

João Manuel Gião Carvalho

“Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos  
Bisfosfonatos”

Faculdade de Medicina dentária da universidade do Porto

Porto

2012



João Manuel Gião Carvalho

“Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos  
Bisfosfonatos”

Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

Porto

2012



João Manuel Gião Carvalho

“Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos  
Bisfosfonatos”

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Medicina Dentária  
do Porto, como parte dos  
requisitos para a obtenção do  
grau de Mestre em Cirurgia Oral.



"Julgue seu sucesso pelas coisas que você teve que renunciar para conseguir."

"Dalai Lama"



## AGRADECIMENTOS

A concretização de um trabalho desta índole resulta sempre do esforço e do trabalho de um grupo de pessoas que direta ou indiretamente contribuem para a sua efetivação. Mesmo correndo o risco de não citar todos aqueles que o mereciam, constituiria uma injustiça não reconhecer a colaboração, apoio e o estímulo de um conjunto de pessoas que tornou possível a realização deste trabalho.

Agradeço ao Prof. Doutor Davide Carvalho pela orientação desta tese, que com a sua forma de ser e de estar, inconformada e perseverante me incutiu uma forma diferente de ver a investigação científica ao realizar este trabalho, também agradeço todo o seu esforço incansável a sua preciosa ajuda tanto na pesquisa bibliográfica como na revisão de toda a tese.

Agradeço ao Prof. Doutor Daniel Marinho pelo companheirismo, pela disponibilidade sem restrições e pela forma incansável com que sempre me recebeu para o tratamento estatístico dos dados.

Agradeço ao Prof. Doutor Rui Amaral Mendes pelo incentivo, pela generosidade com que me facultou diversa informação bem como pelo interesse que sempre manifestou na execução deste tema.

Ao colega e amigo, Dr. Tiago Silva, por toda a alegria e entreajuda que partilhamos durante este “longo” Mestrado.

Aos colegas e amigos, Dra. Sara Durão e Eduardo Santiago, pela partilha e ótima convivência durante este Mestrado

À Nossa D. Manuela que foi sempre grande ajuda e impulsionadora nesta epopeia que foi este mestrado, sem o seu apoio não o tinha conseguido.

À menina Alexandra, por todo o apoio neste mestrado, tudo se tornava mais simples quando estava presente.

Ao Sr. Vítor e Sr. Paulo, pela simpatia e vontade demonstrada na ajuda em qualquer situação.

À Enfermeira Elisabete pela disponibilidade sempre demonstrada.

Agradeço à minha Namorada, melhor amiga e esposa Dra. Marisa Meneses por todo o apoio, ajuda incansável, em todos os momentos de desespero e que me ajudou sempre a ultrapassar todas as adversidades e várias pelas horas dedicadas à revisão desta, sem ti ... não era possível.

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

Aos meus pais e a minha irmã pelo incentivo, motivação, esforço, carinho e dedicação, que colocam sempre, em tudo que faço! Obrigado e desculpem ..não tenho como vos agradecer, são demais.

A todos o meu Muito Obrigado!

**Membros do Conselho Científico da Faculdade de Medicina Dentária da  
Universidade do Porto**

**PRESIDENTE**

**Prof. Doutor Afonso Pinhão Ferreira**

**VICE-PRESIDENTE**

Prof. Doutor António Cabral Campos Felino

Prof. Doutor Américo dos Santos Afonso

Prof. Doutor César Fernando Coelho Leal da Silva

Prof. Doutor Germano Neves Pinto Rocha

Prof. Doutor Inês Alexandra Costa Morais Caldas

Prof. Doutora Irene Graça Azevedo Pina Vaz

Prof. Doutor João Carlos Antunes Sampaio Fernandes

Prof. Doutor João Carlos Gonçalves Ferreira de Pinho

Prof. Doutor João Fernando Costa Carvalho

Prof. Doutor Jorge Manuel Carvalho Dias Lopes

Prof. Doutor José Albertino Cruz Lordelo

Prof. Doutor José António Macedo Carvalho Capelas

Prof. Doutor José Carlos Reis Campos

Prof. Doutor Manuel José Fontes de Carvalho

Prof. Doutora Maria Cristina P. C. M. F. Pollmann

Prof. Doutora Maria de Lurdes Ferreira Lobo Pereira

Prof. Doutora Maria Helena Guimarães Figueiral da Silva

Prof. Doutora Maria Helena Raposo Fernandes

**Personalidade Convidada** - Prof. Doutor Mário Augusto Pires Vaz

Prof. Doutor Mário Jorge Rebolho da Silva

Prof. Doutor Mário Ramalho Vasconcelos

Prof. Doutor Miguel Fernando Silva Gonçalves Pinto

Prof. Doutor Paulo Rui Galvão Ribeiro Melo

Prof. Doutor Ricardo Manuel C. L. Faria de Almeida



## Índice

CAPÍTULO I.....	II
1. INTRODUÇÃO .....	3
1.1 <i>Estrutura química e ação farmacológica dos bifosfonatos</i> .....	4
2. MECANISMO MOLECULAR .....	5
2.1. <i>Indicações dos bifosfonatos</i> .....	6
2.2. <i>Osteonecrose e bifosfonatos</i> .....	7
2.3. <i>Como identificar uma OMIB</i> .....	8
2.4. <i>Fases de OMIB</i> .....	9
CAPÍTULO II.....	11
2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE DOENTES PORTUGUESES COM OSTEONECROSE DA MANDÍBULA ASSOCIADA AOS BISFOSFONATOS.....	13
2.1. <i>Resumo</i> .....	13
2.2. <i>Abstract</i> .....	14
2.3. <i>Introdução</i> .....	15
2.4. <i>Objetivos</i> .....	17
2.5. <i>Doentes e Métodos</i> .....	17
2.6. <i>Resultados</i> .....	18
2.7. <i>Discussão</i> .....	20
2.8. <i>Conclusão</i> .....	22
2.9. <i>Bibliografia</i> .....	23
CAPÍTULO III.....	27
3. ALTERAÇÕES DO METABOLISMO FOSFOCALCICO E MARCADORES DE REMODELAÇÃO ÓSSEA EM DOENTES COM OSTEONECROSE DOS MAXILARES INDUZIDA POR BISFOSFONATOS .....	29
3.1. <i>Resumo</i> .....	29
3.2. <i>Abstract</i> .....	31
3.3. <i>Introdução</i> .....	33
3.4. <i>Objetivos</i> .....	35
3.5. <i>Doentes e Métodos</i> .....	35
3.6. <i>Resultados</i> .....	37
3.7. <i>Discussão</i> .....	40
3.8. <i>Conclusão</i> .....	42
CAPÍTULO IV .....	47
4. OSTEONECROSE INDUZIDA POR BISFOSFONATOS: PERSPETIVAS FUTURAS NO ESTUDO DA OMIB .....	49
4.1. <i>Introdução</i> .....	49
4.2. <i>Angiogénese</i> .....	50
4.3. <i>Conclusão</i> .....	56
CAPÍTULO V .....	57
5. CONCLUSÃO .....	59
5.1. <i>Tratamento de OMIB que opções tomar</i> .....	60
5.2. <i>Novas opções</i> .....	61
CAPÍTULO VI .....	65
<i>Bibliografia</i> .....	65
6. BIBLIOGRAFIA .....	67
BIBLIOGRAFIA .....	ERRO! MARCADOR NÃO DEFINIDO.
CAPÍTULO VII .....	73
7. ANEXOS .....	75



**Índice de Figuras:**

**Figura 1:** Comparação da estrutura do Pirofosfato (Hidrolisável) e Bisfosfonato (Não-Hidrolisável)

**Figura 2:** Lesão de OMIB, visão clínica e radiográfica



## **Índice de tabelas**

**Tabela 1:** Bisfosfonatos, grupo R2, administração e potência relativa

**Tabela 2:** Bisfosfonatos, patologia alvo, dose de administração

**Tabela 3:** Dados clínicos do grupo de doentes Portugueses

**Tabela 4:** Comparação das características clínicas entre os casos Portugueses e a Revisão de Filleul.

**Tabela 5:** Características clínicas de acordo com a presença ou ausência de osteonecrose

**Tabela 6:** As relações obtidas entre doentes com osteonecrose e sem osteonecrose

**Tabela 7:** Correlação de diferentes marcadores em doentes com OMIB

**Tabela 8:** Estádios e estratégias de tratamento



**Índice de abreviaturas:**

BFs - Bisfosfonatos

OMIB – Osteonecrose dos maxilares induzida por bisfosfonatos

AAOMS – Associação Americana de cirurgiões orais e maxilo faciais.

PTH – Hormona paratiróide

25 OH D – Vitamina D

IGF -1 - Fator do Crescimento do Tipo Insulina

HSJ – Hospital de S. João

BRONJ - Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw

BPs – Bisphosphonate

FPP - Farnesyl diphosphate

IV – Intravenoso

TGF-beta – Factor de crescimento tumoral-beta

BMP - Proteína Morfogénica óssea

RANK -Receptor ativador do fator nuclear kapa B

RANKL - Ligante do receptor ativador do fator nuclear kapa B

OPG – Osteoprotegerina

NTX – N-Telo peptide X

DPD - Desoxipiridinolina

VEGF – Factor de crescimento endotelial vascular

MMP – Metaloproteinases

mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro

BFGF – Fator de crescimento fibroblasto basico

HIF 1 – Fator induzido pela hipoxia

GDFS – Fatores de crescimento e diferenciação

FGF – fator de crescimento de fibroblatos

TGF-β - Fator de transformação do crescimento beta

PDGF – Fator de crescimento derivado das plaquetas

OHB – Oxigénio hiperbárico

BMP-2 – Proteína morfogénica de osso tipo 2

PRFC – Plasma rico em fatores de crescimento

EGF – Fatores de crescimento epidérmico



## RESUMO

**Introdução:** Os bisfosfonatos representam um papel predominante no tratamento da osteoporose e das alterações do metabolismo ósseo associadas a neoplasias. Contudo, recentemente foram descritas complicações orais como consequência desta terapêutica. Em 2003, são descritos os primeiros casos de osteonecrose maxilar em doentes submetidos a bisfosfonatos.

O mecanismo fisiopatológico parece estar associado à interferência no mecanismo de regulação do ciclo de reabsorção/formação ósseo fisiológico. Os factores desencadeantes mais comuns da osteonecrose são a exodontia e o trauma iatrogénico, embora exista uma percentagem que ocorre espontaneamente.

**Objetivos:** Analisar as características clínicas de doentes portugueses com OMIB e compará-las com a população mundial e analisar as diferenças nos níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo fosfocálcico e de remodelação óssea em doentes medicados com bisfosfonatos de acordo com a presença ou ausência de OMIB. Propor novos estudos a realizar.

**Materiais e métodos:** Efetuámos uma pesquisa bibliográfica de doentes portugueses com OMIB à qual juntámos a nossa série de 8 casos. Comparámos estes 57 casos com a série de 2408 de Filleul. Avaliámos um conjunto de características clínicas e classificamo-las de acordo com a classificação da Associação Americana de Cirurgiões Oral-Maxilo-Faciais (AAOMS).

Uma amostra constituída por 13 indivíduos com diagnóstico de múltiplas patologias a quem foram administrados BFs, foi dividida em dois grupos, tendo em conta idade, género e patologia inicial; ambos os grupos faziam terapêutica com BF's diferenciando-se pela presença ou não de OMIB. Todos os indivíduos foram avaliados, seguindo os parâmetros relativos à evolução da patologia oncológica e o aparecimento ou não de OMIB, e realizaram análises sanguíneas de vários parâmetros do metabolismo fosfocálcico e de remodelação óssea tais como: cálcio, fósforo, magnésio, PTH, 25 OH D, osteocalcina, fosfatase alcalina, IGF 1.

Os níveis séricos normais foram definidos de acordo com os valores de referência do laboratório de análises do Hospital de S. João. O projeto seguiu as normativas legais expressas na Declaração de Helsínquia. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de S. João. A análise estatística foi elaborada com recurso ao aplicativo SPSS® (versão 18).

**Resultados:** A patologia oncológica de base variou entre carcinoma da próstata com 29,8%, da mama com 24,6% e mieloma múltiplo com 22,8%. Os bisfosfonatos orais foram usados em 19,3% dos doentes portugueses. O zoledronato intravenoso foi o mais utilizado 80,7%. A realização de um ato cirúrgico foi o fator desencadeador em 81,1% dos casos. Estas lesões são mais frequentes na mandíbula com 70,6%. Apenas classificamos 15 doentes pela AAOMS, tendo 73,3% lesão no estágio 2; 26,7% no estágio 1. Todos os doentes apresentavam valores muito baixos de vitamina D (C/osteonecrose 17,8+9,0 versus S/osteonecrose 12,3+2,71ng/ml,  $p<0,36$ ). Os doentes com osteonecrose apresentaram níveis significativamente inferiores de osteocalcina (c/osteonecrose:13,78+ 12,16ng/ml vs s/osteonecrose: 36,7+25,8ng/ml,  $p<0,05$ ). Observamos correlação significativa entre vitamina D/osteocalcina e osteocalcina/fosfatase alcalina ( $p<0,05$ ).

**Conclusão:** A OMIB em Portugal tem características clínicas similares às descritas em outros estudos, atingindo em 2/3 a mandíbula, na maioria casos em doentes neoplásicos, representando a osteoporose 10%, tanto em Portugal como no estrangeiro. A maior frequência de OMIB associada a procedimentos cirúrgicos que sugere a necessidade de informação/formação de oncologistas e médicos dentistas para a necessidade de um diagnóstico e prevenção destas lesões. A osteonecrose é rara mas clinicamente significativa, tendo a maioria dos doentes carência ou uma deficiência relativa de vitamina D. Os valores de fosfatase alcalina e de osteocalcina estão diminuídos nos doentes com OMIB.

Os efeitos antiangiogénicos dos BFs necessitam ser melhor clarificados através de outros estudos.

As Normas da AAOMS são apresentadas bem como novas perspectivas terapêuticas.

**Palavras-chave:** osteonecrose, mandíbula, bisfosfonatos, Portugal, português, maxilar, osteocalcina, fosfatase alcalina, vitamina D, angiogénese.

## SUMMARY

**Introduction:** Bisphosphonates represent a predominant role in the treatment of osteoporosis and bone metabolism changes associated with cancer. However, oral complications have been reported recently as a consequence of therapy. In 2003, we describe the first cases of osteonecrosis of the jaw in patients receiving bisphosphonates.

The pathophysiologic mechanism appears to be associated with interference in the mechanism of regulation of physiological bone turnover. The most common triggering factors of osteonecrosis are the extraction and iatrogenic trauma, although there is a percentage that occurs spontaneously.

**Purpose:** To analyze the clinical characteristics of Portuguese patients with BRONJ and compare them with the world population and to analyze the differences in the levels of biochemical markers of metabolism phosphocalcic and bone remodeling in patients taking bisphosphonates according to the presence or absence of BRONJ. Propose to conduct new studies.

**Materials and methods:** We performed a literature search of Portuguese patients with OMIB to which we added our series of 8 cases. We compared these 57 cases with the 2408 series of Filleul. We evaluated a set of clinical characteristics and we classify them according to the classification of the American Association of Oral and Maxillo-Facial Surgeons (AAOMS).

A sample of 13 individuals diagnosed with multiple disorders who were administered BPs, was divided into two groups, taking into regard age, gender and initial pathology: both groups were treatment with BPs differing by the presence or absence of BRONJ. All subjects were evaluated, following the parameters for the development of oncologic pathology and the appearance or not of BRONJ, and conducted blood tests on various parameters phosphocalcic metabolism and bone remodeling such as calcium, phosphorus, magnesium, PTH, 25 OH D, osteocalcin, alkaline phosphatase, IGF 1.

The serum levels were defined according to the reference values of the laboratory analyzes of the HSJ. The project followed the legal norms expressed in the Declaration of Helsinki. The project was approved by the Ethics Committee of the Hospital de S. João. The statistical analysis was made using the SPSS ® software (version 18).

**Results:** The basic oncologic pathology ranged from prostate carcinoma with 29.8%, breast 24.6% and 22.8% with multiple myeloma. The oral bisphosphonates were used in

19.3% of patients Portuguese. Zoledronate IV was the most used 80.7%. The performance of a surgical procedure was the triggering factor in 81.1% of cases. These lesions are more common in the mandible with 70.6%. Only 15 patients classified by AAOMS, with 73.3% lesion in stage 2, 26.7% in stage 1. All patients had very low levels of vitamin D (W/ osteonecrosis 17.8 +9.0 versus Wo/ osteonecrosis 12.3 +2.71 ng / ml,  $p < 0.36$ ). Patients with osteonecrosis had significantly lower levels of osteocalcin (W / osteonecrosis: 13.78 + 12.16 ng / ml vs Wo / osteonecrosis: 36.7 +25.8 ng / ml,  $p < 0.05$ ). We observed a significant correlation between Vitamin D / osteocalcin and osteocalcin / alkaline phosphatase ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** The BRONJ in Portugal has clinical features similar to those described in other studies, reaching over 2/3 the jaw, in most cases in patients with cancer, osteoporosis accounting for 10%, both in Portugal and abroad. The higher frequency of OMIB associated with surgical procedures which suggest the need for information / training of oncologists and dentists to the need for diagnosis and prevention of these injuries. Osteonecrosis is rare but clinically significant, since most patients lack or a relative deficiency of vitamin D. The values of alkaline phosphatase and osteocalcin levels are decreased in patients with BRONJ.

The antiangiogenic effects of BPs need to be better clarified by further studies. The Standards of AAOMS are presented as well as new therapeutic perspectives.

**Keywords:** osteonecrosis, jaw, bisphosphonates, Portugal, Portuguese, jaw, osteocalcin, alkaline phosphatase, vitamin D, angiogenesis.

# **Capítulo I**

## ***Introdução***



## 1. INTRODUÇÃO

O aumento da esperança de vida da população e a diminuição da taxa de natalidade, traduz-se no envelhecimento da população. Assim, a Medicina tem sido obrigada a responder a algumas exigências, facto que tornou a Medicina geriátrica na realidade que é hoje.

A incidência da patologia oncológica aumenta com a idade e é uma causa importante de morbilidade e mortalidade. Segundo o Instituto Nacional de Estatística, o cancro é a principal causa de morte, seguido da patologia cardiovascular<sup>1</sup>. Esta incidência é semelhante à observada nos restantes países da União Europeia e tem vindo a aumentar moderadamente nas últimas décadas, em consequência do progressivo aumento da esperança média de vida, não sendo no entanto, patologia exclusiva da terceira idade<sup>1,2</sup>.

A presença de metástases ósseas é comum em estádios avançados de cancro e está particularmente associada a alguns tipos, nomeadamente da mama, da próstata, mieloma múltiplo, e ainda alguns tipos de cancro da tiróide, pulmão, rins e certos tipos de linfomas<sup>3,4</sup>.

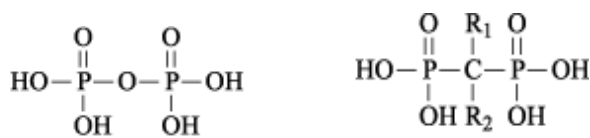
Actualmente, é frequente a utilização de bisfosfonatos (BFs) no tratamento de várias doenças ósseas, destacando-se a doença de Paget, a hipercalcemia maligna, a osteoporose e a doença metastática osteolítica<sup>5</sup>. Os BFs são utilizados no tratamento e prevenção da metastização óssea devido à sua acção na inibição da reabsorção osteoclástica e inibição da angiogénese.

Os BFs são potentes inibidores da reabsorção óssea mediada por células osteoclásticas<sup>6</sup>, sendo na actualidade os fármacos de primeira escolha no tratamento das hipercalcemias graves. Vários estudos revelaram a sua eficácia na diminuição de complicações ósseas de etiologia maligna<sup>7,8</sup>.

## 1.1 Estrutura química e ação farmacológica dos bifosfonatos

### 1.1.1. Estrutura química

Os BFs formam uma classe de substâncias químicas caracterizada por uma ligação P-C-P, duas cadeias laterais ligadas à cadeia central C: a R<sup>1</sup> fornece a afinidade dos BFs pelos cristais ósseos e a R<sup>2</sup> é responsável pela potência e actividade farmacológicas<sup>9</sup> (Figura 1). São análogos químicos da substância endógena denominada ácido pirofosfórico<sup>10</sup>, que no organismo se encontra como pirofosfato e é um inibidor natural da reabsorção óssea. Devido a sua rápida hidrólise enzimática este não pode ser utilizado como agente terapêutico no tratamento de doenças ósseas. Os BFs são análogos sintéticos, onde o átomo central de oxigénio é substituído por um de carbono, ou seja, são mais resistentes à degradação enzimática, tendo assim uma vida biológica maior, suficiente para influenciar o metabolismo ósseo<sup>11</sup>.



**Figura 1:** Comparação da estrutura do Pirofosfato (Hidrolisavel) e Bisfosfonato (Não-Hidrolisavel)<sup>7</sup>.

(Adap.: Jasmin C. Textbook of bone metastases. Chichester ; Hoboken, NJ: J. Wiley & Sons 2005)

### 1.1.2. Accção Farmacológica

Os BFs são utilizados no tratamento da osteoporose porque inibem a reabsorção óssea, interrompendo o ciclo reabsorção/formação, da qual resulta um aumento da massa óssea, mas também um osso parcialmente inerte. Para além disso têm também funções antiangiogénicas, razão pela qual são utilizados na prevenção da metastização óssea durante o tratamento do cancro<sup>12</sup>.

## 2. Mecanismo molecular

O mecanismo molecular pelo qual os bisfosfonatos (BFs) inibem a reabsorção óssea ainda não é muito claro. A dificuldade em isolar um número significativo de células osteoclásticas puras para estudos bioquímicos e moleculares, é responsável pelo conhecimento insuficiente dos processos envolvidos. A descoberta dos BFs nitrogenados (pamidronato, alendronato, residronato, ibandronato e ácido zoledrónico), potentes inibidores da sintase do farnesil difosfato (FPP), permitiu maiores conhecimentos sobre a acção destes compostos. O mecanismo de acção dos BFs não-nitrogenados (etodronato e clodronato) é ainda menos conhecido.

**Tabela 1:** 4 Bisfosfonatos, grupo R2, administração e potência relativa

<b>Bisfosfonato</b>	<b>Grupo Nitrogenado</b>	<b>Via de Administração</b>	<b>Potência relativa</b>
<b>Etidronato (Didronel®)</b>	Não	Oral	1
<b>Tiludronato (Skelid®)</b>	Não	Oral	50
<b>Alendronato (Fosamax®, Fosavance®)</b>	Sim	Oral	1000
<b>Residronato (Actonel®)</b>	Sim	Oral	1000
<b>Ibandronato (Boniva®)</b>	Sim	Oral	1000
<b>Pamidronato (Aredia®)</b>	Sim	Intravenosa	1000 – 5000
<b>Ácido Zoledrónico (Zometa®)</b>	Sim	Intravenosa	10000 +

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

Os BF's nitrogenados, mais potentes, inibem a via do mevalonato. Bloqueando a enzima FPP, em que é gerada uma carência intracelular, entre outros, de geranylgeranyl difosfato e de farnesil difosfato, ambos necessários para a modificação lipídica de pequenas proteínas sinalizadoras com actividade de GTPase. Como resultado desta disfunção, há alteração da superfície externa do osteoclasto, levando a um mau funcionamento celular e apoptose<sup>12</sup>.

A acção biológica fundamental de todos os BFs é inibir a reabsorção óssea, diminuindo o ciclo de reabsorção/formação ósseo, que por sua vez também reduz os níveis de cálcio (Ca<sup>2+</sup>). A razão para este efeito anti-osteoclástico ou anti-reabsortivo é a inibição celular ou apoptose osteoclástica como referido acima<sup>13</sup>. Isto, associado à inibição da proliferação de células endoteliais<sup>14</sup>, leva à diminuição da taxa de remodelação e reabsorção óssea, criando uma situação de hipoxia, hipocelularidade e hipovascularização do tecido ósseo<sup>13</sup>. Os BFs, independentemente da sua forma de administração, por via endovenosa (pamidronato ou zoledronato) ou por via oral (mesmo os de baixa toxicidade - alendronato), ligam-se aos cristais minerais da superfície óssea<sup>10</sup>.

Para além do seu efeito antireabsortivo, os BFs exibem actividades anti-tumorais, *in vitro* e *in vivo*, através de vários mecanismos, incluindo a antiangiogénese.

### 2.1. Indicações dos bisfosfonatos

Os BFs endovenosos como o pamidronato (Aredia®) e o ácido zoledrónico ou zoledronato (Zometa®), são usados para o tratamento de lesões osteolíticas de metástases ósseas de alguns tipos de cancro e para reduzir a hipercalcemia de algumas doenças malignas<sup>15,16</sup>. Dos BFs orais, o etidronato (Didronel®) e o tiludronato (Skelid®), ambos não nitrogenados, são as drogas de 1ª escolha no tratamento da Doença de Paget. O residronato (Actonel®), o ibandronato (Boniva®) e o alendronato (Fosamax®, Fosavance®), são os mais usados no tratamento da Osteoporose e Osteopenia<sup>17,18</sup>.

**Tabela 2:**

<b>Bifosfonato</b>	<b>Grupo nitrogenado</b>	<b>Indicação</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Dose</b>	<b>Potencia relativa</b>
<b>Etidronato (Didronel®)</b>	Não	Doença de Paget	Oral	300-750mg/dia	1
<b>Tiludronato (Skelid®)</b>	Não	Doença de Paget	Oral	400-mg/dia	50
<b>Alendronato (Fosamax®, Fosavance®)</b>	Sim	Osteoporose	Oral	10 mg/dia ou 70mg/semana	1000
<b>Residronato (Actonel®)</b>	Sim	Osteoporose	Oral		1000
<b>Ibandronato (Boniva®)</b>	Sim	osteoporose	Oral	2,5mg/dia ou 150 mg/mês	1000
<b>Pamidronato (Aredia®)</b>	Sim	Metastases ósseas	Intravenosa	90mg/ 3 a 4semanas	1000 – 5000
<b>Ácido Zoledrónico (Zometa®)</b>	Sim	Metastases ósseas	Intravenosa	4mg / 3 a 4 semanas	10000+

## 2.2. Osteonecrose e bifosfonatos

A osteonecrose da mandíbula é uma complicação rara, de alguns doentes a receber radiação, quimioterapia ou outros tipos de tratamento anti-cancerígeno de tumores da mandíbula, e mais recentemente relacionada com os BFs.

Para o estabelecimento do diagnóstico de osteonecrose associado ao uso de BFs é importante que seja afastada na história médica a possibilidade de osteorradionecrose (necrose associada à radioterapia na região da cabeça e pescoço).

Histologicamente, o osso necrótico normalmente está associado a contaminação com *actinomyces*, não mostrando sinais de malignidade<sup>19</sup>.

A osteonecrose da mandíbula induzida por bisfosfonatos (OMIB), foi descrita pela 1ª vez em doentes medicados com BFs em 2003<sup>18</sup>, embora esta doença já seja conhecida há mais de cem anos. Mineiros de algumas minas de fosfato dos Estados Unidos da América e Reino Unido, desenvolviam exposições ósseas que não cicatrizavam na cavidade oral<sup>20</sup>. Desde da sua 1ª descrição, seguiram-se várias publicações: Ruggiero com 63 casos<sup>21</sup>, Bagan 10 casos<sup>22</sup>, Marx 119 casos<sup>23</sup>. Muitos outros autores têm reportado casos isolados ou pequenas séries de casos, dando informação adicional, tentando caracterizar a osteonecrose induzida por bisfosfonatos, nomeadamente no nosso País por Carvalho et al<sup>24</sup>.

A osteonecrose da mandíbula (OMIB) afecta cerca de duas vezes mais a mandíbula que a maxila e emergiu como uma complicação de tratamento com bisfosfonatos, devido ao facto de os ossos maxilares possuírem um maior suprimento sanguíneo e um ciclo reabsorção/formação ósseo mais acelerado, ambos relacionados com a sua actividade diária e à presença de dentes, que exige uma remodelação óssea diária à volta do ligamento periodontal.

A incidência estimada de OMIB entre os doentes que receberam ácido zoledrónico é de 10% e o tempo médio para o início de osteonecrose é de 18 meses. O risco de OMIB pode aumentar para doentes que tomem corticosteróides<sup>5</sup>.

### 2.3. Como identificar uma OMIB

A osteonecrose induzida pelos bisfosfonatos foi descrita pela primeira vez em 2003<sup>10</sup> e o grupo de trabalho da Sociedade Americana para a Investigação do Osso e Minerais definiu que para a confirmação do diagnóstico de osteonecrose da mandíbula ONM é necessário uma área de osso exposto da região maxilofacial que não cure no espaço de 8 semanas após a identificação por um prestador de cuidados de saúde num doente que recebeu ou foi exposto a bisfosfonatos e não recebeu radiação na região craniofacial<sup>25</sup>.

Em geral apresenta-se como osso exposto na maxila e/ou mandíbula, osso necrótico e não vital, rodeado por mucosa inflamada e normalmente com infeção secundária. Outro achado frequente é um odor necrótico, principalmente em doentes com grandes áreas de

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

exposição óssea, o que pode até dificultar a vida destes doentes em sociedade<sup>26</sup>. Os sintomas podem variar entre dor aguda, dificuldade em engolir e parestesia, em casos de maior destruição óssea. A maior parte dos casos relatados apresenta história de tratamento dentário invasivo, extração dentária, osteotomias, cirurgia para colocação de implantes, entre outros<sup>27,28</sup>. Como já dissemos para o estabelecimento do diagnóstico de osteonecrose associado ao uso de BFs é indispensável afastar na história médica a possibilidade de osteorradionecrose (necrose associada à radioterapia na região da cabeça e pescoço). Histologicamente, o osso necrótico normalmente está associado a contaminação com *actinomyces*, não mostrando sinais de malignidade<sup>29</sup>.

#### 2.4. Fases de OMIB

A Associação Americana de Cirurgiões Oral-Maxilo-Faciais (AAOMS) em 2007, propôs o uso da seguinte classificação:

1. Doentes de Risco: usam BFs, mas não apresentam osteonecrose com exposição óssea.

2. Doentes com osteonecrose

Estádio 1: Osteonecrose com exposição óssea, assintomático e sem sinais de infecção.

Estádio 2: Osteonecrose com exposição óssea, em doentes com sinais clínicos de infecção.

Estádio 3: Osteonecrose com infecção e presença de fratura patológica, fístula extra-oral ou osteólise/sequestros ósseos.



## Capítulo II

*Características clínicas de doentes  
portugueses com Osteonecrose da  
Mandíbula associada aos  
bisfosfonatos*



## 2. Características clínicas de doentes portugueses com Osteonecrose da Mandíbula associada aos bisfosfonatos

**Autores:** João Gião Carvalho, Marisa Meneses, Rui Amaral Mendes, João F C Carvalho, Davide Carvalho.

### 2. 1. Resumo

**Introdução:** A osteonecrose dos maxilares induzida por bisfosfonatos (OMIB) é uma complicação rara. **Objetivos:** Analisar as características clínicas de doentes portugueses com OMIB e compará-las com a população mundial. **Métodos:** Efetuámos uma pesquisa bibliográfica de doentes portugueses com OMIB. A este grupo juntámos a nossa série de 8 casos. Comparámos os 57 casos com a série de 2408 de Filleul. Avaliámos um conjunto de características clínicas e classificamo-las de acordo com a classificação da Associação Americana de Cirurgiões Oral-Maxilo-Faciais (AAOMS). **Resultados:** A patologia oncológica de base variou entre carcinoma da próstata com 29,8% (n=17), da mama com 24,6% (n=14) e mieloma múltiplo com 22,8% (n=13): A osteoporose correspondeu a 10%, semelhante a outras séries. Os bisfosfonatos orais foram usados em 19,3% dos doentes portugueses, sendo o alendronato administrado em 15,8% (n=9) e o ibandronato em 3,5% (n=2) de casos. O zoledronato intravenoso foi o usado em maior número 80,7% (n=46). A realização de um acto cirúrgico foi o fator desencadeador em 81,1% (n=43). Estas lesões são mais frequentes na mandíbula com 70,6% (n=36). Apenas classificamos 15 doentes pela AAOMS, tendo 73,3% (n=11) lesão no estágio 2 e 26,7% (n=4) no estágio 1. **Conclusão:** A OMIB em Portugal tem características clínicas similares às descritas em outros estudos, atingindo em 2/3 a mandíbula, na maioria casos em doentes neoplásicos, representando a osteoporose 10%, tanto em Portugal como no estrangeiro. A maior frequência de OMIB associada a procedimentos cirúrgicos que sugere a necessidade de informação/formação de oncologistas e médicos dentistas para a necessidade de um diagnóstico e prevenção destas lesões.

**Palavras-chave:** osteonecrose, mandíbula, bisfosfonatos, Portugal, português, maxilar.

## 2.2. Abstract

**Background:** Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) is a rare complication. **Purpose:** To analyze and to compare the clinical characteristics of Portuguese patients with OMIB to a world representative population. **Methods:** We performed a literature review with case reports of ONJ induced by bisphosphonates in Portuguese patients with keywords: osteonecrosis, jaw, bisphosphonates, Portugal, portuguese. To this group of 49 patients of the literature we joined our series of 8 cases. This 57 cases sample was compared with Filleul series reported in 2010 with 2408 patients. We evaluated a set of clinical features through a structured protocol. Patients were classified according to the 2007 American Association of Oral Surgeons-Maxillo-Facial (AAOMS) classification. **Results:** The basal oncologic pathology ranged from prostate carcinoma with 29.8% (n = 17) to breast carcinoma 24.6% (n = 14) and multiple myeloma 22.8% (n = 13). Osteoporosis corresponded to 10%, similar to other studies. The oral bisphosphonate were used in 19.3% of portuguese patients, alendronate is administered in 15.8% (n = 9) and ibandronate 3.5% (n = 2) cases. Zoledronate IV was the mostly used in 80.7% (n = 46). The surgical procedure was the triggering factor in 81.1% (n = 43). These lesions are more common in the mandible with 70.6% (n = 36). Only 15 patients were classified according to AAOMS: 73.3% (n = 11) in the stage 2 lesions and 26.7% (n = 4) in stage 1. **Conclusion:** The BRONJ in Portugal has clinical features similar to those described in other studies, reaching over 2/3 the jaw, related to cancer in most cases, osteoporosis accounts for 10%, both in Portugal and abroad. The high frequency of BRONJ associated with surgical procedures suggests the need for information / education of oncologists and dentists to the need for diagnosis and prevention of these injuries.

**Keywords:** osteonecrosis, jaw, bisphosphonates, Portugal, portuguese, maxilar.

### 2.3. Introdução

Os bisfosfonatos (BFs) formam uma classe de substâncias químicas caracterizada por uma ligação P-C-P, duas cadeias laterais ligadas à cadeia central C: a R<sup>1</sup> fornece a afinidade dos BFs pelos cristais ósseos e a R<sup>2</sup> é responsável pela potência e atividade farmacológicas<sup>1</sup> (Figura 1). São análogos químicos da substância endógena denominada, ácido pirofosfórico<sup>2</sup>, que no organismo se encontra como pirofosfato, e é um inibidor natural da reabsorção óssea. Devido à sua rápida hidrólise enzimática, não pode ser utilizado como agente terapêutico no tratamento de doenças ósseas. Os BFs são análogos sintéticos, onde o átomo central de oxigénio é substituído por um de carbono, ou seja, são mais resistentes à degradação enzimática, tendo assim uma vida biológica maior, suficiente para influenciar o metabolismo ósseo<sup>3</sup>.

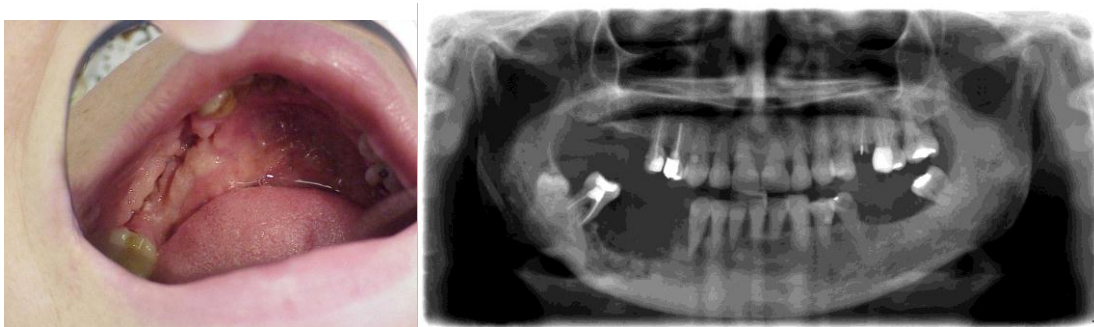
Os bisfosfonatos (BFs) são utilizados no tratamento e prevenção da metastização óssea devido à sua ação na inibição da reabsorção osteoclástica e inibição da angiogénese. Os BFs endovenosos como o pamidronato (Aredia®) e o ácido zoledrónico ou zoledronato (Zometa®), são usados para o tratamento de lesões osteolíticas de metástases ósseas de alguns tipos cancro, e para reduzir a hipercalemia de algumas doenças malignas<sup>4,5</sup>. O residronato (Actonel®), o ibandronato (Bonviva®) e o alendronato (Fosamax®, Fosavance®), são os mais usados no tratamento da Osteoporose e Osteopenia<sup>6,7</sup>.

A Osteonecrose dos Maxilares (ONM) é uma complicação rara, observada em doentes a receber radioterapia, quimioterapia ou outros tipos de tratamento anti-cancerígeno de tumores da mandíbula, e mais recentemente relacionada com os BFs. ONM induzida pelos BFs (OMIB) foi descrita pela primeira vez em 2003 por Marx<sup>8</sup>, e o grupo de trabalho da Sociedade Americana para a Investigação do Osso e Minerais definiu que para a confirmação do diagnóstico de OMIB é necessário uma área de osso exposto da região maxilofacial que não cure no espaço de 8 semanas após a identificação por um prestador de cuidados de saúde num doente que recebeu ou foi exposto a bisfosfonatos e não recebeu radiação na região craniofacial<sup>9</sup>.

Em geral apresenta-se como osso exposto na maxila e/ou mandíbula, osso necrótico e não vital, rodeado por mucosa inflamada e normalmente com infeção secundária. Outro achado frequente é um odor necrótico, principalmente em doentes com grandes áreas de exposição óssea, com implicações sociais<sup>10</sup> (Figura 1). Os sintomas podem variar entre dor aguda, dificuldade em engolir e parestesia, em casos de maior destruição óssea. A

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

maior parte dos casos relatados apresenta história de tratamento dentário invasivo, extração dentária, osteotomia, cirurgia para colocação de implantes, entre outros<sup>11,12</sup>. Para estabelecimento do diagnóstico de OMIB é indispensável excluir na história médica a possibilidade de osteorradionecrose (necrose associada à radioterapia na região da cabeça e pescoço).



**Figura 1:** Lesão de OMIB, visão clínica e radiográfica

Histologicamente, o osso necrótico normalmente está associado a contaminação com actinomyces, não mostrando sinais de malignidade<sup>13</sup>.

Após a descrição inicial seguiram-se várias publicações: Ruggiero (63 casos)<sup>14</sup>, Bagan (10 casos)<sup>15</sup> e Marx (119 casos)<sup>16</sup>. Muitos outros têm reportado casos isolados ou pequenas séries, dando informação adicional, tentando caracterizar a OMIB, nomeadamente no nosso País por Carvalho et al<sup>17</sup> e a mais recente revisão por Furtado de 42 casos<sup>18</sup>.

A OMIB afeta cerca de duas vezes mais a mandíbula que a maxila, sendo os maxilares os ossos mais afetados, admite-se que tal resulte de estes possuírem uma maior irrigação sanguínea e uma remodelação óssea mais acelerada, ambas relacionadas com a sua atividade diária, e à presença de dentes, que exige uma remodelação óssea constante ao redor do ligamento periodontal.

O processo de remodelação óssea na cavidade oral já foi estudado por diversos autores: Dixon concluiu que na crista óssea alveolar este processo é 10 vezes maior que na tibia<sup>19</sup>. Como resultado desta intensa atividade local, que se estende ao longo da vida em doentes desdentados e com dentes, são acumuladas maiores quantidades de BF's.

A incidência estimada de OMIB entre os doentes que receberam ácido zoledrónico é de 10% e o tempo médio para o início de osteonecrose é de 18 meses. O risco de OMIB pode aumentar para doentes que tomem corticosteroides<sup>3,4</sup>.

Nas fases iniciais da osteonecrose, não se detetam manifestações radiográficas e normalmente os doentes não apresentam sintomas. Quando a exposição óssea se torna mais extensa, o sinal clínico mais comum é a presença de rugosidades do tecido mole que rodeia a área do osso necrosado, podendo haver indícios de infeção secundária. Em estádios mais avançados, os indivíduos podem queixar-se de dor intensa, com áreas de parestesia<sup>20</sup>.

### 2.4. Objetivos

Analisar as características clínicas dos doentes com OMIB descritos nas séries portuguesas, incluindo a nossa, e compará-las com a maior série de doentes com OMIB representativa da população mundial, descrevendo as suas similitudes e diferenças.

### 2.5. Doentes e Métodos

#### 2.5.1. Doentes

Efetuámos uma pesquisa bibliográfica na *Pubmed*, *Scielo* e *Google* em que fossem descritos casos de OMIB em doentes portugueses com as palavras-chave: osteonecrosis, jaw, bisphosphonates, Portugal, portuguese, maxilar.

Nesta pesquisa, encontramos seis artigos dos quais um foi excluído<sup>21</sup> porque descrevia os mesmos doentes já descritos noutra, outro é uma revisão com número considerável de casos (42 casos)<sup>18</sup>, os outros 4 são apresentações clínicas de pequenos grupos ou casos singulares<sup>17,22,23,24</sup>. A este grupo de doentes encontrados na literatura revimos e juntamos a nossa serie de 8 casos.

A amostra de 57 casos portugueses foi comparada com uma série revista por Filleul em 2010 com 2408 doentes. A escolha desta resultou de ser a maior série publicada da população mundial esperando poder ser representativa desta população e permitindo a sua comparação com a portuguesa.

### **2.5.2. Métodos**

Avaliámos um conjunto de características clínicas através de um protocolo estruturado que incluía idade, género, raça, patologia inicial, bisfosfonato usado, dose, duração, quando apareceu osteonecrose, motivo que levou ao aparecimento de OMIB, data do 1º diagnóstico de OMIB, estágio da lesão e localização de OMIB.

Classificámos os doentes de acordo com a classificação de 2007 da Associação Americana de Cirurgiões Oral-Maxilo-Faciais (AAOMS):

Estádio 0. Categoria de Risco: fazem uso de BFs, porém não apresentam osteonecrose com exposição óssea;

Estádio 1: Osteonecrose com exposição óssea, assintomático e sem sinais de infeção.

Estádio 2: Osteonecrose com exposição óssea, em doentes com sinais clínicos de infeção.

Estádio 3: Osteonecrose com infeção e presença de fratura patológica, fístula extra-oral ou osteólise/sequestros ósseos.

Comparámos as percentagens de frequência das características clínicas dos doentes de ambas as series utilizando o teste qui-quadrado.

## **2.6. Resultados**

Nos 57 casos da nossa amostra de OMIB observámos as características descritas na Tabela 3.

Quanto à raça todos os que foi possível averiguar eram de raça caucasiana, a patologia oncológica verificada variou entre carcinoma da próstata com 29,8% (n=17), carcinoma

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

da mama com 24,6 % (n=14), mieloma múltiplo com 22,8% (n=13) os mesmos encontrados em outras variedades de doenças oncológicas.

Os bisfosfonatos orais foram administrados em 19,3% dos doentes. O zoledronato intravenoso foi o mais utilizado, 80,7% (n=46) dos casos, seguido do alendronato administrado oralmente, com 15,8% (n=9), e do ibandronato, utilizado em 3,5% (n=2) dos casos.

**Tabela 3:** Dados clínicos do grupo de doentes Portugueses

<b>Idade</b>	<b>Portugueses (n=57)</b>	<b>%</b>
<40	1	1,8
41-50	1	1,8
51-60	10	17,5
61-70	21	36,8
71-80	17	29,8
>81	7	12,3
<b>Género</b>	<b>(n=57)</b>	<b>%</b>
Masculino	24	42,1
Feminino	33	57,9
<b>Patologia</b>	<b>(n=57)</b>	<b>%</b>
Carcinoma da próstata	17	29,8
Carcinoma da mama	14	24,6
Mieloma múltiplo	13	22,8
Osteoporose	7	12,3
Outros	6	10,5
<b>Bisfosfonato</b>	<b>(n=57)</b>	<b>%</b>
IV	46	80,7
Oral	11	19,3
Zoledronato	46	80,7
Alendronato	9	15,8
Outros	2	3,5
<b>Motivo do aparecimento</b>	<b>(n=53)</b>	<b>%</b>

Cirurgia	43	81,1
Prótese	1	1,9
Espontânea	9	17,0
<b>Localização</b>	<b>(n=51)</b>	<b>%</b>
Maxila	12	23,5
Mandíbula	36	70,6
Ambos	3	5,9
<b>Estádio da lesão</b>	<b>(n=15)</b>	<b>%</b>
Estádio 1	4	26,7
Estádio 2	11	77,3

Relativamente ao motivo de aparecimento da OMIB, a maioria dos casos (81,1%, n=43) foi induzida pela realização de um ato cirúrgico, sendo as lesões mais frequentes na mandíbula (70.6%, n=36).

Apenas em 15 doentes conseguimos efetuar a classificação da Associação Americana de Cirurgiões Oral-Maxilo-Faciais (AAOMS), tendo 73,3% (n=11 ) lesão no estágio 2 e 26,7% (n=4) no estágio 1.

## 2.7. Discussão

Tal como na série de Filleul<sup>25</sup>, também em Portugal o sexo feminino foi mais afetado com uma diferença de 3,2% relativamente à revisão de Filleul (Tabela 4). Quanto à patologia inicial verificamos diferenças relevantes, sendo no nosso país o carcinoma da próstata a patologia mais frequentemente motivadora do início de medicação com bisfosfonatos com 29,8%, enquanto na nossa referência o mieloma múltiplo foi a mais frequente 43%.

Esta diferença sugeriria que no nosso país a OMIB não fosse mais frequente no género feminino o que não corresponde à realidade. Provavelmente esta diferença pode resultar do facto de anualmente serem diagnosticados 4000 novos casos de cancro da próstata em Portugal, comparativamente com os 300 novos casos de mieloma múltiplo (segundo Portal de Oncologia Português)

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

Tal como na amostra de casos portugueses, os BFs IV associam-se numa percentagem muito mais elevada ao aparecimento de OMIB, devido a sua maior potência de ação. O zoledronato com 88% é tal como na amostra de casos portugueses, o bisfosfonato mais utilizado restando apenas 12% divididos em 9,2% e 2,8% para o alendronato e outros respectivamente.

**Tabela 4:** Comparação das características clínicas entre os casos Portugueses e a Revisão de Filleul.

	<b>Portugueses</b>	<b>Filleul et al.</b>	$\chi^2$
<b>Género</b>	<b>% (n=57)</b>	<b>%(n=1600)</b>	<b>ns</b>
Masculino	42,1%(24)	39%(624)	
Feminino	57,9%(33)	61%(976)	
<b>Patologia</b>	<b>(n=57)</b>	<b>(n=1780)</b>	
Carcinoma da próstata	29,8%(17)	9%(160)	ns
Carcinoma da mama	24,6%(14)	32%(570)	ns
Mieloma múltiplo	22,8%(13)	43%(765)	ns
Osteoporose	12,3%(7)	10%(178)	ns
Outros	10,5%(6)	6%(107)	ns
<b>Bisfosfonato</b>	<b>(n=57)</b>	<b>(n=1694)</b>	
IV	80,7%(46)	88%(1491)	ns
Oral	19,3%(11)	12%(203)	ns
Zoledronato	80,7%(46)	88%(1491)	ns
Alandronato	15,8%(9)	9,2%(156)	ns
Outros	3,5%(2)	2,8%(47)	ns
<b>Motivo do aparecimento</b>	<b>(n=53)</b>	<b>(n=1570)</b>	
Cirurgia	81,1%(43)	67%(1052)	ns
Prótese	1,9%(1)	7%(110)	ns
Espontanea	17%(9)	26%(408)	ns
<b>Localização</b>	<b>(n=51)</b>	<b>(n=1580)</b>	
Maxila	23,5%(12)	27%(427)	ns

Mandíbula	70,6%(36)	65%(1027)	ns
Ambos	5,9%(3)	8%(126)	ns
<b>Estádio da lesão</b>	<b>(n=15)</b>	<b>(n=572)</b>	
Estádio 1	26,7%(4)	16%(92)	ns
Estádio 2	77,3%(11)	66%(377)	ns
Estádio 3	—	18%(103)	ns

No que diz respeito ao que motivou o aparecimento da OMIB, em ambas as amostras a maioria dos casos é de origem cirúrgica embora na amostra portuguesa tenha uma taxa de 81,1% contra os 67% da revisão de Filleul o que pode revelar que em Portugal ainda há um grande desconhecimento deste tipo de lesões e como atuar neste tipo de doentes, para evitar e prevenir este tipo de lesões. Tal como na amostra de casos portugueses, a origem desconhecida ou espontânea e a utilização de prótese tem valores baixos. Na nossa amostra os valores são menores comparados com os de Filleul, embora não estatisticamente significativa

Quanto à localização os dados são semelhantes nas duas séries, tendo a mandíbula 65%, maxila 27% e em ambos os casos 8%, sugerindo este fenómeno estar relacionado com o tipo de osso, sua irrigação e tipo de cargas.

Relativamente ao estágio da lesão, o estágio 2 foi o mais frequente, sendo a sua frequência mais elevada na população portuguesa estudada (66%) embora sem significado estatístico dada a ausência de casos grau 3. É de admitir que os casos mais graves apareçam nos serviços de cirurgia maxilo-facial, como na série portuguesa os 42 casos provenientes de um serviço de cirurgia maxilo-facial não tinham estadiamento tal pode explicar esta diferença.

## 2.8. Conclusão

A OMIB em Portugal tem na generalidade características clínicas similares às que acontecem em tudo o mundo, atingindo em cerca de 2/3 dos casos a mandíbula, estando associada na maioria dos casos a neoplasias e em Portugal ao carcinoma da próstata. A percentagem de casos associada a osteoporose é semelhante em Portugal e no

estrangeiro rondando os 10%, o que dada a elevada prevalência de osteoporose sugere que a OMIB poderá estar a ser subestimada ou subdiagnosticada, devendo, contudo, ser igualmente considerada a possibilidade da incidência da OMIB nestes doentes resultar das baixas doses terapêuticas geralmente administradas no tratamento da osteoporose. A maior frequência de OMIB associada a procedimentos cirúrgicos sugere a necessidade de informação/formação de oncologistas para promoverem os tratamentos dentários antes de iniciarem a quimioterapia e a terapêutica com bisfosfonatos e dos médicos dentistas para a necessidade de um diagnóstico e prevenção destas lesões.

## **2.9. Bibliografia**

- 1 - Jasmin C. Textbook of bone metastases. Chichester; Hoboken, NJ: J. Wiley & Sons 2005.
- 2 - Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000 Jan 7;100(1):57-70.
- 3 - Licata AA. Bisphosphonate therapy. Am J Med Sci. 1997 Jan;313(1):17-22.
- 4 - Berenson JR, Rajdev L, Broder M. Treatment strategies for skeletal complications of cancer. Cancer biology & therapy. 2006 Sep;5(9):1074-7.
- 5 - Major P. The use of zoledronic acid, a novel, highly potent bisphosphonate, for the treatment of hypercalcemia of malignancy. The oncologist. 2002;7(6):481-91.
- 6 - Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. N Engl J Med. 1995 Nov 30;333(22):1437-43.
- 7 - Glowacki J. Bisphosphonates and bone. Ortho J at Harvard Med School. 2005(7):64.
- 8 - Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg. 2003 Sep;61(9):1115-7.
- 9 - Khosla S, Burr D, Cauley J, et al. Bisphosphonate-associated, osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. J Bone Miner Res 2007; 22: 1479-1491

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

- 10 - Pires FR, Miranda A, Cardoso ES, Cardoso AS, Fregnani ER, Pereira CM, et al. Oral avascular bone necrosis associated with chemotherapy and biphosphonate therapy. *Oral diseases*. 2005 Nov;11(6):365-9.
- 11 - Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Nov;63(11):1567-75.
- 12 - Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer*. 2005 Jul 1;104(1):83-93.
- 13 - Van Poznak C, Estilo C. Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates. *Oncology (Williston Park)*, 2006 Aug;20(9):1053- 62; discussion 65-6.
- 14 - Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 May;62(5):527-34.
- 15 - Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*. 2005 Feb;34(2):120-3.
- 16 - Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Nov;63(11):1567-75.
- 17 - Carvalho A, Amaral Mendes R, Carvalho D, Carvalho JFC. Osteonecrose da mandíbula associada a bifosfonatos intravenosos em doentes oncológicos. *Acta Med Port*. 2008;21(5):505-510.
- 18 - Furtado IA, Caldas CF, Lança F, Silva FS. Anatomic factors related to bisphosphonate osteonecrosis of the jaws: a portuguese retrospective study. *Acta Med Port*. 2012 Mar;25(2):106-10. Epub 2012 Jun 25
- 19 - Couture RA, Whiting BR, Hildebolt CF, Dixon DA. Visibility of trabecular structures in oral radiographs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003 Dec;96(6):764-71.
- 20 - Migliorati CA, Siegel MA, Elting LS. Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment. *Lancet Oncol*. 2006 Jun;7(6):508-14.

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

- 21 - Lobato JV, Maurício AC, Rodrigues JM, Cavaleiro MV, Cortez PP, Xavier L, Botelho C, Hussain NS, Santos JD. Jaw avascular osteonecrosis after treatment of multiple myeloma with zoledronate. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008;61:99-10
- 22 - Carneiro E, Vibhute P, Montazem A, Som PM. Bisphosphonate-associated mandibular osteonecrosis. *Am J Neuroradiol*. 2006;27:1096-7.
- 23 - Lobato JV, Rodrigues JM, Cavaleiro MV, Lobato JM, Xavier L, Santos JD, Maurício AC. Maxilla osseus sequestre and oral exposure: effects of the treatment of multiple myeloma with bisphosphonates. *Acta Med Port*. 2007;20:185-92;3
- 24 - Lopes I, Zenha H, Costa H, Barroso J. Osteonecrose da Mandíbula Associada ao Uso de Bisfosfonatos Uma Patologia Secundária Grave. *Arq Med* 2009; 23: 5
- 25 - Filleul O, Crompton E, Saussez S. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: a review of 2,400 patient cases. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2010 Aug;136(8):1117-24.



## Capítulo III

*Alterações do metabolismo  
fosfocalcico e marcadores de  
remodelação óssea em doentes com  
osteonecrose dos maxilares induzida  
por bisfosfonatos*



### 3. Alterações do metabolismo fosfocalcico e marcadores de remodelação óssea em doentes com osteonecrose dos maxilares induzida por bisfosfonatos

**Autores:** João Gião Carvalho, Marisa Meneses, Rui Amaral Mendes, João F C Carvalho, Davide Carvalho

#### 3.1. Resumo

**Introdução:** No adulto, o osso é constantemente remodelado, primeiro destruído (reabsorção óssea) e depois reconstruído (neo-formação óssea). O ciclo de reabsorção óssea e reformação é importante para reparar microfraturas e modificar a estrutura em resposta ao stress e outras forças biomecânicas. A formação está fortemente acoplada à reabsorção óssea, de forma que a massa óssea não varie.

Os bisfosfonatos desempenham papel determinante no tratamento da osteoporose e das alterações do metabolismo ósseo associadas a neoplasias. A acção biológica fundamental dos BFs é inibir a reabsorção óssea, diminuindo assim o ciclo de formação/remodelação ósseo, que por sua vez, também pode reduzir os níveis de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). Contudo, recentemente foram descritas complicações orais como consequência desta terapêutica.

**Objetivos:** Analisar as diferenças nos níveis de marcadores bioquímicos do metabolismo fosfocalcico e de remodelação óssea em doentes medicados com bisfosfonatos de acordo com a presença ou ausência de OMIB.

**Material e Métodos:** amostra constituída por 13 indivíduos que frequentavam a consulta externa do Hospital de São João (HSJ), de ambos os géneros, entre os 51 e 89 anos, com diagnóstico de múltiplas patologias a quem foram administrados BFs. A amostra foi dividida em dois grupos, tendo em conta idade, género e patologia inicial: um grupo foi constituído por 8 indivíduos que efetuaram terapia com BFs e apresentavam OMIB, e outro constituído por 5 indivíduos que efetuaram terapia com BFs e não apresentavam OMIB. Todos os indivíduos efetuaram o preenchimento de um questionário individual; foram avaliados, seguindo os parâmetros relativos à evolução da patologia oncológica e o aparecimento ou não de OMIB, e realizaram análises

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

sanguíneas de vários parâmetros do metabolismo fosfo-cálcico e de remodelação óssea tais como: cálcio, fósforo, magnésio, PTH, 25 OH D, osteocalcina, fosfatase alcalina, IGF 1.

A determinação dos níveis séricos de cálcio, fósforo, magnésio, creatina, fosfatase alcalina foi realizada no autonalisador Beckman coulter. Os doseamentos da 25 OH vitamina D, osteocalcina e PTH intacta foram realizados por electroquimioluminescência através de um Kit comercial da Roche num autoanalisador Elecsys. IGF-1-1 e foi determinado por um ensaio imunoradiométrico de fase sólida enzima marcada (Immulite 2000®). Os níveis séricos normais foram definidos de acordo com os valores de referência do laboratório de análises do HSJ. O projeto seguiu as normativas legais expressas na Declaração de Helsínquia e foi aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de S. João. A análise estatística foi elaborada com recurso ao aplicativo SPSS® (versão 18). **Resultados:** Todos os doentes avaliados possuíam valores normais de cálcio, fósforo orgânico, magnésio, creatinina, fosfatase alcalina. Três doentes do grupo OMIB tinham valores elevados de PTH i. Todos os doentes apresentavam valores muito baixos de vitamina D (C/osteonecrose 17,8+9,0 versus S/osteonecrose 12,3+2,71ng/ml,  $p < 0,36$ ). Os doentes com osteonecrose tinham níveis significativamente inferiores de osteocalcina (c/osteonecrose: 13,78+12,16ng/ml vs s/osteonecrose: 36,7+25,8ng/ml,  $p < 0,05$ ). Observamos correlação significativa entre vitamina D/osteocalcina e osteocalcina/fosfatase alcalina ( $p < 0,05$ ). **Discussão:** Os níveis baixos de vitamina D nos doentes sem osteonecrose também por nós observados, embora não tendo revelado diferenças estatisticamente significativas, têm sido associados ao risco de OMIB. Os valores de fosfatase alcalina e osteocalcina diminuídos nos doentes com OMIB comparativamente com um grupo sem OMIB, também foram descritos por outros autores, em doentes com OMIB. O nosso estudo é o primeiro que demonstra que os doentes com OMIB apresentam valores de osteocalcina significativamente menores que controlos com patologias similares, sugerindo que haverá uma hipersupressão da formação óssea, contudo os factores que condicionam esta resposta não estão esclarecidos. **Conclusão:** A osteonecrose é rara mas clinicamente significativa, tendo a maioria dos doentes carência ou uma deficiência relativa de vitamina D. Os valores de fosfatase alcalina e de osteocalcina estão diminuídos nos doentes com OMIB quando comparados com um grupo controlo, sugerindo a existência de hipersupressão da formação óssea. São necessários mais estudos para esclarecer quais os mecanismos responsáveis por esta diferença.

**Palavras-chave:** Osteonecrose, osteocalcina, fosfatase alcalina, vitamina D, bisfosfonatos.

### 3.2. Abstract

**Background:** In adults, bone is continuously remodeled, first destroyed (bone resorption) and then rebuilt (bone formation). The cycle of bone resorption and reformation are important for micro fractures repair, to allow structural changes to stress and other biomechanical forces. The formation is strongly coupled to bone resorption, such that bone mass does not vary. Bisphosphonates BPs play a decisive role in the treatment of osteoporosis and bone metabolism changes associated with cancer. The fundamental biological action of BPs is inhibiting bone resorption, thereby reducing the turn over bone, which in turn, can also reduce levels of calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ). However, oral complications have been reported recently as a consequence of this therapy.

**Purpose:** To analyze the relation between the biochemical markers of the phosphocalcic metabolism and bone turnover in patients taking BFs with the appearance of Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ). **Methods:** The sample consists of 13 individuals who attended the outpatient clinic of Hospital de São João (HSJ), of both sexes, between 51 and 89 years, diagnosed with multiple disorders treated with BPs. The sample was divided into two groups, taking into account age, gender and initial pathology: one group was composed of 8 subjects who made BPs therapy and had BRONJ, and another consisting of 5 subjects who performed BPs therapy and without BRONJ. All subjects fill-up a questionnaire and were evaluated according to the oncologic pathology evolution parameters and the appearance or not of BRONJ, and conducted blood tests on multiple factors of the phosphocalcic metabolism and bone remodeling such as: calcium, phosphorous, magnesium, PTH, 25 OH vitamin D, osteocalcin, alkaline phosphatase, IGF 1. The serum levels of calcium, phosphorus, magnesium, creatinine, alkaline phosphatase, were performed at Beckman coulter autoanalyzer. Assays of 25 OH vitamin D, osteocalcin and intact PTH were performed by electrochemiluminescence using a commercial kit from Roche Elecsys. IGF-1-1 was determined by an immunoradiometric assay solid phase enzyme-labeled (Immulite ® 2000). Normal serum levels were determined in accordance with the reference values of

the HSJ analysis laboratory. The project followed the legal norms expressed in the Declaration of Helsinki, and approved by Hospital S. João Ethical Committee. Statistical analysis was made using the SPSS ® software (version 18)

**Results:** All patients assessed had values of calcium, organic phosphorus, magnesium, creatinine, alkaline phosphatase within the reference range. Three patients had high values of PTH. All patients had very low levels of vitamin D (With (W) osteonecrosis versus 17.8 +9.0 ng/mL vs without (Wo) osteonecrosis 12.3 +2.7 ng / mL,  $p < 0.36$ ). Patients with osteonecrosis had significantly lower levels of osteocalcin (W / osteonecrosis: 13.78 + 12.16 ng/mL vs Wo osteonecrosis: 36.7 +25.8 ng/mL,  $p < 0.05$ ). We observed a significant correlation between vitamin D / osteocalcin and osteocalcin / alkaline phosphatase ( $p < 0.05$ ).

**Discussion:** Low levels of vitamin D, although not significantly different from patients without osteonecrosis, also observed by us, have been associated with risk of BRONJ. The low values of alkaline phosphatase and osteocalcin in patients with BRONJ compared with the group without BRONJ, were previously described by other authors in patients with BRONJ. Our study is the first to show that patients with BRONJ present values of osteocalcin significantly lower than controls with similar diseases, suggesting that there will be a bone formation oversuppression, but the factors that influence this response are not clear.

**Conclusions:** Osteonecrosis is rare but clinically significant, and most patients had vitamin D insufficiency or a relative deficiency. The alkaline phosphatase and osteocalcin levels are decreased in patients with BRONJ compared with a control group, suggesting the existence of bone formation oversuppression. Further studies are needed to clarify the mechanisms responsible for this difference.

**Keywords:** Osteonecrosis, osteocalcin, alkaline phosphatase, vitamin D, bisphosphonates.

### 3.3. Introdução

O ciclo de remodelação óssea permite ao tecido ósseo a substituição de osso velho por novo. O osso é um tecido vivo em permanente renovação, sendo o principal reservatório de cálcio do organismo, e desempenha funções vitais importantes, desde a contracção muscular à secreção hormonal. O cálcio sérico é mantido em níveis estritos, sendo fixado no osso quando em excesso, e reabsorvido deste quando está em falta. A absorção intestinal do cálcio é controlada pela vitamina D<sup>1</sup>.

O ciclo de remodelação óssea consiste em três fases sucessivas: a reabsorção, durante a qual os osteoclastos digerem o osso velho; a reversão, células mononucleares, possivelmente da linhagem monócito/macrófago, aparecem na superfície óssea, as quais preparam a superfície para os novos osteoblastos iniciarem a formação óssea, e a fase de formação, quando os osteoblastos depositam novo osso até o osso reabsorvido ser completamente substituído, isto é quando se preenche completamente a lacuna formada. A remodelação óssea serve para renovar a arquitectura óssea, para atender às necessidades mecânicas e ajudar a reparar microfraturas na matriz óssea, evitando assim a acumulação de osso velho. Portanto, a regulação da remodelação óssea é sistémica e local<sup>2</sup>.

Os principais reguladores sistémicos incluem a hormona paratiróide (PTH), calcitriol, e outras hormonas como a do crescimento, glicocorticóides, hormonas da tiróide e hormonas sexuais. Factores como o factor de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), prostaglandinas, factor de crescimento tumoral-beta (TGF-beta), proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), e citocinas também estão envolvidos. Para a regulação local da remodelação óssea está em causa, um grande número de citocinas e factores de crescimento que afectam as funções das células ósseas que foram recentemente identificadas. Além disso, através do activador do receptor RANK / da NF-kappa B ligante (RANKL) / osteoprotegerina (OPG) do sistema, os processos de reabsorção óssea e formação estão estreitamente ligados, permitindo que uma onda de formação óssea acompanhe cada ciclo de reabsorção óssea, mantendo assim a integridade esquelética<sup>3</sup>.

Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção (destruição da matriz) do tecido ósseo. Uma homeostase delicada é mantida entre a ação dos osteoclastos, ao remover cálcio e colagénio, e a ação dos osteoblastos, construtores de osso ao depositar cálcio e

colagénio<sup>4</sup>. Se se verificasse um excesso de tecido novo, o osso tornar-se-ia anormalmente espesso e pesado. Se houvesse um excesso de deposição de cálcio, o excedente podia formar elevações espessas ("esporões") que interferiam com o movimento nas articulações. Uma perda excessiva de tecido ou cálcio torna os ossos quebradiços ou demasiado flexíveis.

No crescimento ósseo normal do jovem, a remodelação óssea no adulto e a reparação do osso fraturado dependem de minerais adequados, sendo os mais importantes o cálcio, o fósforo e o magnésio; vitaminas A, C e D; várias hormonas, sendo as mais importantes a hormona de crescimento, hormonas sexuais (estrógenos e testosterona), insulina, fatores de crescimento semelhantes à insulina, hormonas tiroideias, calcitonina e hormonas paratiroideias; e o exercício, que expõe os ossos ao stress (atividades de suporte de peso)<sup>5</sup>.

Os bisfosfonatos representam um papel predominante no tratamento da osteoporose e das alterações do metabolismo ósseo associadas a neoplasias. Contudo, recentemente foram descritas complicações orais como consequência desta terapêutica<sup>6</sup>.

A presença de metástases ósseas é comum em estádios avançados de cancro e está particularmente associada a alguns tipos, nomeadamente da mama, da próstata, mieloma múltiplo e ainda alguns tipos de cancro da tiróide, pulmão, rins e certos tipos de linfomas<sup>7,8</sup>.

Os BFs são utilizados no tratamento e prevenção da metastização óssea devido à sua ação na inibição da reabsorção osteoclástica e inibição da angiogénese. Sendo na atualidade os fármacos de primeira escolha no tratamento das hipercalemias graves. Vários estudos revelaram a sua eficácia na diminuição de complicações ósseas de etiologia maligna<sup>9,10</sup>.

Os BFs são análogos químicos da substância endógena denominada, ácido pirofosfórico<sup>11</sup>, que no organismo se encontra como pirofosfato e é um inibidor natural da reabsorção óssea.

A ação biológica fundamental de todos os BFs é inibir a reabsorção óssea, diminuindo o ciclo de formação/remodelação óssea, que por sua vez também podem reduzir os níveis de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ). A razão para este efeito anti-osteoclástico ou anti-reabsortivo é a inibição celular ou apoptose osteoclástica como referido acima<sup>12</sup>. Isto, associado à inibição da proliferação de células endoteliais<sup>13</sup>, leva à diminuição da taxa de remodelação e reabsorção óssea, criando uma situação de hipoxia, hipocelularidade e hipovascularização do tecido ósseo<sup>14</sup>. Os BFs, independentemente da sua forma de

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

administração, por via endovenosa (pamidronato ou zoledronato) ou por via oral (mesmo os de baixa toxicidade - alendronato), ligam-se aos cristais minerais da superfície óssea<sup>15</sup>.

A Osteonecrose dos Maxilares induzida pelos BFs (OMIB) é uma complicação rara, foi descrita pela primeira vez em 2003 por Marx<sup>16</sup>, e o grupo de trabalho da Sociedade Americana para a Investigação do Osso e Minerais definiu que para a confirmação do diagnóstico de OMIB é necessário uma área de osso exposto da região maxilofacial que não cure no espaço de 8 semanas após a identificação por um prestador de cuidados de saúde num doente que recebeu ou foi exposto a bisfosfonatos e não recebeu radiação na região craniofacial<sup>17</sup>.

O processo de remodelação óssea na cavidade oral já foi estudado por diversos autores, Dixon concluiu que na crista óssea alveolar este processo é 10 vezes maior que na tíbia<sup>18</sup>. Como resultado desta intensa atividade local, que se estende ao longo da vida em doentes desdentados e com dentes, são acumuladas maiores quantidades de BFs.

### **3.4. Objetivos**

Analisar a relação entre os marcadores bioquímicos do mecanismo fosfocálcico e de remodelação óssea em doentes medicados com bisfosfonatos e o aparecimento de OMIB. De acordo com os objetivos propostos, serão seguidas diferentes metodologias e usada uma amostra populacional com características específicas.

### **3.5. Doentes e Métodos**

A amostra para o estudo foi constituída por 13 indivíduos, dos quais 8 que efetuaram terapia com BFs e apresentavam OMIB, 5 efetuaram terapia com BFs e não apresentavam OMIB.

A população do estudo são indivíduos, de ambos os géneros, com o diagnóstico de múltiplas patologias e a quem foram administrados BFs, que frequentam a consulta

externa do Hospital de São João, no Porto, com idades compreendidas entre os 51-89 anos. Procuramos emparelhar os doentes dos dois grupos de acordo com a idade, género e patologia inicial.

Estes indivíduos foram informados do propósito da investigação e convidados a participar voluntariamente num rastreio clínico e um conjunto de análises sanguíneas, com o intuito de estabelecer relação entre os parâmetros bioquímicos analisados e o aparecimento ou não, de OMIB. Após o conhecimento dos procedimentos a realizar, assinaram um consentimento informado para estudo clínico e radiográfico (Anexo 1).

Foram recolhidas informações existentes relativas aos dados clínicos e laboratoriais do doente, assim como foi efetuado um exame clínico oral complementar com recolha de dados que farão parte integrante do processo de cada doente.

- Preenchimento de uma ficha/questionário individual (Anexo 2 e 3);
- Avaliação de parâmetros relativos à evolução da patologia oncológica e o aparecimento ou não de OMIB.
- Análises sanguíneas de múltiplos factores do metabolismo fosfocálcico e de remodelação óssea tais como: Cálcio, Fósforo, Magnésio, PTH, 25 OH D, Osteocalcina, Fosfatase alcalina, IGF 1.

### **3.5.1. Métodos**

A determinação dos níveis séricos de cálcio, fósforo, magnésio, creatinina, fosfatase alcalina foi realizada no autonalisador Beckman coulter.

Os doseamentos da 25 OH vitamina D, osteocalcina e PTH intacta foram realizados por electroquimioluminescência através de um Kit comercial da Roche num autoanalisador Elecsys. A IGF-1-1 foi determinada por um ensaio imunoradiométrico de fase sólida enzima marcada (Immulate 2000®).

Os níveis séricos normais foram definidos de acordo com os valores de referência do laboratório de análises do Hospital de São João e referidos na tabela 1. Consideramos carência de vitamina D, valores inferiores a 30ng/mL e deficiência valores inferiores a 20 ng/mL.

### **3.5.2. Análise estatística**

A descrição dos dados foi efectuada recorrendo ao software estatístico SPSS® (versão 18). As variáveis contínuas foram descritas como médias e desvio padrão. Quanto às variáveis categóricas foram descritas como proporções. Os valores foram testados para a distribuição normal pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk e submetidos a transformação logarítmica para se obter a normalidade. Usamos o teste t paramétrico não emparelhado para comparar grupos. Os testes de correlação Spearman e de Pearson foram usados para estabelecer a associação entre variáveis. Um valor de p inferior a 0.05 foi considerado significativo

### **3.5.3. Comissão de ética**

O projeto de investigação foi delineado segundo as normativas legais expressas na Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial, modificada em Outubro de 2000. Este estudo foi também submetido a apreciação da Comissão de Ética para a Saúde do Hospital de São João que se pronunciou favoravelmente, bem como ao Conselho de Administração do Hospital de São João que autorizou a realização do mesmo. (Anexo 1). O projeto foi financiado pela Associação dos Amigos do Serviço de Endocrinologia do Hospital de S. João

## **3.6. Resultados**

### **3.6.1. Caracterização da amostra**

Avaliamos 13 doentes sendo 8 com osteonecrose e 5 sem osteonecrose, cujas características estão descritas na Tabela 1. Quanto à raça todos os doentes investigados, eram de raça caucasiana. A patologia oncológica estava presente em 7 dos doentes com osteonecrose e em todo o grupo sem osteonecrose (Tabela 1).

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

Os bisfosfonatos orais foram administrados em apenas 1 dos casos analisados (7,7% dos doentes). O zoledronato intravenoso foi o utilizado em todos os outros 12 casos.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros analíticos sumariados n, e expressos como médias e desvio padrão.

**Tabela 5:** Características clínicas de acordo com a presença ou ausência de osteonecrose.

	<b>C/ osteonecrose</b>	<b>S/ osteonecrose</b>
<b>Idade</b>		
< 50	0	0
51-60	4(50%)	1(20%)
61-70	2(25%)	3(60%)
71-80	0	0
>81	2(25%)	1(20%)
<b>Género</b>		
Masculino	3(37,5%)	3(60%)
Feminino	5(62,5%)	2(40%)
<b>Patologia</b>		
Carcinoma da próstata	2(25%)	3(60%)
Carcinoma da mama	2(25%)	1(20%)
Mieloma Múltiplo	1(12,5%)	1(20%)
Osteoporose	1(12,5%)	0
Outros	2(25%)	0
<b>Bisfosfonato</b>		
IV	7(87,5%)	5(100%)
Oral	1(12,5%)	0
<b>Tipo de Bifosfonato</b>		
Zoledronato	7(87,5%)	5(100%)
Alandronato	1(12,5%)	0

**Tabela 6:** Relações obtidas entre doentes com osteonecrose e sem osteonecrose

	<b>C/ osteonecrose</b>	<b>S/ osteonecrose</b>	
<b>Parâmetro</b> (valores de referência)	<b>Media</b> (desvio padrão)	<b>Media</b> (desvio padrão)	<b>Significância</b>
<b>Cálcio mEq/L (4,05-5,2)</b>	4,64(0,169)	4,73(0,21)	0,48
<b>Cálcio Ionizado mEq/L</b> <b>(2.26-2.64)</b>	2,47(0,12)	2,39(0,07)	0,88
<b>Fosforo inorgânico mg/dL</b> <b>(2.7-4.5)</b>	3,44(0,67)	3,97(0,42)	0,35
<b>Magnésio mEq/L (1.55-2.05)</b>	1,63(0,07)	1,65(0,28)	0,89
<b>Creatinina mg/dL (0.8-1.4)</b>	0,66(0,28)	0,74(0,18)	0,94
<b>Fosfatase alcalina U/L (44-155)</b>	75,8(30,82)	82,67(28,55)	0,78
<b>PTH pg/mL (10-65)</b>	56,9(29,55)	43,18(10,94)	0,27
<b>Vitamina D ng/ml (&gt;30)</b>	17,8(9,07)	12,33(2,71)	0,36
<b>Osteocalcina ng/mL (&lt;26.3)</b>	13,78(12,16)	36,70(25,80)	0,05
<b>IGF1 ng/mL (75-212)</b>	231,67(112,19)	115,70(127,47)	0,62

**Tabela 7:** Correlação de diferentes marcadores em doentes com OMIB

<b>Parâmetro</b>	<b>r</b>	<b>Significância</b>
Correlação entre vitamina D e PTH	-0,5666	p<0,01
Correlação entre vitamina D e osteocalcina	-0,41304	p<0,05
Correlação entre vitamina D e cálcio	-0,09822	nS
Correlação entre vitamina D e fósforo	-0,241	nS
Correlação entre vitamina d e cálcio ionizado	0,679554	p<0,01
Correlação entre vitamina D e fosfatase alcalina	0,33112	nS
Coorelação entre PTH e fosfatase alacalina	0,52735	p<0,01
Coorelação entre osteocalcina e fosfatase alacalina	0,429174	p<0,05
Correlação fosfatase alcalina e cálcio ionizado	-0,09911	nS
Correlação PTH osteocalcina	0,647779	p<0,01

Observamos valores de cálcio total e ionizado normal e baixo respectivamente (Tabela 6) e valores normais de fósforo. Observamos valores muito baixos de vitamina D tendo 2 doentes deficiência e os restantes carência. Três doentes tinham valores elevados de PTH i, indicando hiperparatiroidismo secundário a carência de vitamina D, embora os valores médios de PTH fossem normais. Os valores IGF-1 embora superiores no grupo osteonecrose não eram estatisticamente diferentes (c/osteonecrose:231,7+112,2ng/ml e s/osteonecrose: 115.7+127,5ng/ml,  $p<0,62$ ).

Observamos uma correlação positiva entre os valores de cálcio ionizado e a vitamina D, isto é, quanto mais baixos os níveis de vitamina D mais baixos os valores de cálcio (Tabela 7).

Observámos hiperparatiroidismo secundário a carência de vitamina D em 3 doentes, confirmado pela correlação negativa entre os valores de vitamina D e a PTH, a osteocalcina e a fosfatase alcalina. Observamos uma correlação positiva entre a PTH e a fosfatase alcalina e a osteocalcina, traduzindo as suas ações anabólicas ósseas.

### 3.7. Discussão

O osso é uma estrutura funcional, que se remodela continuamente ao longo da vida reagindo à carga física nele exercida e ao ambiente metabólico. Dois processos fisiológicos, formação óssea e reabsorção, contribuem para o processo de remodelação. Muitas cirurgias dentárias, tais como a colocação de implantes, são grandemente dependentes do processo de remodelação óssea para uma correta cicatrização.

A terapêutica com bisfosfonatos tem sido descrita como um dos factores de risco para OMIB na cirurgia oral, incluindo a cirurgia de implantes<sup>19,20</sup>. Se o osso que rodeia o implante dentário apresentar uma concentração moderada a alta de bisfosfonatos, o processo normal de remodelação estará prejudicado ou impedido, e portanto, o risco de necrose do osso circundante será aumentado.

Os marcadores da remodelação óssea são diferentes para a deposição e para a reabsorção. A fosfatase alcalina e a osteocalcina, são marcadores de formação.

Muitos estudos têm discutido as variações nos marcadores bioquímicos da remodelação óssea durante a terapêutica com BFs. Nalguns estudos, os valores da osteocalcina diminuíram ligeiramente durante a terapêutica com BFs<sup>21,22,23,24</sup> e a formação óssea

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

pode ser bastante suprimida pela inibição da reabsorção óssea, dado que ambos os processos estão fisiologicamente acoplados<sup>25</sup>.

Os níveis baixos de vitamina D, ainda que não sendo significativamente diferentes dos doentes sem osteonecrose, têm sido associados ao risco de OMIB. A vitamina D parece estar envolvida na patogénese da OMIB porque a forma ativa de vitamina D é necessária para certas respostas imunológicas através da activação de macrófagos, parecendo que baixos níveis aumentam o risco de OMIB<sup>26</sup>. De acordo com as recomendações da Sociedade Americana de endocrinologia a carência de vitamina é muito frequente em todos os grupos etários, aconselhando-se o seu doseamento em doentes de grupo de risco, como doentes a efetuar glicocorticoides. Nos doentes com deficiência ou carência recomenda-se a sua suplementação<sup>27</sup>.

O hiperparatiroidismo primário, caracterizado por uma produção contínua de PTH, está associado a osteoporose<sup>28</sup>, pelo contrário, a administração intermitente de PTH constitui o maior estimulante da formação óssea. O seu análogo sintético teriparatide é o fármaco com maior poder osteoformador<sup>29</sup>.

O hiperparatiroidismo secundário, e a carência de vitamina D, como observado na nossa amostra serão outros factores que contribuinte para a patogénese da osteonecrose. No nosso estudo verificamos que os valores de fosfatase alcalina e osteocalcina estavam diminuídos nos doentes com OMIB, comparativamente com o grupo controlo com medicação similar e sem OMIB, com significado estatístico para a osteocalcina. Resultados semelhantes foram descritos por outros autores<sup>30,31</sup> (27,28), embora não em todos os estudos<sup>32</sup>.

O nosso estudo é o primeiro que demonstra que os doentes com OMIB apresentam valores de osteocalcina significativamente menores do que controlos com patologias similares, sugerindo que haverá uma hipersupressão da formação óssea. Qual ou quais os factores que condicionam, esta resposta não está esclarecido.

É interessante verificar que a administração de PTH parece reverter a quiescência da formação óssea, nomeadamente estimulando a formação óssea avaliada pelo doseamento da osteocalcina<sup>33</sup>.

Recentemente um polimorfismo no gene CYP2C8 (rs1934951) foi identificado num rastreio alargado do genoma (genome wide scan) como um factor de risco para o desenvolvimento de OMIB no mieloma múltiplo<sup>34</sup> (33). No entanto, a tentativa de

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

comprovação do mesmo facto noutras patologias oncológicas, como cancro da próstata, não o permitiu comprovar<sup>35</sup> (34). Outros autores estudaram alterações genéticas do CYP2c8 e observaram correlações fortemente positivas entre a localização maxilar e um grupo de variáveis, como a administração intravenosa e marcadores lipídicos. Por outro lado, a localização mandibular estava positivamente correlacionada com os níveis séricos de cálcio, 25(OH) vitamina D, com os níveis de PTH, com a administração oral e com a duração da terapêutica com BF<sup>36</sup>.

### **3.7.1. Limitações**

Este estudo apresenta limitações resultantes da dimensão amostral. A determinação dos parâmetros em doentes com as mesmas patologias mas sem tratamento com BF<sup>36</sup> permitiria clarificar a influência destes nesta patologia.

O estudo de marcadores da reabsorção óssea como a fosfatase ácida óssea, fragmentos NTX 1 (N-Telo peptídeo X) e a Desoxipiridinolina (DPD) não foi realizado, o que poderia permitir uma visão mais completa do ciclo de remodelação óssea.

### **3.8. Conclusão**

A osteonecrose é rara mas clinicamente significativa para cada doente portador da patologia, e para a comunidade médica e dentária. Com este estudo podemos concluir que na maioria dos doentes se observa carência ou deficiência relativa de vitamina D. Concluimos ainda que os valores de fosfatase alcalina e osteocalcina estavam diminuídos nos doentes com OMIB quando comparados com um grupo controlo, com medicação similar e sem OMIB, com significado estatístico para a osteocalcina.

O nosso estudo é o primeiro que demonstra que os doentes com OMIB apresentam valores significativamente menores do que os controlos com patologias similares, sugerindo que haverá uma hipersupressão da formação óssea. Qual ou quais fatores que

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

condicionam esta resposta não está esclarecido pelo que serão necessários mais estudos, embora se possam admitir factores genéticos que contribuam para este fenómeno.

### **Referências Bibliográficas**

- 1 - Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jul;96(7):1911-30.
- 2 - Khosla S, Bilezikian JP, Dempster DW, et al. Benefits and risks of bisphosphonate therapy for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Jul;97(7):2272-82.
- 3 - Naidu A, Dechow PC, Spears R, et al. The effects of bisphosphonates on osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Jul;106(1):5-13.
- 4 - Allen MR, Burr DB. The pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: so many hypotheses, so few data. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 May;67(5 Suppl):61-70.
- 5 - Major PP, Lipton A, Berenson J, et al. Oral bisphosphonates: A review of clinical use in patients with bone metastases. *Cancer.* 2000 Jan 1;88(1):6-14.
- 6 - Tubiana-Hulin M, Spielmann M, Roux C, et al. Physiopathology and management of osteonecrosis of the jaws related to bisphosphonate therapy for malignant bone lesions. A French expert panel analysis. 2009 Jul;71(1):12-21.
- 7 - Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000 (Jan)7;100(1):57-70.
- 8 - Yokota J. Tumor progression and metastasis. *Carcinogenesis.* 2000 Mar;21(3):497-503.
- 9 - Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocrine reviews.* 1998Feb;19(1):80-100.
- 10 - Fleisch H. From polyphosphates to bisphosphonates and their role in bone and calcium metabolism. *Progress in molecular and subcellular biology.* 1999;23:197-216.
- 11 - Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer.* 2000 Jun 15;88(12 Suppl):2961-78.
- 12 - Hortobagyi GN. Novel approaches to the management of bone metastases. *Seminars in oncology.* 2003 Oct;30(5 Suppl 16):161-6.

- 13- Reszka AA, Rodan GA. Bisphosphonate mechanism of action. *Current rheumatology reports*. 2003 Feb;5(1):65-74.
- 14 - Ross JR, Saunders Y, Edmonds PM, et al. Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. *BMJ* 2003 Aug 30;327(7413):469.
- 15 - Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer*. 2000 Jun 15;88(12 Suppl):2961-78.
- 16 - Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Sep;61(9):1115-7.
- 17 - Khosla S, Burr D, Cauley J, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. *J Bone Miner Res* 2007 Oct; 22: 1479-1491.
- 18 - Couture RA, Whiting BR, Hildebolt CF, et al. Visibility of trabecular structures in oral radiographs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003 Dec;96(6):764-71.
- 19 - Bornstein MM, Cionca N, Mombelli A. Systemic conditions and treatments as risks for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:12-27.
- 20 - Shirota T, Nakamura A, Matsui Y et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw around dental implants in the maxilla: report of a case. *Clin Oral Implants Res*. 2009 Dec;20(12):1402-8.
- 21 – Fink E, Cormier C, Steinmetz P, et al. Differences in the capacity of several biochemical bone markers to assess high bone turnover in early menopause and response to alendronate therapy. *Osteoporosis Int* 2000; 11(4): 295-303.
- 22 – Looker AC, Bauer DC, Chesnut CH 3rd, et al. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions. *Osteop Intern* 2000; 11(6): 467-80.
- 23 – Raisz L, Smith JA, Trahiotis M, et al. Short term risedronate treatment in postmenopausal women: effects on biochemical markers of bone turnover. *Osteop Intern* 2000; 11; 615-20.
- 24 – Kim SW, Park DJ, Park KS, et al. Early changes in biochemical markers of bone turnover predict bone mineral density response to antiresorptive therapy in Korean postmenopausal women with osteoporosis. *Endocrinology Journal* 2005; 2:667-74.

- 25 - Baim S, Miller PD. Assessing the clinical utility of sérum ctx in postmenopausal osteoporosis and its use in predicting risk of osteonecrosis of the jaw. *J Bone Min Res* 2009; 24: 561-74.
- 26 - Pazianas M. Osteonecrosis of the jaw and the role of macrophages. *J Natl Cancer Inst* 2011 Feb 2;103(3):232-40.
- 27 - Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Guidelines for preventing and treating vitamin D deficiency and insufficiency revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:1153-8
- 28 - Cooper MS. Disorders of calcium metabolism and parathyroid disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011 Dec;25(6):975-83.
- 29 - Johnson BE. Review: Teriparatide reduces fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *Ann Intern Med.* 2012 Sep 18;157(6):JC3-4.
- 30 - Kwon YD, Kim DY, Ohe JY, et al. Correlation between sérum c-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen and staging of oral staging of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofacial surgery* 2009; 67:2644-8.
- 31 - Kwon YD, Ohe JY, Kim DY, et al. Retrospective study of two biochemical markers for the risk assessment of oral bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: can they be utilized as risk markers? *Clin Oral Implants Res* 2011; 22: 100-105.
- 32 - Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67: 159-161.
- 33 - Kwon YD, Lee DW, Choi J, et al. Short term teriparatide therapy as an adjunctive modality for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Osteoporos Int.* 2012 Nov;23(11):2721-5.

34 - Sarasquete ME, García-Sanz R, Marín L, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood*. 2008 Oct 1;112(7):2709-12.

35 - English BC, Baum CE, Adelberg DE, et al. A SNP in CYP2C8 is not associated with the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in men with castrate-resistant prostate cancer. *Ther Clin Risk Manag*. 2010 Nov 19;6:579-83.

36 - Balla B, Vaszilko M, Kósa JP, et al. New approach to analyze genetic and clinical data in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis*. 2012 Sep;18(6):580-5.

## **Capítulo IV**

### ***Osteonecrose induzida por bisfosfonatos: perspectivas futuras no estudo da OMIB***

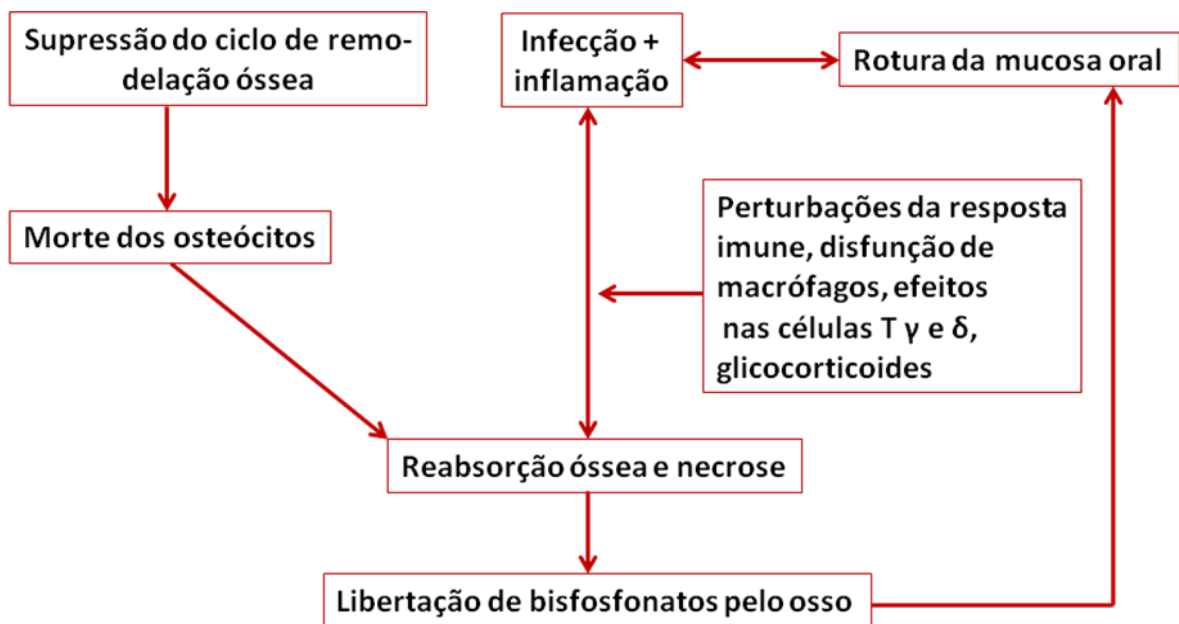


## 4. Osteonecrose induzida por bisfosfonatos: perspectivas futuras no estudo da OMIB

### 4.1. Introdução

Na última década a OMIB tem emergido como uma complicação a longo prazo da terapêutica com bisfosfonatos (BFs). É uma situação rara mas associada a uma morbilidade significativa.

Vários mecanismos têm sido implicados no desenvolvimento da OMIB, incluindo a supressão do ciclo de reabsorção/formação óssea, infeção e inflamação, inibição da angiogénese e efeitos imunomodulatórios (Figura 1)<sup>30</sup>.



**Figura 2:** Fisiopatologia da Osteonecrose da Mandíbula induzida pelos bisfosfonatos (adaptado de Compston J<sup>30</sup>)

A explicação mais frequente para o desenvolvimento da OMIB é uma supressão do ciclo de remodelação óssea resultando em modificações significativas das propriedades

da matriz óssea, como discutimos anteriormente. Esta supressão leva a uma quiescência óssea com necrose dos osteócitos e libertação de BFs. Estes quando há uma intervenção agravam a rotura da mucosa e a sua não cicatrização, perpetuando-se a OMIB associada ou não a infeção secundária.

Os efeitos antiangiogénicos dos BFs foram demonstrados em ensaios pré-clínicos<sup>31</sup> e em ensaios clínicos demonstrou-se que os BFs reduzem os níveis séricos de VEGF e induzem uma inibição do fator de crescimento derivado das plaquetas<sup>32,33</sup>.

A inibição da angiogénese pode impedir a reparação das fraturas de stress por impedir o aumento da vascularização perióssea requerida para a sua correção. Para além disso, dado que os capilares formados nos locais de remodelação óssea são uma fonte de osteoclastos e possivelmente também de precursores de osteoblastos, a inibição da angiogénese pode suprimir ainda mais o ciclo de remodelação óssea<sup>34</sup>.

O efeito antiangiogénico dos BFs pode impedir a fixação no osso das células neoplásicas pelo que é utilizado como terapêutica adjuvante do tratamento de neoplasias como da próstata, da mama e mieloma múltiplo<sup>35,36</sup>.

## 4.2. Angiogénese

Angiogénese é o termo utilizado para descrever o mecanismo de formação e crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos vasos já existentes. A angiogénese também acontece no adulto, sendo a falta de oxigénio (hipoxia) um sinal de início dos mecanismos moleculares e celulares que resultarão no crescimento de novos vasos sanguíneos de pequenas dimensões, tal como, a diminuição de glicose plasmática (hipoglicemia) e a pressão originária da proliferação celular em neoplasias<sup>37</sup>.

Das várias substâncias pró-angiogénese o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) é o que possui maior relevo. O VEGF liga-se a um recetor, promovendo a proliferação das células endoteliais. Existem 3 recetores para o VEGF: VEGFR-1: fraco estimulador da angiogénese; VEGFR-2: mais importante para a angiogénese, e VEGFR-3 ligado à proliferação dos vasos linfáticos.

A hipoxia é o fator que induz a secreção de VEGF. Desta forma, vai haver estimulação do fator induzido pela hipoxia (HIF), o qual migra para o núcleo e induz a transcrição de genes envolvidos na glicólise, na realização de respiração anaeróbia, na sobrevivência e

apoptose da célula e de genes envolvidos na proliferação vascular como o VEGF<sup>38</sup>. Os efeitos biológicos do VEGF são a migração e proliferação das células endoteliais, a remodelação da matriz extra-celular, o aumento da permeabilidade vascular e a manutenção dos vasos sanguíneos neo-formados<sup>39</sup>.

As angiopoietinas são outro grupo de moléculas tão importantes como o VEGF no controlo da angiogénese. As angiopoietinas 1 e 2 ligam-se ao mesmo recetor, Tie-2. Normalmente é a angiopoietina 1 que ocupa o recetor Tie-2, mantendo a estabilidade do vaso, contudo, o recetor Tie-2 tem maior afinidade para a angiopoietina 2. Deste modo, quando se dá o aparecimento de angiopoietina 2, a angiopoietina 1 desliga-se do receptor Tie-2, e vai ligar-se a angiopoietina 2. Tudo isto contribui para a desestabilização dos pericitos, que facilitam a ligação do VEGF à célula endotelial. Sendo assim, é da ação conjunta da angiopoietina 2 e do VEGF, que surge o estímulo para a angiogénese. Quando a angiopoietina 2 se liga ao Tie-2 mas não há VEGF, a célula entra em apoptose. A angiopoietina 2 não é expressa em tecidos adultos normais, só se expressando em tecidos onde vai ocorrer angiogénese. Recentemente foi descrito o seu doseamento sérico pela técnica Elisa como marcador de gravidade de doença crítica<sup>40</sup>.

Relativamente à angiogénese nas neoplasias, verifica-se que ao redor dos tumores existe um aumento da proliferação dos vasos, uma vez que as células tumorais possuem um metabolismo mais acelerado do que as células normais, precisando de mais oxigénio; contudo, a hipoxia que se faz sentir leva a que as células segreguem VEGF, que por sua vez, induz o crescimento dos vasos sanguíneos. Estes vão nutrir o tumor, possibilitando o seu crescimento, e fazer a ligação entre as células tumorais e a circulação sistémica, favorecendo a disseminação destas células à distância, produzindo metástases<sup>41</sup>.

Um tumor é capaz de induzir a formação de novos vasos, não só pela produção de fatores angiogénicos, mas também pela produção de metaloproteinases (MMP), que facilitam a proliferação dos neovasos<sup>42</sup>. O tumor recruta células inflamatórias que vão ser estimuladas por uma reação antigénio-anticorpo, a produzir uma reação inflamatória secundária no tumor, que produz citocinas e VEGF, levando a um aumento da angiogénese<sup>43</sup>.

A quantificação dos vasos sanguíneos, isto é, o estudo da angiogénese tem aplicação clínica para prognóstico do tumor; aceleração durante a reparação (por exemplo, na cicatrização); o bloqueio da angiogénese em neoplasias (para que o tumor não tenha

nutrição e desse modo diminua a sua taxa de crescimento e a sua capacidade de criar metástases)<sup>39</sup>.

#### Efeitos antiangiogénicos dos BFs

A investigação dos potenciais mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos antiangiogénicos dos BFs nitro e não nitrogenados, clodronato e pamidronato, respetivamente, tem demonstrado que ambos suprimem significativamente a acumulação da proteína HIF-1 $\alpha$  induzida pelo IGF-I e expressão de VEGF nas células MCF-7<sup>32</sup>. Mecanicamente ambos não parecem afetar a expressão do mRNA do HIF-1 $\alpha$ , mas aparentemente, promovem a degradação da proteína HIF-1 $\alpha$  induzido pelo IGF-1. No entanto a síntese do HIF1 $\alpha$  parece resultar de uma inibição proteossómica. Para além disso, as ações dos BFs no eixo HIF-1 $\alpha$ /VEGF estão associadas a inibição da via da quinase fosfatidilinositol 3/AKT/mTOR (mammalian target of rapamycin). Estes efeitos comprovam a ação na inibição da angiogénese tumoral<sup>44</sup>. O ácido zoledrónico atua na medula óssea pela supressão de genes associados com linfoangiogénese e remodelação tecidual, tais como o VEGF-C e a MMP-13. O zoledronato associou-se a alteração da cicatrização óssea porém, sem efeito nos marcadores angiogénicos na medula óssea ou cura das feridas dos tecidos ósseos. O zoledronato inibe seletivamente a cicatrização óssea, mas não afeta os tecidos moles<sup>33</sup>.

Para o estudo do papel destes fatores na patogénese da OMIB podemos estudar alguns dos principais fatores promotores da angiogénese como por exemplo, BFGF, VEGF, IGF1 e HIF 1.

#### **4.2.1 BFGF**

Quando as proteínas sintetizadas por uma célula se podem difundir a pequena distância para induzir alterações em células vizinhas, o evento é chamado uma interação parácrina, e as proteínas são chamados fatores difusíveis parácrinos ou fatores de crescimento e diferenciação (GDFS). Muitos destes fatores parácrinos podem ser agrupados em quatro grandes famílias com base nas suas estruturas. Estas famílias são o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), a família de Hedgehog, a família (Wnt) Wingless e da superfamília TGF- $\beta$ .

A família do fator de crescimento de fibroblastos (FGF) tem atualmente mais de uma dúzia de membros estruturalmente relacionados. FGF-1 é também conhecido como FGF ácido; FGF-2 é chamado de FGF básico (bFGF), e o FGF7, é também chamado de fator de crescimento de queratinócitos.

O bFGF é especialmente importante na angiogénese, e FGF8 é importante para o desenvolvimento do cérebro médio e membros. O bFGF estimula a proliferação de células estaminais multipotenciais, que, posteriormente, dão origem a neurónios do córtex. O bFGF estimula o crescimento de fibroblastos, osteoblastos, mioblastos, células neuronais, células endoteliais, queratinócitos, condrócitos, e muitos outros tipos de células. O bFGF foi demonstrado ser um promotor ou um modulador inibitório da diferenciação celular, também para outros tipos de células.

O bFGF não é apenas um mitogénio para os condrócitos, mas também inibe a sua diferenciação terminal. Comprovou-se a relação entre a expressão do bFGF e o grau de desenvolvimento de cancro colo-rectal e a sobrevivência dos doentes com esta doença. Demonstrou-se que valores elevados de bFGF estavam associados com o avanço do processo neoplásico, especialmente quando as metástases coexistiam. Também foi demonstrado que níveis mais elevados de bFGF indicavam pior prognóstico quando a sobrevivência estava em causa. Estas observações sugerem que o bFGF e a família podem desempenhar um papel ativo em variadas situações patológica.

O doseamento do bFGF humano pode ser realizado com soro utilizando ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) comercializado pela Prospec (protein specialists)

#### **4.2.2. VEGF**

VEGF, também conhecido como um fator de permeabilidade, é um potente fator da angiogénese e vasculogénese no feto e no adulto. É membro da família do factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e no homem expressa-se em várias isoformas com 121, 145, 165, 183, 189 e 206 amino ácidos, sendo a isoforma VEGF165 a mais comum.

## Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

O VEGF está expresso em diferentes células tais como no esqueleto, músculo cardíaco, hepatócitos, osteoblastos, entre outros. Este fator é induzido pela hipoxia e algumas citocinas.

O VEGF une-se a dois recetores relacionados com a tirosina-quinase formando o VEGF R1 (também conhecido como Flt-1) e o VEGF R2 (Flk/KDR) e embora a ligação com o VEGF R1 seja mais frequente, o VEGF R2 parece ser o mediador primário da angiogénese.

VEGF165 também se liga ao recetor de semaforina, neuropilina-1, que promove a formação de um complexo com VEGF R2. O VEGF é mais conhecido pelo seu papel na vasculogénese. Durante a embriogénese, o VEGF regula a proliferação, migração e sobrevivência das células endoteliais, regulando assim a densidade dos vasos sanguíneos e seu tamanho, mas não interferindo no papel da determinação de padrões vasculares. VEGF promove formação de osso através do recrutamento de osteoblastos e condroblastos, é também um fator de atração química de monócitos.

Na vida pós-natal, o VEGF mantém a integridade das células endoteliais e é um potente mitógeno para as micro e macro células endoteliais vasculares. Nos adultos, as funções do VEGF são principalmente na cicatrização de feridas e no ciclo reprodutor feminino. Em tecidos doentes, o VEGF promove a permeabilidade vascular, admitindo-se contribuir para a metástase de tumores, tanto através da promoção da angiogénese tumoral e extravasamento.

Várias estratégias têm sido utilizadas terapêuticamente para antagonizar a angiogénese tumoral mediada pelo VEGF. Os níveis circulantes de VEGF correlacionam-se com a atividade da doença, em doenças auto-imunes tais como artrite reumatóide, esclerose múltipla e lúpus eritematoso sistémico.

A importância deste factor na angiogénese e a supressão desta aquando da terapia com bisfosfonatos leva ao interesse de avaliar este factor de forma a perceber a relação que este tem com o aparecimento de OMIB. Segundo Vincenzi há uma grande diminuição de VEGF depois da administração de bisfosfonatos, facto que revela que as propriedades antiangiogénicas dos BFs estão directamente relacionadas com OMIB, e que os níveis do soro de VEGF pode representar um marcador predictivo efectivo.

O VEGF pode ser doseado no soro por imunoensaio quantitativo medindo os níveis da isoforma VEGF165, comercializado pela empresa Quantikine®.

### **4.2.3. HIF 1**

O Factor Induzido pela Hipóxia (HIF-1) é composto por duas subunidades, *HIF-1 $\alpha$*  e *HIF-1 $\beta$* . Os HIF-1 são fatores de transcrição que respondem a alterações na disponibilidade de oxigénio (O<sub>2</sub>) no ambiente celular, especificamente, a uma diminuição de O<sub>2</sub>, ou hipoxia.

Em resposta à hipoxia, a estimulação dos fatores de crescimento e ativação de oncogenes, bem como carcinogéneos, o HIF-1 $\alpha$  é sobreexpresso e/ou ativado, e tem como alvo os genes que são necessários para a angiogénese, a adaptação metabólica para baixo oxigénio e promove a sobrevivência. O HIF-1 é essencial para os processos fisiológicos, assim como, para os processos patológicos.

Foram identificadas várias dúzias de putativos genes alvos diretos do HIF-1 com base em um ou mais elementos de resposta de hipoxia que contêm um sítio de ligação ao HIF-1 ([www.cusabio.com](http://www.cusabio.com)).

Foi igualmente documentado uma variedade de reguladores, incluindo fatores de crescimento, alterações genéticas, ativadores de stress, e alguns agentes carcinogéneos para a regulação do HIF-1 em que várias vias de sinalização estão envolvidas dependendo dos estímulos e tipos celulares.

A ativação do HIF-1 em combinação com as vias de sinalização ativadas e reguladores está implicada na progressão do tumor e no seu prognóstico.

O HIF- 1 pode ser doseado por um método utilizando uma técnica de elisa com uma placa de microtitulação pré-revestida com um anticorpo específico para HIF-1 este kit é comercializado pela empresa Cusabio.

### **4.2.4. IGF1**

O factor de crescimento insulimimético é um fator controlado pela somatotrofina e pela insulina. Tem também relevância na angiogénese, daí o interesse já provado por Tang X em 2010 que mostra que a terapêutica com BFs reduz significativamente o IGF-1 através da sua degradação, induzindo assim a acumulação da proteína HIF 1, tornando estes fatores num possível marcador preditivo do possível aparecimento de OMIB.

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

O ensaio imunoradiométrico do Fator de crescimento semelhante a insulina 1 (IGF-I) é um ensaio do tipo "sanduíche" comercializada e já foi por nós utilizado no estudo dos marcadores da formação óssea

### **4.3. Conclusão**

O estudo dos marcadores da angiogénese comparando doentes com OMIB, doentes com a mesma patologia tratados BFs sem OMIB e doentes com a mesma patologia antes do tratamento com BFs é um dos nossos objectivos futuros. Constituímos uma seroteca com as amostras colhidas que esperamos analisar em breve

# **Capítulo V**

## ***Conclusão***



## 5. Conclusão

A OMIB é uma complicação rara do tratamento com bisfosfonatos mas associada a significativa morbilidade. Do conjunto de estudos que efetuamos, podemos concluir que:

1 - A OMIB em Portugal tem na generalidade características clínicas similares às que acontecem em tudo o mundo, atingindo em cerca de 2/3 dos casos a mandíbula, estando associada na maioria dos casos a neoplasias e em Portugal ao carcinoma da próstata. A percentagem de casos associada a osteoporose é semelhante em Portugal e no estrangeiro rondando os 10%, o que dada a elevada prevalência de osteoporose sugere que a OMIB poderá estar a ser subestimada ou subdiagnosticada, devendo, contudo, ser igualmente considerada a possibilidade da incidência da OMIB nestes doentes resultar das baixas doses terapêuticas geralmente administradas no tratamento da osteoporose. A maior frequência de OMIB associada a procedimentos cirúrgicos sugere a necessidade de informação/formação de oncologistas para promoverem os tratamentos dentários antes de iniciarem a quimioterapia e a terapêutica com bisfosfonatos e dos médicos dentistas para a necessidade de um diagnóstico e prevenção destas lesões.

2 – Na maioria dos doentes com OMIB observa-se ou carência ou uma deficiência relativa de vitamina D. Concluímos ainda que os valores de fosfatase alcalina e osteocalcina estavam diminuídos nos doentes com OMIB quando comparados com um grupo controlo, com medicação similar e sem OMIB, com significado estatístico para a osteocalcina.

O nosso estudo é o primeiro que demonstra que os doentes com OMIB tem valores significativamente menores que controlos com patologias similares, sugerindo que haverá uma hipersupressão da formação óssea. Qual ou quais fatores que condicionam, esta resposta não está esclarecido e são necessários de mais estudos, embora se possam admitir factores genéticos que contribuam para este fenómeno.

Face aos resultados do primeiro estudo consideramos importante rever sumariamente as recomendações actuais e as novas opções que são propostas para a prevenção e tratamento desta situação.

## 5.1. Tratamento de OMIB que opções tomar

O tratamento da OMIB é constituído por uma grande variedade de opções terapêuticas, como: bochechos antissépticos de soluções de clorhexidina, desbridamento local, sequestrectomia, antibioterapia e oxigenação hiperbárica, estes tipos de opções de tratamento são semelhantes às utilizadas no tratamento da osteoradionecrose. Mas a principal opção, neste caso, inclui antibióticos para a infeção localizada e analgésicos para a dor. A parathormona sintética (teriparatida) pode ter algum benefício.

As seguintes opções terapêuticas propostas pela AAOMS, divididas de acordo com as categorias de risco, devem ser divulgadas, contribuindo para a formação dos profissionais que observam estes doentes.

**Tabela 8:** Estádios e estratégias de tratamento

Estádio	Estratégia de Tratamento	Categoria de risco
	Doente em uso de BFs oral ou EV, sem osso necrótico aparente	Sem tratamento específico; aconselhamento do doente
Estádio 0	Sem evidência clínica de osso necrótico, mas com achados clínicos e sintomas não específicos	Controlo sistémico, com analgésicos e antibióticos
Estádio 1	Osso exposto necrótico em doente assintomático e sem evidência de infeção	Bochechos antibacterianos; Acompanhamento clínico trimestral Aconselhamento do doente e revisão das indicações de uso contínuo de BFT
Estádio 2	Osso exposto necrótico com infeção evidenciada por dor e eritema, com ou sem drenagem purulenta	Tratamento sintomático com antibiótico VO Bochechos antibacterianos Controlo da dor Desbridamento superficial para alívio da irritação da mucosa
Estádio 3		Bochechos antibacterianos

Osso exposto necrótico em doente com dor e eritema e um ou mais dos seguintes sinais: osso exposto necrótico para além da região alveolar, tais como borda inferior ou ramo da mandíbula, seio maxilar ou zigoma, resultando em fratura patológica, fístula extraoral, comunicação bucossinusal ou nasal, ou osteólise estendendo-se ao bordo inferior da mandíbula ou ao pavimento do seio maxilar	Terapia antibiótica e controlo da dor Desbridamento/ressecção cirúrgica para alívio prolongado de dor e infeção
---	--

## 5.2. Novas opções

### 5.2.1. Oxigénio hiperbárico (OHB)

Tem sido proposto o uso de câmaras hiperbáricas para a administração de oxigénio (OHB) para a cicatrização de lesões como osteoradionecrose ou osteomielite<sup>45</sup>. Não é consensual a sua acção efectiva quando falamos de OMIB, tendo sido descrito por muitos autores como ineficaz<sup>46</sup>(104). Pelo contrário Freiburger JJ em 2009 apoia a utilização do OHB como coadjuvante a cirurgia e aos antibióticos. Continua a ser um tema controverso mas com cada vez mais autores que a apoiam<sup>47,48,49,50,51</sup>. (2,3,4,5,6)

### 5.2.2. Proteínas morfogénicas ósseas (Bone Morphogenic Protein 2 - BMP2)

A aplicação de proteína morfogenética do osso tipo 2 (BMP-2) substituindo a remoção de osso necrótico pode ser considerada uma opção terapêutica válida e segura para a reconstrução de defeitos ósseos localizadas das maxilas, como os associados à OMIB.

A aplicação do fator de crescimento nestes doentes pode ter um bom prognóstico, porque promove a cicatrização dos tecidos moles e duros. Agindo como agentes

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

quimiotáticos, estimulam a angiogênese, migração, proliferação e diferenciação de células estaminais, a partir dos tecidos mesenquimais envolventes, em células formadoras de osso, na área da lesão<sup>52,53</sup>.

Ciciu demonstrou recentemente que em casos de OMIB o uso de BMP2 após cirurgia acelera o processo de cicatrização dos tecidos<sup>54</sup>.

### **5.2.3. Tratamento com Paratormona**

Os agentes anabólicos como teriparatide, análogo sintético da PTH, aumentaram as nossas opções terapêuticas. Eles agem estimulando diretamente a formação óssea e aumentando a massa e qualidade ósseas, reduzindo as taxas de fratura significativamente. As suas indicações têm crescido e a teriparatide parece ser um agente promissor<sup>55</sup>. A teriparatide está comercializada no nosso país (Forsteo, Lilly) para o tratamento da osteoporose grave refractária à terapêutica convencional.

Subramanian G. descreve seis relatos de casos com resolução das lesões OMIB após a administração de teriparatide. Estas descrições indicam que as terapias osteoanabólicas podem ser uma esperança no tratamento da OMIB<sup>56</sup>.

### **5.2.4. Laserterapia**

A antibioticoterapia intermitente ou contínua com desbridamento cirúrgico pode ser benéfico para aliviar os sintomas. O laser Er: YAG pode ser utilizado para eliminar porções de osso necrótico por ressecção parcial ou total, como uma alternativa para os dispositivos convencionais rotativos.

A principal vantagem desta técnica é a ação bactericida e bioestimuladora do feixe de laser, como relatado na literatura. Há muito tempo que a bioestimulação promovida pelo laser (ou biomodulação) é investigada por uma ampla gama de aplicações voltadas principalmente para processos de cura e controlo da dor.

Segundo Vescovi, uma abordagem conservadora cirúrgica precoce com Er: YAG associado com terapia de laser de baixa intensidade (LBI), no caso de OMIB poderia ser

Repercussões clínicas orais em doentes com Osteonecrose associada aos Bisfosfonatos

considerado como mais eficiente quando comparada com terapêuticas médicas ou outras técnicas convencionais<sup>57</sup>.

#### **5.2.5. Plasma rico em fatores de crescimento (PRFC)**

Este processo produz uma concentração muito elevada de plaquetas humanas e contém vários factores proteicos de crescimento (factores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), factor de crescimento transformante (TGF), factores de crescimento epidérmico (EGF) e factores de crescimento vasculares endoteliais (VEGF), que são segregados activamente pelas plaquetas e iniciam a cicatrização da lesão<sup>58</sup> (10).

Nesta nova era de crescimento e diferenciação, a biologia pode ser aplicada para o tratamento de numerosas situações esqueléticas como uma alternativa ou suplemento para a ressecção ou enxertos ósseos<sup>59</sup>.



# **Capítulo VI**

## ***Bibliografía***



## 6. Bibliografia

- 1 - Estatística INd. Causas de Morte em Portugal. In: INE, ed. 2003.
- 2 - Pinheiro P.S., Tyczynski J.E., Bray F., Amado J., Matos E., Miranda A.C., et al. Cancer. In: Cancro em Portugal. IARC Technical Publication. 2003;38.
- 3 - Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell. 2000 Jan 7;100(1):57-70.
- 4 - Yokota J. Tumor progression and metastasis. Carcinogenesis. 2000 Mar;21(3):497-503.
- 5 - Fantasia JE. Bisphosphonates--what the dentist needs to know: practical considerations. J Oral Maxillofac Surg. 2009 May;67(5 Suppl):53-60.
- 6 - Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. Endocrine reviews. 1998 Feb;19(1):80-100.
- 7 - Jasmin C. Textbook of bone metastases. Chichester ; Hoboken, NJ: J. Wiley & Sons 2005.
- 8 - Fleisch H. From polyphosphates to bisphosphonates and their role in bone and calcium metabolism. Progress in molecular and subcellular biology. 1999;23:197-216.
- 9 - Fleisch H. Bisphosphonates: a new class of drugs in diseases of bone and calcium metabolism. Recent results in cancer research Fortschritte der Krebsforschung. 1989;116:1-28.
- 10 - Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. Cancer. 2000 Jun 15;88(12 Suppl):2961-78.
- 11 - Licata AA. Bisphosphonate therapy. The American journal of the medical sciences. 1997 Jan;313(1):17-22.
- 12 - Paterson AH, Anderson SJ, Lembersky BC, et al. Oral clodronate for adjuvant treatment of operable breast cancer (National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol B-34): a multicentre, placebo-controlled, randomised trial. Lancet Oncol. 2012 Jul;13(7):734-42.
- 13 - Reszka AA, Rodan GA. Bisphosphonate mechanism of action. Current rheumatology reports. 2003 Feb;5(1):65-74.
- 14 - Hortobagyi GN. Novel approaches to the management of bone metastases. Seminars in oncology. 2003 Oct;30(5 Suppl 16):161-6.

- 15 - Berenson JR, Rajdev L, Broder M. Treatment strategies for skeletal complications of cancer. *Cancer biology & therapy*. 2006 Sep;5(9):1074-7.
- 16 - Major P. The use of zoledronic acid, a novel, highly potent bisphosphonate, for the treatment of hypercalcemia of malignancy. *The oncologist*. 2002;7(6):481-91.
- 17 - Glowacki J. Bisphosphonates and bone. *Ortho J at Harvard Med School*. 2005(7):64.
- 18 - Marx RE. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Sep;61(9):1115-7.
- 19 - Van Poznak C, Estilo C. Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates. *Oncology (Williston Park)*, 2006 Aug;20(9):1053- 62; discussion 65-6.
- 20 - Dearden W. The Causation of phosphorus necrosis. *Br Med J*. 1901(2): 408.
- 21 - Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 May;62(5):527-34.
- 22 - Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10 cases. *J Oral Pathol Med*. 2005 Feb;34(2):120-3.
- 23 - Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Nov;63(11):1567-75.
- 24 - Carvalho A, Amaral Mendes R, Carvalho D, Carvalho JFC. Osteonecrose da mandíbula associada a bifosfonatos intravenosos em doentes oncológicos. *Acta Med Port*. 2008;21(5):505-510.
- 25 - Khosla S, Burr D, Cauley J, et al . Bisphosphonate-associated, osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. 2007; 22: 1479-1491
- 26 - Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Nov;63(11):1567-75.
- 27 - Migliorati CA, Schubert MM, Peterson DE, Seneda LM. Bisphosphonate associated osteonecrosis of mandibular and maxillary bone: an emerging oral complication of supportive cancer therapy. *Cancer*. 2005 Jul 1;104(1):83-93.

- 28 - Van Poznak C, Estilo C. Osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving IV bisphosphonates. *Oncology (Williston Park)*, 2006 Aug;20(9):1053- 62; discussion 65-6.
- 29 - Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J OralMaxillofac Surg*. 2004 May;62(5):527-34.
- 30 -Compston J, Pathophysiology of atypical femoral fractures and osteonecrosis of the jaw. *Osteoporosis Int*. 2012; 22: 2951-61.
- 31 - Furnier P, boissier S, Filleur S et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vivo and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrate rats. *Cancer Res*. 2002; 62:6538-6544.
- 32 - Santini D, Vincenzi B, Dicuonzo G., et al. Zoledronic Acid induces significant and long-lasting modification of circulating angiogenic factors in cancer patients. *Clin cancer Res*. 2003; 9 2893-97.
- 33 - Vincenzi B, Santini D, Dicuonzo G, et al. Zoledronic acid-related angiogenesis modifications and survival in advanced breast cancer patients. *J Interferon Cytokine Res*. 2005; 25:144-51.
- 34 - Anderson TL, Sondergaard TE, Skorzynska KE, et al. A physical mechanism for coupling bone resorption and formation in adult human bone. *Am J Pathol* 2009; 174:239-47.
- 35 - Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocrine reviews*. 1998Feb;19(1):80-100.
- 36 - Fleisch H. From polyphosphates to bisphosphonates and their role in bone and calcium metabolism. *Progress in molecular and subcellular biology*. 1999;23:197-216.
- 37 - Tang X, , Zhang Q, Shi S, et al. Bisphosphonates suppress insulin-like growth factor 1-induced angiogenesis via the HIF-1alpha/VEGF signaling pathways in human breast cancer cells. *Int J1 - Estatística INd. Causas de Morte em Portugal*. In: INE, ed. 2003.
- 38 - Formento JL, Berra E, Ferrua B, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for pharmacological studies targeting hypoxia-inducible factor 1alpha. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005; 12:660-4.
- 39 - Cicciù M, Herford AS, Juodžbalys G, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein type 2 application for a possible treatment of bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniofac Surg*. 2012; 23:784-8.

40 - Lukasz A, Hellpap J, Horn R, et al. Circulating angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in critically ill patients: development and clinical application of two new immunoassays. *Crit Care*. 2008;12:R94.

41 - Thurston G. Complementary actions of VEGF and angiopoietin-1 on blood vessel growth and leakage. *J Anat*. 2002; 200:575-80.

42 - Fink K, Boratyński J. The role of metalloproteinases in modification of extracellular matrix in invasive tumor growth, metastasis and angiogenesis. *Postepy Hig Med Dosw* . 2012; 66:609-28.

43 - Vincenzi B, et al. Serum VEGF levels as predictive marker of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Hematol Oncol*. 2012; 5:56.

44 - Latres E, Amini AR, Amini AA, et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) inversely regulates atrophy-induced genes via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) pathway. *J Biol Chem*. 2005 ;280:2737-44.

45 - Freiburger JJ. Utility of hyperbaric oxygen in treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 May;67(5 Suppl):96-106.

46 - Nastro E, Musolino C, Allegra A, et al: Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast cancer. *Acta Haematol*. 2007;117(3):181-7.

47 - Magopoulos C, Karakinaris G, Telioudis Z, et al: Osteonecrosis of the jaws due to bisphosphonate use: A review of 60 cases and treatment proposals. *Am J Otolaryngol* 2007 May-Jun;28(3):158-63.

48 - . Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, et al: Case 2: Osteonecrosis of the jaws associated with bisphosphonate therapy. *J Clin Oncol*. 2006 Mar 20;24(9):1475-7.

49 - Shimura K, Shimazaki C, Taniguchi K, et al: Hyperbaric oxygen in addition to antibiotic therapy is effective for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw in a patient with multiple myeloma. *Int J Hematol* 2006 Nov;84(4):343-5.

50 - Soileau KM: Oral post-surgical complications following the administration of bisphosphonates given for osteopenia related to malignancy. *J Periodontol* 2006 Apr;77(4):738-43.

51 -Kumar SK, Meru M, Sedghizadeh PP: Osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy: A case series. *J Contemp Dent Pract* 2008 Jan 1;9(1):63-9.

- 52 – Nase JB, Suzuki JB. Osteonecrosis of the jaw and oral bisphosphonate treatment. *J Am Dent Assoc* 2006 Aug;137(8):1115-9
- 53 – Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. *J Clin Oncol* 2006 Feb 20;24(6):945-52.
- 54 – Cicciù M, Herford AS, Juodžbalys G, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein type 2 application for a possible treatment of bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniofac Surg.* 2012 May;23(3):784-8.
- 55 - Cheng ML, Gupta V. Teriparatide - Indications beyond osteoporosis. *Indian J Endocrinol Metab.* 2012 May;16(3):343-8.
- 56 - Subramanian G, Cohen HV, Quek SY. A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its resolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011 Dec;112(6):744-53.
- 57 - Vescovi P, Manfredi M, Merigo E, et al. Surgical approach with Er:YAG laser on osteonecrosis of the jaws (ONJ) in patients under bisphosphonate therapy (BPT). *Lasers Med Sci.* 2010 Jan;25(1):101-13. Epub 2009 Jun 19.
- 58 – Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al: Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998 Jun;85(6):638-46.
- 59 - Curi MM, Cossolin GS, Koga DH, et al. Treatment of Avascular Osteonecrosis of the Mandible in Cancer Patients With a History of Bisphosphonate Therapy by Combining Bone Resection and Autologous Platelet-Rich Plasma: Report of 3 Cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Feb;65(2):349-55.102 - Karu T (1989) Laser biostimulation: a photobiological phenomenon. *J Photochem Photobiol* 3:638–640



# Capítulo VII

## *Anexos*

