismo dos osteoblastos, estimulando o crescimento da sua proliferação e diferenciação. Além disso, possui ação analgésica e anti-inflamatória, estimula a formação óssea, ajuda na cicatrização dos tecidos e proliferação dos fibroblastos (SÁNCHEZ *et al.*, 2020). O laser possui várias propriedades dependendo da frequência que for utilizado, sendo uma dessas a bioestimulação, que estimula a produção de colágeno e consequente estímulo à osteogênese (MINAMISAKO *et al.*, 2016).

A literatura recomenda a utilização do laser após o procedimento da extração dentária e depois da realização da sutura, dessa forma ocorrerá uma melhor cicatrização do tecido e do alvéolo, no qual o crescimento proliferativo das células estará aumentado, devido a grande quantidade de sangue presente no local. Recomenda-se também, para um melhor pós-operatório, utilizar o laser de 2 a 3 vezes na semana por duas semanas. (CONVISSAR *et al.*, 2011).

A osteonecrose é uma complicação bucal, muito relatada na literatura, no qual possuem vários fatores desencadeantes como a exodontia em pacientes com fatores de riscos presentes. Os tratamentos disponíveis atualmente na literatura não apresentam um protocolo padronizado e demonstram divergências em relação à sua efetividade. A fotobiomodulação é uma escolha de tratamento de baixo custo, que atua reduzindo a inflamação dos tecidos, promove melhora na cicatrização e aumenta a circulação sanguínea no tecido. Quando utilizada com um fotossensibilizador, a fotobiomodulação reduz a contaminação microbiana, podendo reduzir os riscos de desenvolvimento de necroses ósseas. Para sua ação, o fotossensibilizador necessita associar-se ao oxigênio, estando esse diminuído nos tecidos com tendência a necrose, nossa hipótese é que incorporando o peróxido de hidrogênio à técnica poderemos ter um aumento da sua eficácia e redução do risco de necrose.

Ferreira e colaboradores (2020) realizaram um estudo em ratos da raça *Wistar*, para investigar a osteonecrose associado à terapia com ácido zoledrônico, no qual foram separados em 4 grupos de 12 animais. Nessa pesquisa eles utilizaram somente ratos machos por causa da variação hormonal dos animais que poderia interferir no reparo ósseo. Os pesquisadores aplicaram a medicação em dois grupos e realizaram a exodontia no grupo experimental. Os resultados demonstraram que os animais que receberam a medicação e foram submetidos a extração dentária desenvolveram necrose óssea em mandíbula.

Curra e colaboradores (2016) produziram uma pesquisa em modelo animal para analisar osteonecrose da mandíbula relacionada à medicação (MRONJ), foram utilizados 45 roedores dividido em dois grupos, sendo o primeiro tratado com administração intravenosa de ácido zoledrônico seguida da extração dentária. Já os alocados no segundo grupo não receberam nenhum tipo de medicação antes da extração. O resultado da pesquisa mostrou que nos animais submetidos ao ácido zoledrônico houve uma ocorrência de 40% de necrose óssea em mandíbula.

Karapinar e colaboradores (2021) utilizaram 24 ratos machos da espécie *Sprague-Dawley* para avaliar a osteonecrose da mandíbula relacionada aos bisfosfonatos. Os animais foram divididos em 3 grupos de 8 animais cada. A aplicação do ácido zoledrônico foi realizada no primeiro e no segundo grupo, sendo este submetido também a terapia fotodinâmica após as extrações dentárias. Os resultados da pesquisa mostram que a terapia fotodinâmica foi uma ótima opção de tratamento para a prevenção e tratamento de MRONJ.

Os ratos são os animais mais utilizados nas pesquisas, principalmente em extrações dentárias, no qual os dentes escolhidos são os molares (CURRA *et al*, 2016). As vantagens na escolha desse modelo animal, são aplicação de dosagem menores que um ser humano precisa, escolha da raça do animal, sexo e tempo de pesquisa (CURRA, *et al*, 2016; FERREIRA, *et al*, 2020).

Com isso, o objetivo desse estudo piloto foi criar um protocolo de pesquisa a partir de um estudo piloto, a fim de prevenir ou diminuir a ocorrência de osteonecrose em mandíbulas de ratos submetidos a terapia com bifosfonato, após a realização de exodontia.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Delineamento do estudo

Estudo piloto para desenvolvimento do protocolo experimental em modelo animal, sob paradigma quantitativo e qualitativo.

Considerações éticas

O projeto foi submetido e aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Gurupi junto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UNIRG) sob parecer do Protocolo nº: 003/2021. Os critérios empregados para manipulação dos animais

seguiram os preceitos e recomendações do Manual de Utilização de Animais em Experimentação da CEUA - UNIRG, da Resolução nº 1000, de 11 de maio de 2012 do CFMV e da Resolução Normativa nº 13, de 20 de setembro de 2013 do CONCEA e da Lei Arouca.

Amostragem

Para o estudo piloto, foram utilizados 3 animais, a fim de se estabelecer o protocolo de realização dos experimentos. A necessidade de desenvolver esse estudo se deu por conta das limitações de equipamentos, instalações e instrumentais disponíveis no laboratório.

Seleção dos Animais

Os animais utilizados para esse estudo piloto foram provenientes de descarte de outra pesquisa realizada no laboratório de experimentação animal da UnirG. Devido à necessidade de eutanásia após a realização dos procedimentos, optou-se por utilizar os mesmos animais para descrição e adaptação do protocolo a ser seguido. Os animais estavam identificados com números nas caudas em grupos de três, conforme orientações do Biotério - UnirG, dispostas em estante ventilada com temperatura controlada (220 °C) e ciclo claro-escuro de 12h. A maravalha era trocada três vezes/semana, e ração (Nuvilab®) e água filtrada foram disponibilizadas *ad libitum*.

Procedimentos

Os animais foram acomodados individualmente em contêntores para ratos confeccionados em acrílico com frente e traseira removíveis e sistema de travamento através de manípulos e presença de furos para entrada e saída de ar (imagem 1). Após estarem acondicionados, os animais foram sedados com o fármaco inalatório Isoflurano, utilizando-se chumaço de algodão embebido do anestésico e posicionado na abertura frontal do contêntor (imagem 2).



Imagem 1. Contensor para ratos de 0-350 gramas.



Imagem 2. Inalação de Isoflurano com utilização de chumaço de algodão.

Já sedados, os animais foram posicionados em suporte adaptado e confeccionado com cano de PVC revestido com material de Etil, Vinil e Acetato (EVA) e utilizou-se esparadrapo impermeável para estabilização da cabeça e manutenção da cavidade bucal dos animais para execução da exodontia (imagem 3).



Imagem 3. Animais posicionados e estabilizados para realização da exodontia

Após realizada a antissepsia da cavidade bucal com Clorexidina 2%, foi realizada a sindesmotomia, luxação e extração do primeiro molar inferior esquerdo com instrumental cirúrgico adaptado (imagem 4 e 5). Imediatamente após a exodontia foi realizado o protocolo de fotobiomodulação.



Imagem 4. Procedimento de exodontia.



Imagem 5. Instrumentais utilizados para exodontia

O protocolo de fotobiomodulação foi realizado utilizando o fotossensibilizador azul de metileno (100 µg/mL). Foi aplicado 0,5mL sobre o local da exodontia, mantido por 60 segundos e removido o excesso com soro fisiológico 0,9%. Posteriormente, a ponteira do laser foi posicionada sobre o local da extração, paralelo ao longo eixo da cavidade do dente e em contato com a área.

Para irradiação, utilizou-se o equipamento laser InGaAlP (Índio-Gálio-Alumínio) de baixa intensidade (660nm ± 10 nm; Thera Lase®, DMC Equipamentos Ltda®, SP, Brasil) com tamanho de ponto de 0,0283cm², obedecendo aos parâmetros de irradiação: potência de 35 mW; modo de operação contínua; ponto de energia de 2,1 J / ponto, por 60 segundos; energia de densidade de 74,2 J / cm²; intensidade de potência de 1,23 W / cm².¹⁰ Previamente à aplicação do fotossensibilizador, foi aplicado 0,5mL de peróxido de hidrogênio 3% e mantidos por 30 segundos.

Após a exodontia, os ratos foram eutanasiados conforme as diretrizes na prática de eutanásia do CONCEA. Para isso, os animais foram perfundidos transcardialmente com Cetamina (300 mg / kg, Francotar®, Virbac, SP, Brasil).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo piloto foi executado em três ratos da linhagem Wistar, os procedimentos aconteceram no biotério da Unirg. O teste iniciou-se com a retirada do animal da sua gaiola, e após colocado em um contensor para rato para ser sedado. Inicialmente, nosso projeto previa a anestesia através do fármaco Cetamina (Francotar®, Virbac, SP, Brasil), com uma dose de 800 mg/kg, no entanto pela maior facilidade de manuseio dos animais com o uso de anestésico inalatório e por conta da quantidade de vezes que serão necessárias para execução total do experimento (na metodologia descrita no projeto de pesquisa e exemplificada na figura 1 será necessário anestésiar os animais em cada administração do Zometa, no momento da exodontia e nas posteriores aplicações de fotobiomodulação), optou-se pela utilização de um anestésico inalatório, o Isoflurano.

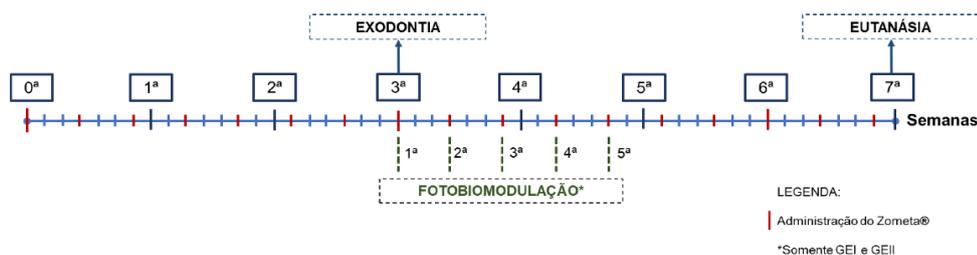


Figura 1. Metodologia do projeto de pesquisa.

O anestésico isoflurano é o mais utilizado em animais de pequeno porte, pois demonstra uma rápida recuperação do animal, possuem maior facilidade de indução, não sensibiliza o miocárdio é uma escolha segura em animais saudáveis (ARAÚJO *et al.*, 2011). SAMPIO e seus colaboradores (2019) utilizaram em sua pesquisa em modelo animal com ratos, no qual investigaram sobre efeitos de um enxerto biofuncional e da terapia laser de baixa intensidade em defeitos ósseos induzidos em tibias de ratos. Neste estudo diversos tipos de anestésicos foram utilizados nos animais, um deles foi o anestésico inalatório isoflurano e a justificativa foi pela sua facilidade de uso.

Outra modificação que foi necessária em relação ao planejamento inicial foi o suporte de contenção. O contensor foi confeccionado com cano de policloreto de polivinila (PVC) para esgoto 50mm, revestido com acetato de vinila (EVA) (imagem 6). Inicialmente, pensou-se em fazer a estabilização da cabeça e manutenção da cavidade bucal dos animais aberta através de tiras de elásticos (imagem 7). No entanto, no momento da execução do projeto

piloto observou-se que as tiras de elásticos não eram suficientes para tal apreensão, além de dificultar a abertura da cavidade bucal em ângulo satisfatório para realização da exodontia. Assim, optou-se pela remoção das tiras de elástico e utilização de esparadrapo impermeável (imagem 8).



Imagem 6. Confecção do contensor com PVC e EVA.

De acordo com a experiência adquirida durante a execução do estudo piloto, é possível verificar a importância dessa fase do projeto nas pesquisas envolvendo modelo animal. O estudo piloto permite o primeiro contato do animal com a metodologia previamente planejada, a forma de realizar o manejo, possibilitando as modificações necessárias e adequações metodológicas, consequentemente gerando maior confiabilidade nos resultados da pesquisa e reduzindo o desconforto nos animais, conforme preconizado pela legislação do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).



Imagem 7. Planejamento inicial do contensor com tiras de elásticos.



Imagem 8. Contensor após adaptações.

De acordo com a literatura científica, recomenda-se um ensaio experimental ou estudo piloto, após a aprovação da comissão de ética no uso de animais (CEUA), pois o estudo piloto ajudará o pesquisador e sua equipe a ajustar os procedimentos, testar os medicamentos, dosagem que será utilizado na pesquisa, criando assim um protocolo que será seguido na execução total do experimento (SCHNAIDER, et al., 2003).

Além disso, a pesquisa em animal precisa ser planejada para ter o máximo de resultados de maneira a usar o mínimo de animais, evitando assim, sofrimento e mortes desnecessárias, conforme preconizado pelos princípios de Russell-Burch (1959) de “redução, substituição e refinamento” no uso de animais, conhecido como Princípio dos 3R’s. Mesmo que datada do final da década de 50, os princípios de William Russell e Rex Burch ainda se mantêm ativos nos meios científicos e acadêmicos. Deve sempre haver reflexão para tentar reduzir o número de animais por procedimento experimental, sem afetar os resultados, substituir o uso de animais sempre que possível e aprimorar métodos já descritos para minimizar o desconforto animal são imperativos (Astrogildo e Tréz, 2018).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resultado final revelou a necessidade de um aprimoramento metodológico da pesquisa, no que se refere a medicação anestésica e contenção do animal para execução dos procedimentos propostos. Com isso, o estudo piloto nos permitiu testar os instrumentos, antever resultados, avaliar a viabilidade e utilidade dos equipamentos, instrumentais e medicamentos em cada fase de execução, revisando e aprimorando os pontos necessários.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Sofia Alexandra Cabral. " Anestesia em Roedores". 2011. **Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar ICBAS**.

ASTROGILDO E TRÉZ, Thales de. Considerações sobre o conceito dos 3Rs e o potencial conflito com novas compreensões do animal experimental. **Revista Brasileira de Zootecias**, 19(2): 97-113, 2018.

BORJAILLE, Brunela P. et al. Osteonecrose e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, p. 36-44, 2006.

CONVISSAR, Robert a. Conviassar.et al. Princípios e práticas do laser na odontologia. **Elsevier Editora Ltda, 2011**.

CURRA, Cláudia et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw. Introduction of a new modified experimental model. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 31, p. 308-313, 2016.

DEL PILAR RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ M, Statkiewicz C, de Mello-Neto JM, et al. A Eficácia do Laser de Baixa Intensidade, Antibiótico e Terapia Cirúrgica no Tratamento da Osteonecrose dos Maxilares Relacionada à Medicação: Relato de Caso. **J Lasers Med Sci** . 2020;11(1):98-103.

FERREIRA, Gustavo Zanna et al. Delayed alveolar bone repair and osteonecrosis associated with Zoledronic Acid therapy in rats: macroscopic, microscopic and molecular analysis. **Journal of Applied Oral Science**, v. 28, 2020.

KARAPINAR, Gökyay et al. The use of photodynamic therapy on medication-related osteonecrosis of the jaws: Animal study. **Balkan Journal of Dental Medicine**, v. 25, n. 1, p. 20-28, 2021.

LINS, Ruthinéia Diógenes Alves Uchôa et al. Efeitos bioestimulantes do laser de baixa potência no processo de reparo. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 6, p. 849-855, 2010.

MINAMISAKO, Mariana Comparotto et al. Medication-related osteonecrosis of jaws: a low-level laser therapy and antimicrobial photodynamic therapy case approach. **Case reports in dentistry**, v. 2016, 2016.

Poli, P. P., Souza, F. Á., Ferrario, S., & Maiorana, C. Adjunctive application of antimicrobial photodynamic therapy in the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw following dentoalveolar surgery: **A case series. Photodiagnosis and photodynamic therapy**, 27, 117–123, 2019.

RIBEIRO, Guilherme H. et al. Osteonecrose da mandíbula: revisão e atualização em etiologia e tratamento. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 84, p. 102-108, 2018.

RUGGIERO, Salvatore L. et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-2009

update. **Australian endodontic journal: the journal of the Australian Society of Endontology Inc**, v. 35, n. 3, p. 119-130, 2009.

SAMPAIO, Alexandre Botelho. Efeitos de um enxerto biofuncional e da terapia laser de baixa intensidade em defeitos ósseos induzidos em tíbias de ratos. 2019.

SCHNAIDER, Taylor Brandão; SOUZA, Cláudio de. Aspectos éticos da experimentação animal. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, p. 278-285, 2003.

VESCOVI, Paolo et al. Surgical approach with Er: YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). **Lasers in medical science**, v. 25, n. 1, p. 101-113, 2010.

WUTZL, Arno et al. Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonate treatment in cancer patients. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 118, n. 15, p. 473-478, 2006.

ZANATA, Angélica et al. Osteonecrose mandibular associada ao uso de bisfosfonato de sódio em paciente com mieloma múltiplo. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial**, v. 55, n. 2, p. 115-120, 2014