

Luísa Loppnow Vidal

Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando
Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF):
Revisão da Literatura e Relato de Caso

Brasília
2021

Luísa Loppnow Vidal

Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando
Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF):
Revisão da Literatura e Relato de Caso

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Odontologia da Faculdade de
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para a conclusão do curso
de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Bruzadelli Macedo

Coorientador: Prof. MsC. Ivanir Greco Jr.

Brasília
2021

À minha família, por me criarem com todo o amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus, energia causa primeira de todas às coisas, pela minha vida.

Aos meus pais, Luiz Cezar e Marion, por acreditarem em mim. Por todo o amor, dedicação na minha formação pessoal, profissional, emocional e espiritual. Aonde quer que eu vá, sei que sempre poderei voltar para casa.

À pessoa que dormia de mãos dadas comigo quando eu tinha medo do escuro, minha irmã, Bruna. Obrigada por não me deixar pitar me mostrando que eu posso levar as coisas de uma forma mais leve, mas obrigada também por pitar comigo as vezes. Te amo. A saudade dói.

À minha família, meus primeiros melhores amigos, que mesmo distante torce por mim e me dá forças para que eu tenha sucesso em minhas escolhas. Onde quer que eu esteja, estamos conectados.

Aos meus grandes amigos, que levo para a vida, do ensino fundamental, médio e faculdade. Especialmente ao Arthur Sena, que leu algumas vezes um trabalho que não entendia o tema para me dar o apoio que eu precisava, além de sua opinião sincera.

Ao Matheus Gomes, por todo o amor, apoio, compreensão, ajuda, paciência e mimos. Obrigada por estar comigo em todos os momentos.

À todos que já formaram minha dupla de clínica comigo: Luander Medrado, Arthur Lago, Marina Silva, Giovanna Zanini e trios Jairo, Isabella, Gustavo Heilmann e Gabriel Avellar. Obrigada por estarem comigo nesse período.

Aos professores de Odontologia da Universidade de Brasília que tanto me ensinaram ao longo desses anos. Especialmente aos meus orientadores, Sérgio Bruzadelli e Ivanir Greco Jr., por todo o tempo, paciência e dedicação. Agradeço por me darem a oportunidade de realizar esse projeto.

À professora Mayara Simonelly, por ser minha guia nos momentos em que eu tive tantas dúvidas e precisava de acolhimento. Você foi essencial! Agradeço o apoio, empolgação, disponibilidade e carinho. Sua energia é maravilhosa.

EPÍGRAFE

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota”

Theodore Roosevelt

RESUMO

VIDAL, Luísa Loppnow. Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e leucócitos: Revisão de Literatura e Relato de Caso. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Odontologia)

A osteonecrose dos maxilares (ONM) pode resultar da radiação usada na radioterapia para tratamento de tumores malignos ou de medicamentos, como os bifosfonatos e denosumab. O tratamento de pacientes com osteonecrose da mandíbula requer cautela, pois não existe um tratamento específico que atue de maneira isolada e decisiva. No entanto, diferentes modalidades de tratamento podem ser empregadas, entre elas: oxigenoterapia hiperbárica, protocolo pentoclo, laser, ozonioterapia e fibrina rica em plaquetas e leucócitos. O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão das ações biológicas e bioquímicas do ozônio medicinal e da fibrina rica em plaquetas e leucócitos no tratamento da osteonecrose juntamente com a apresentação de um caso clínico.

ABSTRACT

VIDAL, Luísa Loppnow. Osteonecrosis of the Jaws Treatment Combining Ozone Therapy and Leucocyte Platelet Rich Fibrin: Literature Review and Case Report. Course conclusion work (Dentistry degree).

Osteonecrosis of the jaw (ONJ) can result from radiation used in radiotherapy treatments of malignant tumors or medications, such as bisphosphonates and denosumab. The treatment of patients with ONJ requires caution since there is not a specific treatment that acts in an isolated and decisive manner. However, different treatment techniques can be engaged in order to increase the success rate, among these: hyperbaric oxygen therapy, pentoclo protocol, laser, ozone therapy and leucocyte platelet rich-fibrin. The aim of this study was to review the biological and biochemical actions of medicinal ozone and fibrin rich in platelets and leukocytes in the treatment of osteonecrosis together with the presentation of a clinical.

SUMÁRIO

ARTIGO CIENTÍFICO	17
FOLHA DE TÍTULO	19
Resumo	21
Abstract	22
Introdução.....	23
Osteonecrose	23
Ozonioterapia	24
Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (I-prf).....	26
Revisão de Literatura	29
Ozonioterapia no reparo tecidual	29
Ozonioterapia na osteonecrose	31
Fibrina rica em plaquetas e leucócitos no reparo tecidual .	33
Fibrina rica em plaquetas e leucócitos na osteonecrose ...	35
Relato de Caso.....	37
Discussão	43
Conclusão.....	46
Referências	47
Normas da Revista.....	52

ARTIGO CIENTÍFICO

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico:

VIDAL, Luísa Loppnow. Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e leucócitos: Revisão de Literatura e Relato de Caso.

Apresentado sob as normas de publicação da Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery

FOLHA DE TÍTULO

Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e leucócitos: Revisão de Literatura e Relato de Caso

Osteonecrosis of the Jaws Treatment Combining Ozone Therapy and Leucocyte Platelet Rich Fibrin: Literature Review and Case Report

Luísa Loppnow Vidal¹

Sérgio Bruzadelli Macedo²

Ivanir Greco Jr.³

¹ Aluna de Graduação em Odontologia da Universidade de Brasília.

² Professor Adjunto de Cirurgia da Universidade de Brasília (UnB).

³ Professor Adjunto de Cirurgia da Universidade de Brasília.

Correspondência: Prof. Dr. Sérgio Bruzadelli Macedo
Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 - Asa Norte - Brasília - DF
E-mail: bruzadelli@unb.br / Telefone: (61) 981276050

RESUMO

Tratamento de Osteonecrose dos Maxilares Associando Ozonioterapia e Fibrina Rica em Plaquetas e leucócitos: Revisão de Literatura e Relato de Caso

Resumo

A osteonecrose dos maxilares (ONM) pode resultar da radiação usada na radioterapia para tratamento de tumores malignos ou de medicamentos, como os bifosfonatos e denosumab. O tratamento de pacientes com osteonecrose da mandíbula requer cautela, pois não existe um tratamento específico que atue de maneira isolada e decisiva. No entanto, diferentes modalidades de tratamento podem ser empregadas, entre elas: oxigenoterapia hiperbárica, protocolo pentoclo, laser, ozonioterapia e fibrina rica em plaquetas e leucócitos. O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão das ações biológicas e bioquímicas do ozônio medicinal e da fibrina rica em plaquetas e leucócitos no tratamento da osteonecrose juntamente com a apresentação de um caso clínico.

Palavras-chave

Osteonecrose; ozonioterapia; fibrina rica em plaquetas e leucócitos; bisfosfonatos.

ABSTRACT

Osteonecrosis of the Jaws Treatment Combining Ozone Therapy and Leucocyte Platelet Rich Fibrin: Literature Review and Case Report.

Abstract

Osteonecrosis of the jaw (ONJ) can result from radiation used in radiotherapy treatments of malignant tumors or medications, such as bisphosphonates and denosumab. The treatment of patients with ONJ requires caution since there is not a specific treatment that acts in an isolated and decisive manner. However, different treatment techniques can be engaged in order to increase the success rate, among these: hyperbaric oxygen therapy, pentoclo protocol, laser, ozone therapy and leucocyte platelet rich-fibrin. The aim of this study was to review the biological and biochemical actions of medicinal ozone and fibrin rich in platelets and leukocytes in the treatment of osteonecrosis together with the presentation of a clinical case.

Keywords

Osteonecrosis; ozone therapy; leucocyte platelet rich-fibrin; bisphosphonates

INTRODUÇÃO

OSTEONECROSE

A osteonecrose dos maxilares (ONM), sendo conhecida em inglês como ONJ, pode ser induzida por radioterapia e pelo uso de medicamento antirreabsortivos^{1,2}. Tais terapias, radioterapia e antirreabsortivos (bisfosfonatos e denosumab) são terapêuticas coadjuvantes no tratamento de tumores malignos. O primeiro, por sua ação direta sobre o tumor, o segundo, por inibir a metástase dos tais tumores para osso. Ainda hoje, não existe um protocolo que obtenha 100% de sucesso na ONJ, o que a faz ser considerada uma patologia desafiadora³. A ONJ é geralmente identificada por meio da exposição óssea, podendo permanecer assintomática por semanas ou meses. De acordo com a discrepância de número de casos de ONJ em maxila e mandíbula, a osteonecrose dos maxilares relacionada ao uso de medicamentos (MRONJ) aparenta ter predileção pela mandíbula, o que pode ser atribuído a relativa baixa vascularização da mandíbula quando comparada à maxila^{4,5}.

A primeira subdivisão da ONJ é a osteorradionecrose, sendo identificada como a complicação mais perigosa e mais frequente da radioterapia de cabeça e pescoço⁶. A segunda subdivisão, chamada de osteonecrose dos maxilares relacionada a medicamentos (em inglês MRONJ), é definida como: "exposição óssea na região maxilofacial que não cicatriza dentro de 8 semanas a partir da observação de um profissional de saúde em pacientes com histórico de ingestão de agentes antirreabsortivos e sem irradiação prévia em região craniofacial"^{5,7}.

Da mesma forma que a radioterapia causa a obliteração da circulação sanguínea local, pela endoarterite obliterante, acarretando danos ao osso, o bisfosfonato e o denosumab,

inibindo as células endoteliais e osteoclastos, também podem induzir a necrose óssea. Estes medicamentos são muito utilizados também no tratamento da osteoporose, devido à características de serem antirreabsortivos e antiangiogênicos, acarretam inibição dos osteoclastos e dos fatores que induzem o crescimento dos vasos, o que dificulta a regeneração óssea e aumenta a densidade óssea, reduzindo o risco de fratura. Esses fármacos se acumulam na matriz óssea e são lentamente liberados durante períodos prolongados de tempo, por até 10 anos. Por esse motivo, o risco de desenvolver MRONJ pode permanecer mesmo após a interrupção do uso do medicamento³. Desse modo, o objetivo de tratamento da ONJ deve se concentrar no reparo tecidual. Os tratamentos podem incluir terapias combinadas de antibióticos, corticosteroides, terapia com oxigenoterapia hiperbárica (HBO), ozonioterapia, desbridamento ósseo e ressecção cirúrgica seguida por reconstrução com uso de agregadores plaquetários. A opção mais adotada para o tratamento de ONJ é a cirurgia, sendo a taxa de sucesso entre 53% e 67% em cirurgias extensas^{3,5}. Neste artigo serão revisadas as técnicas de ozonioterapia e de fibrina rica em plaquetas e leucócitos, além de serem ambas ilustradas associadas em um caso clínico.

OZONIOTERAPIA

O gás ozônio é uma molécula biológica triatômica instável formada por 3 átomos de oxigênio, que se decompõem em uma molécula de O₂ e um átomo livre de oxigênio. É utilizado na proporção de 5% a 0,05% de O₃ e 95% a 99,95% de O₂. A ozonioterapia tem sido usada de forma terapêutica em inúmeras patologias, como doenças vasculares, úlceras e doenças virais agudas e crônicas⁸⁻¹⁰. O ozônio também possui efeito

multifacetado, se mostrando imunoestimulante em baixas doses e imunoinibidor a níveis mais elevados. Em aplicação local, o ozônio apresenta propriedades antálgicas e anti-inflamatórias. Age facilitando a metabolização e eliminação de mediadores inflamatórios (como bradicinina, histamina e quinina) por meio da neutralização de mediadores neuroquímicos da sensação dolorosa. Também inibe a cicloxigenase II evidenciando a redução da hiperpermeabilidade, edema e dor⁹.

Na odontologia a molécula é utilizada pelo seu potencial oxidante e bioestimulador⁸. Seu principal efeito biológico está relacionado com a inibição do fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), reagindo primeiramente com os fosfolipídeos e, após isso, atuando sobre um sistema de regulação fisiológica chamado Nrf2, promovendo reequilíbrio das funções biológicas. No sistema vascular, atua na capacidade de melhorar a circulação sanguínea, eleva a saturação de oxigênio e conseqüentemente melhora o aporte sanguíneo às células do organismo e aos tecidos isquêmicos, modula o estresse oxidativo biológico, a resposta inflamatória, combatendo radicais livres^{4,9}. Também estimula a proliferação celular, como fibroblastos, acelera a cicatrização de tecidos moles, aprimora o metabolismo geral, influencia na regulação positiva das enzimas antioxidantes, induz leve ativação do sistema imunológico e aumenta a liberação de fatores de crescimento, como PDGF, TGF α , e VEGF e plaquetas^{9,11,12}.

Tratar uma lesão óssea por meio de antibióticos pode se tornar desafiador levando em conta a diminuição da vascularização na área¹³. Por esse motivo, uma das qualidades da ozonioterapia é ser aplicada na forma de água, óleo e gás^{10,14,15}. O gás é um excelente desinfetante para infecções cutâneas ou mucosas, todavia é tóxico se respirado cronicamente, podendo deteriorar a membrana alveolar, além de que nunca deve ser diretamente injetado na corrente sanguínea devido ao risco de provocar embolia¹⁶. O gás tem um tempo médio de vida de 40 min a 25°C

e se decompõe em oxigênio com a velocidade de decomposição dependendo da temperatura ambiente¹³. A água ozonizada é produzida dissolvendo-se o gás na água. Possui capacidade anti-inflamatória, além de ser um excelente desinfetante para infecções cutâneas, mucosas e ósseas¹⁶. O óleo é considerado eficaz e seguro no tratamento das lesões pequenas de osteonecrose e, embora os pacientes no estudo de Ripamonti et al. (2011) que foram tratados com óleo tenham relatado sabor desagradável, não foi noticiado nenhum caso de intolerância ao método^{17,18}. No que tange a sua capacidade microbicida, o ozônio age na membrana celular de bactérias, fungos, parasitas e até mesmo vírus¹³. Nas bactérias, atua tanto sobre as gram- quanto as gram+, oxidando seus lipídeos e componentes lipoproteicos na concentração 0.5 a 10 mg/litro em períodos entre 2 a 10 minutos^{9,19}. Ainda que possuam diferenças em sua suscetibilidade, todos os vírus são suscetíveis ao ozônio, sendo os vírus envoltos em lipídeos os mais suscetíveis¹⁶.

FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS (L-PRF)

Historicamente, vários concentrados autólogos de plaquetas, conhecidos em inglês como (APCs), têm sido usados para promover cicatrização de tecidos. O uso do primeiro Plasma Rico em Plaquetas (PRP), usado para melhorar a cicatrização óssea na região oral e maxilofacial foi relatado em 1998²⁰ e em 2007, foi usado no tratamento de osteonecrose de maxilares associada ao uso de medicamentos após ressecção óssea^{21,22}. A Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) é um concentrado plaquetário de segunda geração que foi desenvolvida na França por Choukroun, primariamente para uso específico em cirurgia oral e maxilo-facial²³. A fibrina é uma forma ativada da molécula plasmática fibrinogênio. O fibrinogênio é solúvel, está

massivamente presente no plasma e nas plaquetas granuladas alfa e desempenha um papel determinante na agregação plaquetária durante a hemostasia²⁴. Simples e com baixo custo para ser produzida, usando tubos de vidro ou plástico, a L-PRF pode ser usada na forma polimérica ou monomérica²². É transformada, primeiramente, em uma espécie de cola biológica capaz de consolidar o aglomerado inicial de plaquetas, constituindo assim uma parede protetora ao longo de brechas vasculares durante a coagulação²⁵.

O protocolo para o uso de L-PRF faz-se da coleta de uma amostra de sangue que é obtida sem anticoagulante em tubos de 10ml e que são imediatamente centrifugados. A falta do anticoagulante implica na ativação em poucos minutos da maioria das plaquetas da amostra de sangue em contato com as paredes do tubo e libera a cascata de coagulação. O fibrinogênio é inicialmente concentrado na parte mais alta do tubo, antes da trombina circulante transformá-lo em fibrina. O coágulo de fibrina é então obtido no meio do tubo, entre os glóbulos vermelhos no fundo e o soro ao topo. O sucesso da técnica depende em boa parte da velocidade do tempo entre a coleta do sangue e o início da centrifugação^{21,25}.

A L-PRF é utilizada na implantodontia, na exodontia, no fechamento de comunicações bucosinusais, no enxerto ósseo e no enxerto de tecido mole. Além disso, é empregada no tratamento de osteonecroses. Como na condição osteonecrótica a vascularização é limitada, o tratamento com L-PRF se torna ainda mais significativo, uma vez que a L-PRF possui propriedades angiogênicas²⁶. A importância da L-PRF na ONJ está em regular a inflamação e estimular fatores quimiostáticos envolvidos na resposta imune²¹. As redes de fibrina do PRF são densas e, assim, fornecem um suporte de matriz natural para o armazenamento e fixação de células, liberando lenta e gradualmente seus componentes à medida que é reabsorvida²¹.

Devido às características confirmadas de reparo tecidual das técnicas supracitadas e sua utilização na odontologia, é proposição deste trabalho fazer uma revisão de literatura sobre o tratamento das necroses dos maxilares focando nas técnicas de ozonioterapia e fibrina rica em plaquetas e leucócitos e relatar um caso em que ambas as técnicas foram utilizadas.

REVISÃO DE LITERATURA

OZONIOTERAPIA NO REPARO TECIDUAL

Foi estudado por Buliés (2005) a relevância que a ozonioterapia tem como coadjuvante no tratamento de infecções ósseas. No estudo, foram analisados 22 pacientes afetados por osteomielite crônica, tratados com os métodos convencionais durante mais de 6 meses e com histórias de recidivas. Após o tratamento com ozonioterapia local e sistêmica, o índice de recidivas caíram revelando uma taxa de 73% de sucesso.

Kim et al. (2009) pesquisaram sobre os efeitos terapêuticos do óleo ozonizado na cicatrização de feridas cutâneas em porquinhos-da-índia. Foram realizadas feridas no dorso dos animais, afim de serem avaliadas sobre a evolução da cicatrização de um grupo ozonizado em comparação à um grupo controle. Foi concluído que, no grupo tratado com óleo ozonizado, as feridas obtiveram aceleração do reparo tecidual promovendo síntese de colágeno e proliferação de fibroblastos no local das lesões e aumento na expressão de fatores de crescimento como PDGF, TGF- β e VEGF.

Por Patel et al. (2011), foi analisado o efeito do óleo ozonizado em feridas no palato. O estudo foi realizado com 18 pacientes divididos em grupo ozonizado e grupo controle. Após observarem os resultados citológicos e comparar os grupos, foi concluído que o óleo ozonizado promoveu uma melhoria significativa no tamanho da ferida e cicatrização epitelial das feridas palatinas.

Kazancioglu et al. (2013) analisaram histologicamente a cicatrização óssea em 30 ratos após tratamento com laserterapia e ozonioterapia. Ambas as técnicas foram realizadas 3 vezes por semana durante 2 semanas. Os resultados mostraram que as duas técnicas obtiveram efeito positivo na formação óssea

quando comparado ao grupo controle. Ainda nesse estudo, a ozonioterapia se mostrou mais eficaz.

Em um estudo de Erdemci et al. (2014) foram investigados os efeitos das aplicações sistêmicas e tópicas do ozônio na cicatrização óssea alveolar após a extração dentária em 112 ratos e concluíram que a aplicação pós-operatória de ozônio sistêmico a longo prazo pode acelerar a cicatrização óssea alveolar após a extração.

Kan et al. (2015) realizaram um estudo em 60 ratos para comparar a eficácia do oxigênio hiperbárico e do ozônio sistêmico, utilizados separadamente e em combinação, na cura de defeitos ósseos. Foi concluído que a utilização de oxigênio hiperbárico e ozônio, separadamente e em combinação, mostrou ser eficaz no aumento da cicatrização óssea. O uso combinado não foi mais eficaz em estimular a cicatrização óssea do que o uso separado.

Borges et al. (2017) avaliaram os efeitos do ozônio na migração celular, na cicatrização de feridas, sua atividade antimicrobiana e sua citotoxicidade. Para avaliar o efeito do ozônio na migração celular, os métodos utilizados visavam avaliar o efeito do ozônio na migração celular, imitando as condições in vivo de uma ferida e sua reparação. Os resultados não mostraram efeitos citotóxicos. O ozônio induziu significativamente a migração dos fibroblastos, o que poderia auxiliar o processo de cicatrização da ferida.

Por Xiao et al. (2017), foi realizado um estudo feito com ratos divididos em grupos tratados com óleo ozonizado e grupo controle. Foi demonstrado que o óleo ozonizado diminuiu significativamente a inflamação e facilitou a cicatrização da ferida através do aumento da migração de fibroblastos in vivo e in vitro.

Em um estudo de Eroglu et al. (2019) foram analisados os efeitos da ozonioterapia na cicatrização de feridas gengivais em 8 porcos utilizando um grupo ozonizado e um grupo controle. A expressão VEGF encontrada no grupo de teste foi superior às

amostras do grupo de controle colhidas no 3^o e 7^o dia. Sugeriu-se que aplicação tópica do gás ozônio poderia ser eficaz nas fases iniciais da cicatrização de feridas, aumentando a quantidade de expressão VEGF e sendo clinicamente relevante na cicatrização oral.

Anzolin et al. (2020) fizeram uma revisão integrativa de 28 artigos sobre utilização do óleo ozonizado em inflamações. Foi observado que os efeitos benéficos ocorrem devidos à cicatrização de feridas, à redução da infecção microbiana, ao efeito de desbridamento, modulação da fase inflamatória, estimulação da angiogênese, assim como reações biológicas e enzimáticas que favorecem o metabolismo do oxigênio, melhorando a cicatrização da ferida.

OZONIOTERAPIA NA OSTEONECROSE

Em 2007, foi relatado por Petrucci et al. (2007) a eficácia da ozonioterapia no tratamento de 12 pacientes diagnosticados com osteonecrose após o uso de bisfosfonatos. Em todos os pacientes, a dor, as secreções e a halitose foram solucionadas. 75% dos pacientes tiveram resolução completa dos sinais e sintomas. Foi observado que, os pacientes que não obtiveram a resolução completa tinham uma história de doença mais longa, mais ciclos anteriores de terapia com bisfosfonatos, e foram submetidos à cirurgias maiores.

Agrillo et al. (2007) realizaram um estudo com 33 pacientes afetados pela osteonecrose que estavam sob tratamento com ozonioterapia para demonstrar como a extração dentária se torna possível nesses casos, afim de tranquilizar os especialistas. De acordo com o estudo, a cirurgia foi possível em todos os casos, após pelo menos um ciclo prévio de ozonioterapia.

Por Ripamonti et al. (2011) foi realizado um estudo prospectivo em 10 pacientes tratados com bisfosfonato para avaliar o efeito do tratamento e a tolerabilidade do óleo ozonizado sobre lesões MRONJ que falharam ao receber tratamento com antibioticoterapia. Foi frisada a importância do óleo ozonizado para o reparo tecidual, embora até o momento da publicação, tenha sido notada a falta de recomendações para o tratamento da osteonecrose. Todas as lesões de todos os pacientes foram completamente curadas, o que mostrou a eficácia e tolerabilidade do óleo. 70% obteve alta do tratamento com menos de 10 aplicações do óleo ozonizado. Nenhum paciente necessitou de terapias mais invasivas.

Em um estudo de Das, (2011) foi mostrado a vasta possibilidades de uso da ozonioterapia na odontologia. Ressalta que foi documentado que a extração dental se torna possível em um paciente com osteonecrose quando tratados com ozonioterapia, e que quando comparado com outras opções terapêuticas como antibióticos ou tratamento cirúrgico, o novo protocolo de tratamento recomenda o uso da ozonioterapia como suporte terapêutico no tratamento da osteonecrose.

Agrillo et al. (2012) desenvolveram uma pesquisa de 5 anos analisando 131 pacientes acometidos por osteonecrose associada a medicamentos e apresentaram um protocolo de tratamento utilizando antibiótico, juntamente com cirurgia minimamente invasiva e ozonioterapia. Foi ressaltado que, até então, embora a cirurgia fosse o tratamento mais utilizado, ela por si só não garantia chances de recuperação, motivo pelo qual o estudo com ozonioterapia foi realizado. Os autores obtiveram taxa de resolução em 90% dos casos.

Por Batinjan et al. (2014) foi relatado um caso de ozonioterapia preventiva em paciente do sexo masculino considerado de alto risco de osteorradionecrose. A ozonioterapia foi realizada antes, durante e após o procedimento de extração dentária. Foram observados os efeitos do ozônio na cicatrização e concluído que

há aceleração no metabolismo de reparo tecidual. Foi pontuada a falta de eficácia da oxigenoterapia hiperbárica.

Fliefel et al., (2015) realizaram uma revisão sistemática em 97 artigos com 4879 casos de MRONJ avaliando as diferentes abordagens para osteonecrose. Foram descritas as características principais da osteonecrose, bem como observada a duração média de tratamento com bisfosfonatos de aproximadamente 38, 2 meses para pacientes que vieram a desenvolverem a condição. 4 desses artigos tiveram a ozonioterapia como tratamento reunindo um total de 161 pacientes. 57,8% desses pacientes obtiveram resolução completa da osteonecrose.

Em um estudo de Bianco et al. (2019) foi avaliado clinicamente a capacidade regenerativa do óleo ozonizado em áreas ósseas expostas no tratamento de osteoradionecrose em 8 pacientes. 75% lesões foram resolvidas com 3 a 19 aplicações de ozônio.

FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS NO REPARO TECIDUAL

Em 2006, Choukroun et al. (2006) investigaram a aplicação da L-PRF. Todas as aplicações clínicas conhecidas de L-PRF destacam uma cicatrização acelerada do tecido devido ao desenvolvimento de neovascularização, fechamento acelerado da ferida com remodelação rápida do tecido cicatricial e ausência quase total de eventos infecciosos. Esta investigação inicial tornou possível o planejamento de várias aplicações futuras da L-PRF.

Rodrigues et al. (2015) fizeram uma revisão de literatura sobre fibrinas ricas em plaquetas na regeneração óssea. Nos 21 estudos analisados por eles, foi possível observar que a L-PRF parecia gerar uma rede de fibrina semelhante ao natural, desencadeando uma maior proliferação celular e regeneração

óssea além de se mostrar favorável para o desenvolvimento de uma matriz de cicatrização sem excessos inflamatórios.

Masaki et al. (2016) realizaram um estudo comparativo do conteúdo de fatores de crescimento de L-PRF e seus derivados. Foi demonstrado que os derivados de L-PRF contêm quantidades significativas de fatores de crescimento capazes de estimular a proliferação de células periosteais, sugerindo a existência de um reservatório para fornecer alguns fatores de crescimento no local de aplicação.

Em um estudo de 2017, Asaka et al. (2017) avaliaram a eficácia da L-PRF como um acelerador de cicatrização de feridas em pacientes usuários de bisfosfonatos que necessitaram de extrações dentárias. Um total de 102 pacientes foram divididos em grupo L-PRF e grupo controle. A epitelização precoce foi confirmada em todos os pacientes com PRF.

Zhang et al. (2018), avaliaram a eficácia clínica da L-PRF na preservação do rebordo alveolar após a extração dentária em 28 pacientes, que foram divididos em grupo experimental e controle. Foi observada uma melhor cicatrização do tecido gengival no grupo experimental em relação ao grupo controle, inclusive, nos resultados histológicos, o osso formado obteve melhor qualidade.

Por Pispero et al. (2019) foi relatado um caso de um paciente de 70 anos, em terapia com bisfosfonato durante 12 anos, que necessitava de extração dentária. Após a exodontia realizada sob cobertura antibiótica, a L-PRF foi colocada na ferida cirúrgica para fechar completamente o local e a reepitelização completa da ferida foi observada sem sinais de infecção.

Oliveira (2020), em seu estudo sobre caracterização morfológica e bioquímica da fibrina leucoplaquetária, salienta que o uso da L-PRF melhora a resposta de enxertos ósseos. Também é abordado o conceito de que o uso de membranas entre o tecido ósseo enxertado e os tecidos moles que recobrem o leito, impedem o trânsito celular, o que impede que células do tecido

mole migrem para o interior do enxerto e ocupem o espaço pretendido para neoformação óssea.

FIBRINA RICA EM PLAQUETAS E LEUCÓCITOS NA OSTEONECROSE

Em 2014, Kim et al. (2014) realizaram um estudo sobre a viabilidade da L-PRF ser utilizada no tratamento da BRONJ. Com um total de 34 paciente, em 26 (77%) foi observada a resolução completa, tendo como indicativos a ausência de osso exposto e ausência dolorosa dentro de 1 mês, em 6 (18%) a resolução se mostrou dentro de 4 meses, e em 2 (6%) a resolução atrasou mais de 4 meses.

Em um estudo de Young et al. (2016) foram analisados 7 pacientes: 3 com MRONJ e 4 com ORN. Todos os pacientes passaram pelo protocolo de L-PRF e foram submetidos a desbridamento piezoelétrico. A regeneração epitelial ou cobertura completa da mucosa foi observada em 5 pacientes, incompleta em 1 paciente, e 1 paciente não retornou.

Park et al. (2017) fizeram um estudo em 55 pacientes com MRONJ comparando o resultado de cura do uso combinado de proteína morfogenética-2 e L-PRF com o uso único de L-PRF. Após analisar os resultados foi concluído que o uso adicional de BMP-2 melhorou consideravelmente a cura da patologia.

Valerio et al. (2017) realizaram um estudo com uma mulher de 79 anos com história de câncer dos ovários que recebeu 14 doses de bevacizumab com lesões sugestivas de MRONJ. Foi realizada a cirurgia com L-PRF tendo cicatrização completa após 6 meses de recuperação.

Em uma série de casos de 10 pacientes, foi explorado por Bilimoria et al. (2018) o papel do L-PFR em conjunção com o debridamento piezoelétrico, como uma técnica minimamente invasiva no tratamento da necrose da mandíbula de lesões

sintomáticas. O objetivo era avaliar o efeito do piezodebridamento e L-PRF na cobertura mucosa e cicatrização dos tecidos moles em ORN e MRONJ. Das 12 lesões, 8 mostraram uma cobertura completa da mucosa no prazo de 1 ano, 3 persistiram e 1 paciente não retornou para acompanhamento.

León Batallas et al. (2018) descreveram um caso clínico sobre a utilização de L-PRF como agente de estimulação, aceleração da cicatrização dos tecidos e regeneração óssea na osteonecrose. 6 meses após procedimento cirúrgico, antibioticoterapia e posicionamento das membranas de L-PRF. Após a remissão da osteonecrose foi concluído que a utilização de L-PRF para regeneração dos tecidos garantiria a disponibilidade de fatores de crescimento e citocinas nas fases iniciais e críticas da cicatrização dos tecidos.

Por Giudice et al. (2018) foi realizado um estudo sobre a eficácia da fibrina rica em plaquetas após cirurgia óssea em comparação com a cirurgia isolada no tratamento da MRONJ com 47 pacientes. Os pacientes foram divididos em grupo de L-PRF e grupo controle. Os resultados sugeriram que a aplicação local de L-PRF após cirurgia óssea pode melhorar a qualidade de vida limitada ao seguimento a curto prazo e reduzir a dor e as infecções pós-operatórias.

Em 2020, Şahin et al. (2020) realizaram um estudo com 63 cirurgias dentoalveolares e avaliaram o uso da L-PRF na prevenção da MRONJ. A cicatrização completa da mucosa foi alcançada em todos os pacientes 1 mês após a cirurgia. Não foi observada qualquer falha no seguimento a longo prazo.

RELATO DE CASO

Usuária de bisfosfonatos (primeiramente utilizando o Ibandronato, seguido por Ácido Zoledrônico) por 4 anos, paciente do sexo feminino, 81 anos, apresentava necrose extensa em dois pontos de mandíbula, correspondente a região dos dentes 32, 33, 34 e 43, 44 e 45, além de bastante drenagem purulenta e dor na região.

Em exame tomográfico, apresentou alteração no padrão de trabeculado ósseo de forma generalizada em região de mandíbula (Figura 1). Foi observada a diminuição da porção medular e intensa corticalização da região. Foi constatada área hipodensa de limites imprecisos sugestiva de osteólise, em especial na região referente aos dentes 44 ao 41 e 32 ao 34 (Figura 2 e 3). Observou-se rompimento das corticais ósseas vestibular, lingual e de crista óssea, bem como a presença de imagens hiperdensas no interior da imagem hipodensa compatíveis com possíveis sequestros ósseos (Figura 4).

Após a confirmação do diagnóstico de osteonecrose de mandíbula, foram realizadas 8 sessões de ozonioterapia baseado na água ozonizada (8 mcg/ mL), o gás dentro da lesão (30 mcg/ mL), gás peri lesional (10 mcg / mL) foi injetado nas bordas da lesão, e foi feita a aplicação do óleo ozonizado (600 mEq/ Kg).

Durante a terceira sessão de ozonioterapia, foi observada juntamente com relato da paciente, a diminuição acentuada da drenagem purulenta e diminuição acentuada da dor. A partir da quinta sessão de ozonioterapia, foi observado o crescimento do tecido mucoso, porém com a presença do osso exposto necrótico. Após a oitava sessão de ozonioterapia, optou-se pela remoção cirúrgica da área necrótica e colocação de Stick Bone® (compósito de biomaterial particulado agregado em matriz de L-PRF), e L-PRF nas áreas cirúrgicas.

Em momento cirúrgico foram anestesiados os nervos alveolares inferiores, linguais e bucais bilateralmente (Figura 4). Foi realizada incisão para exposição de área necrótica (Figura 5), e posteriormente, foi realizada a remoção da área necrótica por meio da utilização de brocas até que ocorresse o sangramento do leito ósseo (Figura 6).

Logo em seguida, foi coletado o sangue da paciente, e em seguida centrifugado para a formação da fibrina rica em plaquetas e leucócitos e Stick Bone®. O Stick Bone® (Figura 7) e a L-PRF (Figura 8) foram colocados sobre a ferida e, logo após, foi realizada a sutura (Figura 9).

Foi feito acompanhamento de 7, 30 e 90 dias, sendo o último 4 meses após a realização do procedimento cirúrgico. Em último acompanhamento com paciente, foi relatada ausência de dor, de exsudato, de edema e sintomatologia de formigamento dos dois lados da mandíbula, porém diminuindo constantemente, indicando a continuidade da cicatrização (Figura 10).

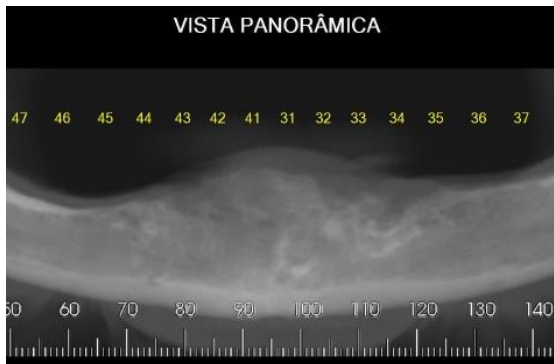


Figura 1: é possível perceber alteração no padrão de trabeculado ósseo de forma generalizada em região de mandíbula.

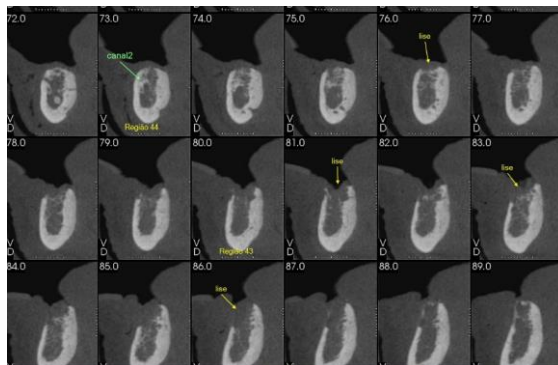


Figura 2: lado direito - área hipodensa de limites imprecisos sugestiva de osteólise em região do 44 ao 41.

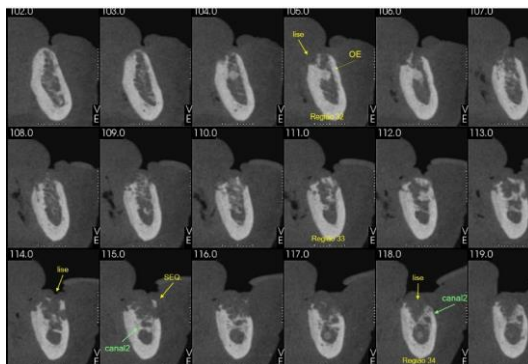


Figura 3: lado esquerdo - área hipodensa de limites imprecisos sugestiva de osteólise em região do 32 ao 34.

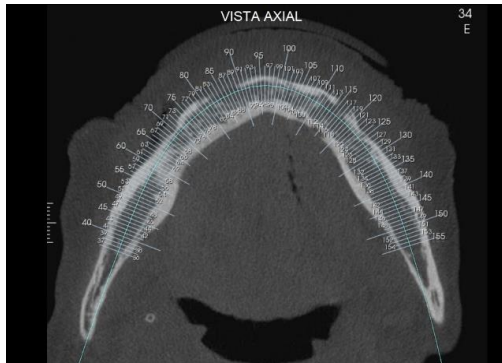


Figura 4: rompimento das corticais ósseas vestibular, lingual e de crista óssea e presença de imagens hiperdensas dispersas no interior da imagem hipodensa, compatíveis com possíveis sequestros ósseos.



Figura 5: Na área que era originalmente muito exposta, houve fechamento total do lado esquerdo pequena abertura do lado direito.



Figura 6: Osso necrótico ao centro da figura.



Figura 7: Remoção do osso necrótico e do osso avascular. Sangramento indicando vascularidade óssea.

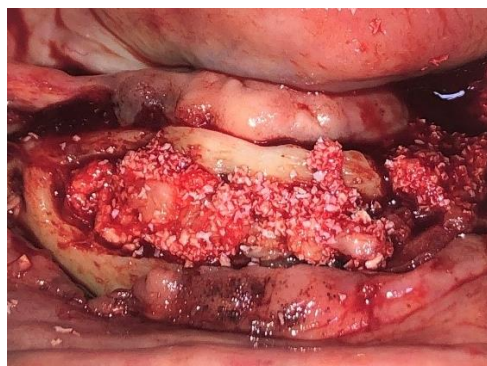


Figura 8: Stick Bone®

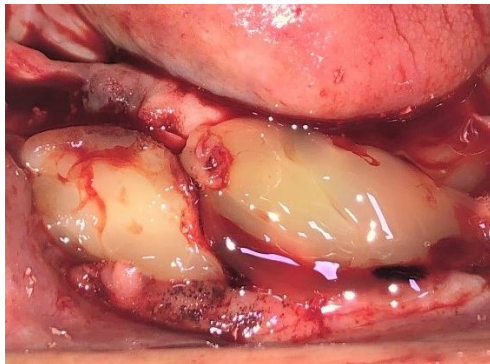


Figura 9: L-PRF.



Figura 10: Sutura.



Figura 11: 4 meses após a cirurgia, após a remoção do último sequestro ósseo.

DISCUSSÃO

Dentre os estudos observados nessa pesquisa, foi possível perceber uma taxa de sucesso nos casos resolvidos com a ozonioterapia variando de 57,8% a 90% no tratamento da osteonecrose de mandíbula^{1,2,13,34}. A maioria desses estudos apresentam uma eficiência na técnica de aproximadamente 74%. Estudos anteriores mostram que, apesar da taxa considerável na resolução dos casos utilizando a ozonioterapia, nem sempre essa técnica consegue, isoladamente, levá-los a obter completa resolução e fechar completamente as lesões da osteonecrose na mandíbula, o que encaminha estes casos à uma resolução cirúrgica. Por esse motivo, a associação das técnicas se torna mais eficaz. Em estudos anteriores, foi observado que, isoladamente, a utilização da L-PRF possui uma taxa de sucesso de 77% até 100%^{21,42} ao ser utilizada no momento cirúrgico com a função de aprimorar o reparo tecidual^{21,23,38-40}.

No que tange o relato de caso inserido neste estudo, a paciente possuía, no momento da cirurgia, 81 anos, ou seja, mais que a idade média (60 anos) e mesmo gênero (feminino) em que o maior índice de predisposição à osteonecroses é encontrado amplamente na literatura^{1,2,17,35}. Ainda no relato de caso, a osteonecrose se encontrava em mandíbula de forma bilateral, assim como é visto na maioria dos estudos observados nesta revisão de literatura^{1,2,17}. A paciente fez uso de bisfosfonatos por 4 anos, o que entra de acordo com a literatura que afirma que o risco de osteonecrose é maior quando o paciente é exposto à classe dos bisfosfonatos acima de 3 anos^{2,49}, além disso, o bisfosfonato utilizado foi o Ibandronato, seguido pelo Ácido Zoledrônico injetável, este segundo sendo conhecido na literatura como um dos principal causador da osteonecrose após o Pamidronato^{1,2,7,17}. A paciente relatou fazer o uso de prótese que afirmou machucar, o que pode ser observado como um motivo de traumatismo e, conseqüentemente, fator de risco para a

osteonecrose¹, além de afirmar ter feito extrações dentárias cerca de 6 a 8 meses antes das lesões começarem a aparecer. Em dados pesquisados, acredita-se que a recorrência da condição é maior em pacientes que apresentaram a osteonecrose espontaneamente do que pacientes que a apresentaram em decorrência de algum procedimento dentário^{3,4,21,50}.

Inicialmente, a lesão apresentava drenagem purulenta e sintomatologia dolorosa. Desta forma, o tratamento foi baseado no uso de antibióticos da mesma forma que é utilizado em tratamentos conservadores³⁴, bochechos de clorexidina¹, além de ser acrescentado o uso da ozonioterapia, que em baixa concentração se apresenta como bioestimuladora, enquanto em concentração um pouco mais alta apresenta ação antimicrobiana. De acordo com Khan, inflamação e infecção geralmente estão presentes em casos mais avançados de osteonecrose⁷.

A ozonioterapia foi selecionada como método alternativo de tratamento por possuir reconhecida ação de reparo tecidual^{10,11,13,27-31,33}. Foi aplicado óleo ozonizado sobre a lesão pois este é estudado por suas propriedades de estimulação e revascularização local e boa tolerabilidade^{17,37}. Após as sessões de ozonioterapia, houve regressão de sintomatologia dolorosa e de exsudato, porém não houve resolução completa da condição. São em casos mais complexos que se torna interessante a associação com a fibrina rica em plaquetas e leucócitos. A L-PRF é estudada na literatura por possuir alto potencial de reparo tecidual, além de ser autóloga, logo, biocompatível^{21,23,38-41}. Foi utilizado também, em relato de caso, o compósito biomaterial particulado agregado com L-PRF por estar, descrita em literatura, a sua melhor resposta quando associado à fibrina⁵¹.

Como resultado da associação das técnicas houve redução de dor e inflamação, efeito atribuído à ozonioterapia. Em adição, para a remoção do sequestro ósseo foi realizada a cirurgia e a L-PRF foi designada com a função de promover reparo tecidual

mais rápido e de maior qualidade, permitindo sucesso na resolução do quadro.

CONCLUSÃO

Pela revisão da literatura e pelo relato de caso clínico, podemos confirmar que os efeitos de ambas as técnicas empregadas foram eficazes na resolução da condição.

REFERÊNCIAS

1. Agrillo, A. *et al.* Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy. (2012).
2. Fliefel, R., Tröltzsch, M., Kühnisch, J., Ehrenfeld, M. & Otto, S. Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: A systematic review. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **44**, 568–585 (2015).
3. Ribeiro, G. H., Chrun, E. S., Dutra, K. L., Daniel, F. I. & Grando, L. J. Osteonecrosis of the jaws: a review and update in etiology and treatment. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology* vol. 84 102–108 (2018).
4. Maluf, G., Caldas, R. J., Fregnani, E. R. & da Silva Santos, P. S. A rare case of bevacizumab-related osteonecrosis of the jaw associated with dental implants. *Int. J. Implant Dent.* **5**, 4–9 (2019).
5. Valente, N. A., Chatelain, S., Alfonsi, F., Mortellaro, C. & Barone, A. Medication-related osteonecrosis of the jaw: The use of leukocyte-platelet-rich fibrin as an adjunct in the treatment. *J. Craniofac. Surg.* **30**, 1095–1101 (2019).
6. Batinjan, G., Filipović Zore, I., Vuletić, M. & Rupiće, I. *The use of ozone in the prevention of osteoradionecrosis of the jaw. Saudi Med J* vol. 35 www.smj.org.sa (2014).
7. Khan, A. A. *et al.* Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: A systematic review and international consensus. *J. Bone Miner. Res.* **30**, 3–23 (2015).
8. Travagli, V. *et al.* Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. *Int. J. Toxicol.* **29**, 165–174 (2010).
9. Ferreira, S., Mariano, R., Garcia Júnior, I. & Pellizzer, E. Ozônioterapia no controle da infecção em cirurgia oral. *Currículo Lattes* 36–38 (2013).
10. Borges, G. A. *et al.* In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *J. Cranio-Maxillo-Facial Surg.* 364–370 (2017).
11. Kim, H. S. *et al.* Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J. Korean Med. Sci.* **24**, 368–374 (2009).
12. Soares, C. D. *et al.* Effects of subcutaneous injection of

- ozone during wound healing in rats. *Growth Factors* **37**, 95–103 (2019).
13. Bulliés, J. C. Oxígeno-ozonoterapia como coadyuvante en el tratamiento de las infecciones óseas. *Rev. Cuba. Ortop Traumatol* 4–9 (2005).
 14. Akdeniz, S. S. *et al.* The effects of ozone application on genotoxic damage and wound healing in bisphosphonate-applied human gingival fibroblast cells. *Clin. Oral Investig.* **22**, 867–873 (2018).
 15. Sanguanini, R. C. *et al.* Ozonized solutions favor the repair of experimentally induced skin wounds in rats. *Pesqui. Vet. Bras.* **40**, 914–921 (2020).
 16. Pattanaik, B. *et al.* Ozone therapy in dentistry: A literature review. *J. Interdiscip. Dent.* **1**, 87 (2011).
 17. Ripamonti, C. I. Efficacy and safety of medical ozone (O₃) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I–II study. *Oral Oncol.* 185–190 (2011).
 18. Travagli, V., Zanardi, I., Valacchi, G. & Bocci, V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: A review. *Mediators Inflamm.* **2010**, (2010).
 19. Broadwater, W., Hoehn, R. & King, P. Sensitivity of Three Selected Bacterial Species to Ozone. *Am. Soc. Microbiol.* **26**, 391–393 (1973).
 20. Marx, R. E., Carlson, U. E. R., Eichstaedt, D. R. M., Steven, C. R. & Georgeff, K. R. ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY Platelet-rich plasma. (1998).
 21. Asaka, T. *et al.* Platelet-rich fibrin may reduce the risk of delayed recovery in tooth-extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a trial study. *Clin. Oral Investig.* **21**, 2165–2172 (2017).
 22. Giudice, A., Barone, S., Giudice, C., Bennardo, F. & Fortunato, L. Can platelet-rich fibrin improve healing after surgical treatment of medication-related osteonecrosis of the jaw? A pilot study. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **126**, 390–403 (2018).
 23. Rodrigues, G. *et al.* Fibrinas Ricas em Plaquetas, Uma Alternativa para Regeneração Tecidual: Revisão de Literatura. *J. Oral Investig.* **4**, 57–62 (2015).
 24. Dohan, D. M. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol.*

- Oral Radiol. Endodontology* **101**, (2006).
25. Dohan, D. M. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* **101**, (2006).
 26. Fan, Y., Perez, K. & Dym, H. Clinical Uses of Platelet-Rich Fibrin in Oral and Maxillofacial Surgery. *Dent. Clin. North Am.* (2020) doi:10.1016/j.cden.2019.12.012.
 27. Patel, P. V. aibha., Kumar, V., Kumar, S., Gd, V. & Patel, A. Therapeutic effect of topical ozonated oil on the epithelial healing of palatal wound sites: a planimetric and cytological study. *J. Investig. Clin. Dent.* **2**, 248–258 (2011).
 28. Kazancioglu, H. O., Ezirganli, S. & Aydin, M. S. Effects of laser and ozone therapies on bone healing in the calvarial defects. *J. Craniofac. Surg.* **24**, 2141–2146 (2013).
 29. Erdemci, F. *et al.* Histomorphometric evaluation of the effect of systemic and topical ozone on alveolar bone healing following tooth extraction in rats. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **43**, 777–783 (2014).
 30. Kan, B. *et al.* Histomorphometric and microtomographic evaluation of the effects of hyperbaric oxygen and systemic ozone, used alone and in combination, on calvarial defect healing in rats. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **73**, 1231.e1-1231.e10 (2015).
 31. Xiao, W. *et al.* Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci. Rep.* **37**, 1–11 (2017).
 32. Eroglu, Z. T. *et al.* Effect of topical ozonotherapy on gingival wound healing in pigs: Histological and immunohistochemical analysis. *J. Appl. Oral Sci.* **27**, 1–11 (2019).
 33. Anzolin, A., Da Silveira-Kaross, N. & Bertol, C. Ozonated oil in wound healing: What has already been proven? *Med. Gas Res.* **10**, 54–59 (2020).
 34. Petrucci, M. T., Gallucci, C., Agrillo, A., Mustazza, M. C. & Foà, R. Role of ozone therapy in the treatment of osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Haematologica* **92**, 1289–1290 (2007).
 35. Agrillo, A., Sassano, P., Rinna, C., Priore, P. & Iannetti, G. Ozone therapy in extractive surgery on patients treated with bisphosphonates. *J. Craniofac. Surg.* **18**, 1068–1070 (2007).
 36. Das, S. Applications of ozone therapy in dentistry. *INDIAN J. Dent. Adv.* **8**, 86 (2011).
 37. Bianco, E., Maddalone, M., Porcaro, G., Amosso, E. &

- Baldoni, M. Treatment of osteoradionecrosis of the jaw with ozone in the form of oil-based gel: 1-year follow-up. *J. Contemp. Dent. Pract.* **20**, 270–276 (2019).
38. Choukroun, J. *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endodontology* **101**, (2006).
39. Masuki, H. *et al.* Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int. J. Implant Dent.* **2**, (2016).
40. Zhang, Y. *et al.* Clinical effect of platelet-rich fibrin on the preservation of the alveolar ridge following tooth extraction. *Exp. Ther. Med.* **15**, 2277–2286 (2018).
41. Pispero, A., Bancora, I., Khalil, A., Scarnò, D. & Varoni, E. M. Use of platelet rich fibrin (PRF)-based autologous membranes for tooth extraction in patients under bisphosphonate therapy: A case report. *Biomedicines* **7**, (2019).
42. Kim, J. W., Kim, S. J. & Kim, M. R. Leucocyte-rich and platelet-rich fibrin for the treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A prospective feasibility study. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **52**, 854–859 (2014).
43. Young, H., Patel, D. & Kwok, J. Primary Wound Closure Using L-PRF in Patients With Mronj and Osteoradionecrosis - a Case Series. *J. Oral Maxillofac. Surg.* **74**, e35–e36 (2016).
44. Park, J. H., Kim, J. W. & Kim, S. J. Does the Addition of Bone Morphogenetic Protein 2 to Platelet-Rich Fibrin Improve Healing After Treatment for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw? *J. Oral Maxillofac. Surg.* **75**, 1176–1184 (2017).
45. Valerio, G. M. D., MOREIRA, G. S., DA COSTA, A. L. C. C., FREGNANI, E. & SANTOS, P. S. S. the Use of L-Prf (Leukocyte-Platelet-Rich Fibrin) in the Treatment of Mronj. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* **124**, e49 (2017).
46. Bilimoria, R., Young, H., Patel, D. & Kwok, J. The role of piezoelectric surgery and platelet-rich fibrin in treatment of ORN and MRONJ: a clinical case series. *Oral Surg.* **11**, 136–143 (2018).
47. León Batallas, J., Unda Jaramillo, P. & Ortiz Onofre, A. Caso Clínico: Aplicación de Fibrina Rica en Factores de

- Crecimiento en el Tratamiento de Osteonecrosis de los Maxilares por Bisfosfonatos. *OdontolInvestigación* **4**, (2018).
48. Şahin, O., Tatar, B., Ekmekcioğlu, C., Aliyev, T. & Odabaşı, O. Prevention of medication related osteonecrosis of the jaw after dentoalveolar surgery: An institution's experience. *J. Clin. Exp. Dent.* **12**, e771–e776 (2020).
 49. Enciso, R. *et al.* Assessing the utility of serum C-telopeptide cross-link of type 1 collagen as a predictor of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dental Association* vol. 147 551-560.e11 (2016).
 50. Ruggiero, S. *et al.* *Practical Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Osteonecrosis of the Jaw in Patients With Cancer.* www.jopasco.org (2006).
 51. Oliveira, L. A. de. Caracterização Morfológica e Bioquímica da Fibrina Leucoplaquetária Autóloga. *Perspectivas na Aplicação Clínica.* 221 (2020).

Anexos

NORMAS DA REVISTA

Journal of Craniofacial Surgery
Online Submission and Review System

SCOPE

The Journal of Craniofacial Surgery is a peer reviewed, multidisciplinary journal directed to an audience of craniofacial surgeons. The journal publishes original articles in the form of clinical and basic research, scientific advances, and selected abstracts from international journals.

Patient Photographic Authorization and Release /Legal Considerations: A submitted manuscript must be an original contribution not previously published (except as an abstract or preliminary report), must not be under consideration for publication elsewhere, and if accepted, it must not be published elsewhere in similar form, in any language, without the consent of Lippincott Williams & Wilkins. Each person listed as an author is expected to have participated in the study to a significant extent. Although the editors and referees make every effort to ensure the validity of published manuscripts, the final responsibility rests with the authors, not with the journal, its editors, or the publisher. All manuscripts must be submitted on-line through the journal's Web site at <http://scs.edmgr.com>. See submission instructions under "On-line manuscript submission."

The editorial office will acknowledge receipt of your manuscript and will give you a manuscript number for reference. Address all inquiries regarding manuscripts not yet accepted or published to the journal's editorial office.

Patient anonymity and informed consent: It is the author's responsibility to ensure that a patient's anonymity be carefully protected and to verify that any experimental investigation with human subjects reported in the manuscript was performed with informed consent and following all the guidelines for experimental investigation with human subjects required by the institution(s) with which all the authors are affiliated. Authors should mask patients' eyes and remove patients' names from figures unless they obtain written consent from the patients and submit written consent with the manuscript.

Conflict of Interest: Authors must state all possible conflicts of interest in the manuscript, including financial, consultant, institutional and other relationships that might lead to bias or a conflict of interest. If there is no conflict of interest, this should also be explicitly stated as none declared. All sources of funding should be acknowledged in the manuscript. All relevant conflicts of interest and sources of funding should be included on the title page of the manuscript with the heading "Conflicts of Interest and Source of Funding:" For example:

Conflicts of Interest and Source of Funding: A has received honoraria from Company Z. B is currently receiving a grant (#12345) from Organization Y, and is on the speaker's bureau for Organization X – the CME organizers for Company A. For the remaining authors none were declared.

Copyright

In addition, each author must complete and submit the journal's copyright transfer agreement, which includes a section on the disclosure of potential conflicts of interest based on the recommendations of the International Committee of Medical

Journal Editors, "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (www.icmje.org/update.html).

A copy of the form is made available to the submitting author within the Editorial Manager submission process. Co-authors will automatically receive an Email with instructions on completing the form upon submission.

Open access

LWW's hybrid open access option is offered to authors whose articles have been accepted for publication. With this choice, articles are made freely available online immediately upon publication. Authors may take advantage of the open access option at the point of acceptance to ensure that this choice has no influence on the peer review and acceptance process. These articles are subject to the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit. Authors of accepted peer-reviewed articles have the choice to pay a fee to allow perpetual unrestricted online access to their published article to readers globally, immediately upon publication. The article processing charge for the Journal of Craniofacial Surgery is \$2,000. The article processing charge for authors funded by the Research Councils UK (RCUK) is \$2,540. The publication fee is charged on acceptance of the article and should be paid within 30 days by credit card by the author, funding agency or institution. Payment must be received in full for the article to be published open access. Payment must be received in full for the article to be published open access. Any additional standard publication charges, such as for color images, will also apply.

Authors retain copyright

Authors retain their copyright for all articles they opt to publish open access. Authors grant LWW a license to publish the article and identify itself as the original publisher.

Creative Commons license

Articles opting for open access will be freely available to read, download and share from the time of publication. Articles are published under the terms of the Creative Commons License Attribution-NonCommercial No Derivative 3.0 which allows readers to disseminate and reuse the article, as well as share and reuse of the scientific material. It does not permit commercial exploitation or the creation of derivative works without specific permission. To view a copy of this license visit: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0>.

Compliance with NIH, RCUK, Wellcome Trust and other research funding agency accessibility requirements A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW identifies to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and transmits the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central. The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism. LWW ensures that authors can fully comply with the public access requirements of major funding bodies worldwide. Additionally, all authors who choose the open access option will have their final published article deposited into PubMed Central.

RCUK and Wellcome funded authors can choose to publish their paper as open access with the payment of an article process

charge (gold route), or opt for their accepted manuscript to be deposited (green route) into PMC with an embargo. With both the gold and green open access options, the author will continue to sign the Copyright Transfer Agreement (CTA) as it provides the mechanism for LWW to ensure that the author is fully compliant with the requirements. After signature of the CTA, the author will then sign a License to Publish where they will then own the copyright. Those authors who wish to publish their article via the gold route will be able to publish under the terms of the Attribution 3.0 (CCBY) License. To view a copy of this license visit: <http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/>. Those authors who wish to publish their article via the green route will be able to publish under the rights of the Attribution Non-commercial 3.0 (CCBYNC) license (<http://creativecommons.org/licenses/bync/2.0/>).

It is the responsibility of the author to inform the Editorial Office and/or LWW that they have RCUK funding. LWW will not be held responsible for retroactive deposits to PMC if the author has not completed the proper forms.

FAQ for open access

<http://links.lww.com/LWW-ES/A48>

Compliance with NIH and Other Research Funding Agency Accessibility Requirements

A number of research funding agencies now require or request authors to submit the post-print (the article after peer review and acceptance but not the final published article) to a repository that is accessible online by all without charge. As a service to our authors, LWW will identify to the National Library of Medicine (NLM) articles that require deposit and will transmit the post-print of an article based on research funded in whole or in part by the National Institutes of Health, Wellcome Trust, Howard Hughes Medical Institute, or other funding agencies to PubMed Central.

The revised Copyright Transfer Agreement provides the mechanism.

Permissions: Authors must submit written permission from the copyright owner (usually the publisher) to use direct quotations, tables, or illustrations that have appeared in copyrighted form elsewhere, along with complete details about the source.

Manuscript Submission

On-line manuscript submission: All manuscripts must be submitted on-line through the new Web site: <http://scs.edmgr.com>. First-time users: Please click the Register button from the menu and enter the requested information. On successful registration, you will be sent an e-mail indicating your user name and password. Print a copy of this information for future reference. Note: If you have received an e-mail from us with an assigned user ID and password, or if you are a repeat user, do not register again. Just log in. Once you have an assigned ID and password, you do not have to re-register, even if your status changes (that is, author, reviewer, or editor). Authors: Please click the log-in button from the menu at the top of the page and log into the system as an Author. Submit your manuscript according to the author instructions. You will be able to track the progress of your manuscript through the system. If you experience any problems, please contact the editorial office.

Preparation of Manuscript

Manuscripts that do not adhere to the following instructions will be returned to the corresponding author for technical revision before undergoing peer review.

Title page: Include on the title page (a) complete manuscript title; (b) authors' full names, highest academic degrees, and affiliations; (c) name and address for correspondence, including

fax number, telephone number, and e-mail address; (d) address for reprints if different from that of corresponding author; and (e) sources of support that require acknowledgment.

The title page must also include disclosure of funding received for this work from any of the following organizations: National Institutes of Health (NIH); Wellcome Trust; Howard Hughes Medical Institute (HHMI); and other(s).

Unstructured abstract and key words: Limit the abstract to 250 words. It must be factual and comprehensive. Limit the use of abbreviations and acronyms, and avoid general statements (eg, "the significance of the results is discussed"). List three to five key words or phrases.

Text: Organize the manuscript into four main headings: Introduction, Materials and Methods, Results, and Discussion. Define abbreviations at first mention in text and in each table and figure. If a brand name is cited, supply the manufacturer's name and address (city and state/country). Acknowledge all forms of support, including pharmaceutical and industry support, in an Acknowledgments paragraph.

Abbreviations: For a list of standard abbreviations, consult the Council of Biology Editors Style Guide (available from the Council of Science Editors, 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814) or other standard sources. Write out the full term for each abbreviation at its first use unless it is a standard unit of measure.

References: The authors are responsible for the accuracy of the references. Numerically cite the references in the text in the order of appearance. Key the references (double-spaced) at the end of the manuscript in the order they appeared in the manuscript, not alphabetically. Cite unpublished data, such as papers submitted

but not yet accepted for publication or personal communications, in parentheses in the text. If there are more than three authors, name only the first three authors and then use et al. Refer to the List of Journals Indexed in Index Medicus for abbreviations of journal names, or access the list at <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>. Sample references are given below:

Journal article

1. Farkas LG, Tompson B, Phillips JH, et al. Comparison of anthropometric and cephalometric measurements of the adult face. *J Craniofacial Surg* 1999;10:18-25

Book chapter

2. Todd VR. Visual information analysis: frame of reference for visual perception. In: Kramer P, Hinojosa J. eds. *Frames of Reference for Pediatric Occupational Therapy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999:205-256

Entire book

3. Kellman RM, Marentette LJ. *Atlas of Craniomaxillofacial Fixation*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 1999

Software

4. Epi Info [computer program]. Version 6. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 1994

Online journals

5. Friedman SA. Preeclampsia: a review of the role of prostaglandins. *Obstet Gynecol* [serial online]. January 1988;71:22-37. Available from: BRS Information Technologies, McLean, VA. Accessed December 15, 1990

Database

6. CANCERNET-PDQ [database online]. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1996. Updated March 29, 1996

World Wide Web

7. Gostin LO. Drug use and HIV/AIDS [JAMA HIV/AIDS web site]. June 1, 1996. Available at: <http://www.amaassn.org/special/hiv/ethics>. Accessed June 26, 1997

Figures:

A) Creating Digital Artwork

Learn about the publication requirements for Digital Artwork: <http://links.lww.com/ES/A42>

Create, Scan and Save your artwork and compare your final figure to the Digital Artwork Guideline Checklist (below). Upload each figure to Editorial Manager in conjunction with your manuscript text and tables.

B) Digital Artwork Guideline Checklist

Here are the basics to have in place before submitting your digital artwork:

Artwork should be saved as TIFF, EPS, or MS Office (DOC, PPT, XLS) files. High resolution PDF files are also acceptable.

Crop out any white or black space surrounding the image.

Diagrams, drawings, graphs, and other line art must be vector or saved at a resolution of at least 1200 dpi. If created in an MS Office program, send the native (DOC, PPT, XLS) file.

Photographs, radiographs and other halftone images must be saved at a resolution of at least 300 dpi.

Photographs and radiographs with text must be saved as postscript or at a resolution of at least 600 dpi.

Each figure must be saved and submitted as a separate file.

Figures should not be embedded in the manuscript text file.

Remember:

Cite figures consecutively in your manuscript.

Number figures in the figure legend in the order in which they are discussed.

Upload figures consecutively to the Editorial Manager web site and enter figure numbers consecutively in the Description field when uploading the files.

Photographs of recognizable persons should be accompanied by a signed release from the patient or legal guardian authorizing publication. Masking eyes to hide identity is not sufficient.

Figure legends: Legends must be submitted for all figures. They should be brief and specific, and they should appear on a separate manuscript page after the references. Use scale markers in the image for electron micrographs and indicate the type of stain used.

Color figures: The journal accepts for publication color figures that will enhance an article. Authors who submit color figures will receive an estimate of the cost for color reproduction. If they decide not to pay for color reproductions, they can request that the figures be converted to black and white at no charge.

Tables: Cite tables consecutively in the text and number them in that order. Key each on a separate sheet, and include the table title, appropriate column heads, and explanatory legends (including definitions of any abbreviations used). Do not embed tables within the body of the manuscript. They should be self-explanatory and should supplement, rather than duplicate, the material in the text.

Style: Pattern manuscript style after the American Medical Association Manual of Style (9th edition). Stedman's Medical

Dictionary (27th edition) and Merriam Webster's Collegiate Dictionary (10th edition) should be used as standard references. Refer to drugs and therapeutic agents by their accepted generic or chemical names, and do not abbreviate them. Use code numbers only when a generic name is not yet available. In that case, supply the chemical name and a figure giving the chemical structure of the drug. Capitalize the tradenames of drugs and place them in parentheses after the generic names. To comply with trademark law, include the name and location (city and state in USA; city and country outside USA) of the manufacturer of any drug, supply, or equipment mentioned in the manuscript. Use the metric system to express units of measure and degrees Celsius to express temperatures, and use SI units rather than conventional units.

Supplemental Digital Content: Authors may submit supplemental digital content to enhance their article's text and to be considered for online-only posting. Supplemental digital content may include the following types of content: text documents, graphs, tables, figures, graphics, illustrations, audio, and video. Cite all supplemental digital content consecutively in the text. Citations should include the type of material submitted, should be clearly labeled as "Supplemental Digital Content," should include a sequential number, and should provide a brief description of the supplemental content. Provide a legend of supplemental digital content at the end of the text. List each legend in the order in which the material is cited in the text. The legends must be numbered to match the citations from the text. Include a title and a brief summary of the content. For audio and video files, also include the author name, videographer, participants, length (minutes), and size (MB). Authors should mask patients' eyes and remove patients' names from supplemental digital content unless they obtain written consent from the patients and submit written consent with the manuscript. Copyright and Permission forms for

article content including supplemental digital content must be completed at the time of submission.

Supplemental Digital Content Size & File Type Requirements: To ensure a quality experience for those viewing supplemental digital content, it is suggested that authors submit supplemental digital files no larger than 10 MB each. Documents, graphs, and tables may be presented in any format. Figures, graphics, and illustrations should be submitted with the following file extensions: .tif, .eps, .ppt, .jpg, .pdf, .gif. Audio files should be submitted with the following file extensions: .mp3, .wma. Video files should be submitted with the following file extensions: .wmv, .mov, .qt, .mpg, .mpeg, .mp4, .wav. Video files should also be formatted with a 320 X 240 pixel minimum screen size. For more information, please review LWW's requirements for submitting supplemental digital content: <http://links.lww.com/A142>.

After Acceptance

Page proofs and corrections: Corresponding authors will receive page proofs to check the copyedited and typeset article before publication. It is the author's responsibility to ensure that there are no errors in the proofs. Changes that have been made to make the article conform to journal style should be allowed to stand if they do not alter the authors' meaning. Authors may be charged for alterations to the proofs beyond those required to correct errors or to answer queries. Proofs must be checked carefully and returned within 24 to 48 hours of receipt, as requested in the cover letter accompanying the page proofs, otherwise, publication may continue on the assumption that the article is approved without alterations.

Reprints: Authors will receive a reprint order form and a price list with the page proofs. Reprint requests should be faxed with the

corrected proofs, if possible. Reprints are normally shipped 6 to 8 weeks after publication of the issue in which the item appears. Contact the Reprint Department, Lippincott Williams & Wilkins, 351 W. Camden Street, Baltimore, MD 21201; Fax: 410.528.4434; E-mail: reprints@lww.com with any questions.

Publisher's contact: Fax corrected page proofs, reprint order form, and any other related materials to 443-451-8134 (include your article reference number with the changes).