



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**PEDRO HENRIQUE CHAVES ISAIAS**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO USO CRÔNICO DO ALENDRONATO DE  
SÓDIO E DO ÁCIDO ZOLEDRÔNICO EM SÍTIOS PÓS-EXODONTIA NA  
MANDÍBULA DE RATOS**

**FORTALEZA**

**2020**

PEDRO HENRIQUE CHAVES ISAIAS

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO USO CRÔNICO DO ALENDRONATO DE SÓDIO E  
DO ÁCIDO ZOLEDRÔNICO EM SÍTIOS PÓS-EXODONTIA NA MANDÍBULA DE  
RATOS

Dissertação de mestrado submetida à  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação  
em Odontologia, da Universidade Federal do  
Ceará, como parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em Odontologia. Área de  
Concentração: Clínica Odontológica; Área  
temática: Estomatopatologia.

Orientador: Prof. Dr. Mário Rogério Lima  
Mota.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- C439a Chaves Isaias, Pedro Henrique.  
Avaliação comparativa do uso crônico do alendronato de sódio e do ácido zoledrônico em sítios pós-exodontia na mandíbula de ratos / Pedro Henrique Chaves Isaias. – 2020.  
67 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2020.  
Orientação: Prof. Dr. Mário Rogério Lima Mota.
1. Osteonecrose da arcada dentária associada aos bisfosfonatos. 2. Alendronato. 3. Ácido zoledrônico. 4. Bisfosfonatos. 5. Imuno-histoquímica. I. Título.

CDD 617.6

---

**PEDRO HENRIQUE CHAVES ISAIAS**

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DO USO CRÔNICO DO ALENDRONATO DE  
SÓDIO E DO ÁCIDO ZOLEDRÔNICO EM SÍTIOS PÓS-EXODONTIA NA  
MANDÍBULA DE RATOS**

Dissertação de mestrado submetida à  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação  
em Odontologia, da Universidade Federal do  
Ceará, como parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre em Odontologia. Área de  
Concentração: Clínica Odontológica; Área  
temática: Estomatopatologia.

Aprovada em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Mário Rogério Lima Mota (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia – PPGO/UFC

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Clarissa Pessoa Fernandes Forte  
Centro Universitário Christus – Unichristus

A Deus.

Aos meus pais, Aurilene e Francisco das  
Chagas e ao meu irmão, Jander.

Ao meu avô materno, Marinho (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

A **Deus** e **Francisco de Assis**, por sempre me abençoarem e proporcionarem-me oportunidades de grandes experiências ao meu crescimento.

A minha mãe, **Aurilene Chaves**, meu pai, **Francisco das Chagas Isaias**, meu irmão, **Jander Chaves**, e demais parentes que sempre me apoiaram e encorajaram aos meus objetivos desde a graduação, mantendo-se ao meu lado durante toda a trajetória do mestrado.

Ao meu orientador **Prof. Mário Mota**, o qual tenho grande admiração pela pessoa inteligente, humana e acessível que é. Sou imensamente grato a todos os ensinamentos transmitidos, que vão além do científico, pela grande ajuda durante o mestrado e pela excelente orientação neste trabalho. Agradeço muito por tudo o que me foi proporcionado.

A minha admirável **Prof.<sup>a</sup> Karuza Alves**, pessoa indispensável desde minha formação na graduação, até hoje. Sou infinitamente grato por toda confiança a mim depositada, pelo carinho, atenção e por ter me apresentado ao mundo da Estomatopatologia.

A **Prof.<sup>a</sup> Ana Paula Negreiros**, pessoa a qual tenho grande admiração por sua qualidade humana e profissional. Sou grato por toda carinho e receptividade a mim dado ao grupo do Laboratório de Patologia Bucal e por todos os ensinamentos passados.

Ao **Prof. Paulo Goberlânio** (Paulim), um ser humano de extrema bondade e inteligência, o qual devo muita gratidão por sua atenção e contribuição dada na elaboração, execução e análise desta pesquisa. Seu apoio foi excepcional!

Ao colega e técnico em anatomia patológica, **Alceu Machado**, por sua atenção e excelência nos cortes histológicos. Seu trabalho foi fundamental.

A todos meus amigos pós-graduandos do Laboratório de Patologia Bucal, em especial a **Dayrine de Paula**, **Elisa Lima Verde**, **Isabelly Vidal** e **Camila Carvalho**, que tive o prazer de fazer dentro do grupo e que de alguma forma estiveram me ajudando na execução desta pesquisa, além daqueles que estiveram presentes em outros momentos, **Sthefane Feitosa**, **Thâmara Bezerra**, **João Eudes** e **Thinali Dantas**. Agradeço também aos vários alunos de iniciação científica, os quais sem seu trabalho e esforço, esta pesquisa teria sido bem mais difícil.

Ao meu grande amigo, **Raul Alves**, o qual esteve comigo dividindo momentos importantes desde a graduação, inclusive participando na execução desta pesquisa. Seu companheirismo foi essencial e tornou esta trajetória menos árdua.

Ao **Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM-UFC)**, ao biotério do **Departamento de Fisiologia e Farmacologia (DFP-UFC)**, ao curso de Odontologia do **Centro Universitário Christus (Unichristus)**, ao Laboratório Morfofuncional do curso de Medicina da **Universidade de Fortaleza (Unifor)**, pelo apoio físico-estrutural para o desenvolvimento desse estudo.

Ao **Programa de Pós-graduação em Odontologia (PPGO-UFC)**, **Clínica de Estomatologia (UFC)** e **Laboratório de Patologia Bucal (UFC)**, pela vivência e ensinamentos inestimáveis adquiridos durante o mestrado.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e a **Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP)**, pela concessão da bolsa de estudos.

Também agradeço a existência dos seres que foram essenciais no alcance científico desta pesquisa, **ratos Wistar**.

Muito obrigado!

“Não é na ciência que está a felicidade, mas na aquisição da ciência”. (Edgar Allan Poe)



## RESUMO

O alendronato de sódio (ALN) e o ácido zoledrônico (AZ) são bisfosfonatos (BF) com ampla utilização clínica, todavia estão associados à osteonecrose dos maxilares induzida por bisfosfonatos (OMB). Para se evitar a OMB, a suspensão dos BF prévia à exodontias ainda é um método incerto, controverso e sem protocolos clínicos bem definidos. Modelos em animais de tratamento crônico com BF envolvendo ALN e associados à exodontia não são padronizados, não utilizam doses compatíveis à humana e, muitas vezes, nem a mesma via de administração, como já vem sendo realizado em alguns modelos animais com administração de AZ. Dessa forma, um estudo comparativo com modelos utilizando os dois BF é importante para se analisar semelhanças e diferenças frente a situações de cicatrização alveolar pós-exodontia. O objetivo deste estudo constitui em comparar aspectos clínicos, radiográficos, histopatológicos e imunoistoquímicos de modelos experimentais com tratamento crônico por BF, em ratos, utilizando ALN e AZ. Para isso, 48 ratos Wistar machos (180–200 g) foram divididos em diferentes grupos experimentais (n=6). Todos os animais administrados com AZ foram submetidos ao mesmo protocolo experimental com três infusões intravenosas semanais de 0,2 mg/kg, seguido de exodontia e uma infusão adicional pós exodontia. Os animais tratados com ALN receberam diferentes doses orais semanais do fármaco (2,5 mg/kg, 5,0 mg/kg ou 7,5 mg/kg) e foram subdivididos em grupos com administração contínua e descontínua, antes do procedimento cirúrgico de exodontia. O grupo controle negativo foi composto por animais tratados com solução salina (0,1 ml/kg), semanalmente, por gavagem. Após os 70 dias de protocolo, os animais foram eutanasiados, sendo realizada análise leucocitária, exames radiográficos, histopatológicos, histomorfométricos e imunoistoquímicos (TNF- $\alpha$  e TRAP) nos sítios de exodontia. Como resultados, evidenciamos que a aparência radiolúcida dos alvéolos nos grupos ALN contínuos estavam mais evidentes que no grupo salina, contudo, maior área radiolúcida significativa no sítio da exodontia foi observada apenas no grupo AZ em relação a todos os outros grupos (p=0,007). Menor área de tecido ósseo preenchendo a cavidade do alvéolo pós exodontia foi observada no grupo ALN contínuo (7,5 mg/kg) e AZ em comparação aos outros grupos (p<0,001). Número de lacunas de osteócitos vazios foi mais significativo no grupo AZ em relação a todos os outros grupos, entretanto, os grupos ALN contínuos evidenciaram maior número de lacunas de osteócitos vazios em relação ao controle salina (p<0,001). Osteoclastos vacuolizados foram visualizados em maior quantidade nos grupos

ALN contínuos (5,0 mg/kg e 7,5 mg/kg) em comparação aos outros tratados com ALN e grupo salina, contudo, o grupo AZ apresentou maior número de osteoclastos vacuolizados entre todos os outros grupos ( $p=0,004$ ). Todos os grupos ALN exibiram maior presença de células inflamatórias mononucleares que o grupo salina, todavia, o grupo AZ apresentou números ainda maiores e diferentes estatisticamente que todos os outros grupos ( $p=0,018$ ), principalmente em relação às células inflamatórias polimorfonucleares ( $p<0,001$ ). A análise de células imunomarcadas para TNF- $\alpha$  foi significativa nos grupos tratados com ALN 7,5 mg/kg descontínuo, ALN contínuo nas concentrações de 2,5 mg/kg, 5,0 mg/kg, 7,5 mg/kg e no grupo AZ em relação ao salina ( $p<0,001$ ). Os osteoclastos TRAP positivos foram significativamente maiores nos grupos ALN contínuo 5,0 mg/kg, 7,5 mg/kg e AZ, em relação ao salina ( $p<0,001$ ). Em suma, o ALN administrado continuamente diminui a cicatrização óssea alveolar pós exodontia em ratos, principalmente em doses elevadas. Tais efeitos também incidiram ao se usar o AZ, entretanto em maior grau e com presença de necrose associada. A descontinuação do ALN não provocou mudanças expressivas da cicatrização alveolar.

Palavras-chaves: Osteonecrose da arcada dentária associada aos bisfosfonatos, alendronato, ácido zoledrônico, inflamação, bisfosfonatos, cicatrização, imuno-histoquímica, TNF-Alfa, fosfatase ácida resistente a tartarato.

## ABSTRACT

Alendronate sodium (ALN) and zoledronic acid (ZA) are bisphosphonates (BP) with wide clinical use, but are associated with bisphosphonate-induced jaw osteonecrosis (BRONJ). To avoid BRONJ, the suspension of BP prior to extraction is still an uncertain method, controversial and without well-defined clinical protocols. Animal models of chronic BP treatment involving ALN and associated with extraction are not standardized, do not use human-compatible doses and often do not use the same route of administration, as has been done in some animal models administered with ZA. Thus, a comparative study with models using both BP is important to analyze similarities and differences in post-extraction alveolar healing situations. The aim of this study is to compare clinical, radiographic, histopathological and immunohistochemical aspects of experimental models with chronic BP treatment in rats using ALN and ZA. For this, 48 male Wistar rats (180–200 g) were divided into different experimental groups (n=6). All animals administered ZA were submitted to the same experimental protocol with three weekly intravenous infusions of 0.2 mg/kg, followed by extraction and one additional post-extraction infusion. The animals treated with ALN received different weekly oral doses of the drug (2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg or 7.5 mg/kg) and were subdivided into groups with continuous and discontinuous administration before the surgical procedure of dental extraction. The negative control group consisted of animals treated with saline (0.1 m /kg) weekly by gavage. After 70 days of protocol, the animals were euthanized, being performed leukocyte analysis, radiographic, histopathological, histomorphometric and immunohistochemical exams (TNF- $\alpha$  and TRAP) of the extraction sites. As a result, we found that the radiolucent appearance of the alveoli in the continuous ALN groups was more evident than in the saline group; however, a larger significant radiolucent area at the extraction site was observed only in the ZA group compared to all other groups (p=0.007). Smaller area of bone tissue filling the socket cavity after extraction was observed in the continuous ALN (7.5 mg/kg) and ZA groups compared to the other groups (p<0.001). Number of empty osteocyte lacunae was more significant in ZA group compared to all other groups, however, continuous ALN groups showed higher number of empty osteocyte lacunae in relation to saline control (p<0.001). Vacuolated osteoclasts were seen in greater numbers in continuous ALN groups (5.0 mg/kg and 7.5 mg/kg) compared to other ALN-treated and saline groups, however, the ZA group had a higher number of vacuolated osteoclasts among all other groups (p=0.004). All

ALN groups exhibited a higher presence of mononuclear inflammatory cells than the saline group, however, the ZA group showed even larger and statistically different numbers than all other groups ( $p=0.018$ ), especially in relation to polymorphonuclear inflammatory cells ( $p<0.001$ ). Immunohistochemical analysis for TNF- $\alpha$  was significant in the groups treated with discontinuous ALN 7.5 mg/kg, continuous ALN at 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, 7.5 mg/kg and in ZA than the control group. TRAP positive osteoclasts were significantly higher in the continuous ALN 5.0 mg/kg, 7.5 mg/kg and ZA groups ( $p<0.001$ ) than the control group. In short, continuously administered ALN decreases post-extraction alveolar bone healing in rats, especially at high doses. Such effects also occurred when ZA was used, however to a greater degree and with associated necrosis. Discontinuation of ALN does not imply significant changes in alveolar healing.

Keywords: Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw, alendronate sodium, zoledronic acid, inflammation, bisphosphonates, wound healing, immunohistochemistry, TNF-alpha, tartrate resistant acid phosphatase.