

EFEITO PROFILÁTICO DA ATORVASTATINA NA OSTEONECROSE DE MAXILARES INDUZIDA POR BISFOSFONATOS EM RATOS WISTAR.

Autor: Vanessa Costa Sousa¹; Orientador: Paula Goes Pinheiro Dutra²

¹ Departamento de Morfologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfológicas, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil. vancostasousa@gmail.com.

² Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil. paulagpinheiro@yahoo.com.br.

Resumo do artigo: Introdução: Os bisfosfonatos (BFs) são fármacos utilizados no tratamento de doenças do metabolismo ósseo e câncer, pois atuam sobre as células ósseas inibindo a remodelação e o turnover ósseo. A osteonecrose dos maxilares (OMB) tem sido relacionada como o principal efeito adverso desse fármaco. A Atorvastatina (ATV), um hipolipemiante, se destaca por apresentar efeitos pleiotrópicos como por exemplo uma importante capacidade anabólica óssea. Objetivo: Avaliar o efeito profilático da ATV na OMB em ratos. Metodologia: 54 animais foram divididos em 03 grupos experimentais: Salina (SAL) que recebeu 0,1 ml de SAL a 0,9% 3x/sem 9 semanas; Controle, que recebeu 0,1 mg/kg de Ácido Zoledrônico (AZ), i.p. 3x/sem. por 09 semanas; ATV, que foram submetidos a OMB e receberam 27 mg/kg – v.o. de ATV diariamente por 03 semanas (D21-D42). No 42o dia (D42) após o início do experimento todos os animais foram submetidos a exodontia dos 3 molares do lado esquerdo. Estes animais foram acompanhados diariamente e sacrificados no D77. Após eutanásia, as maxilas foram removidas, para análises macroscópica e histológica. Foram coletadas amostras sanguíneas para dosagens bioquímicas, e tecido gengival para dosagem de citocinas. Resultado: O grupo tratado com ATV apresentou redução da solução de continuidade, melhor padrão de cicatrização tecidual, menor grau de osteonecrose, maior número de osteócitos viáveis e formação óssea trabecular quando comparado a SAL. Foi observado redução das concentrações séricas de Cálcio e aumento dos níveis de fosfatase alcalina óssea (FAO). O tratamento com ATV reduziu a concentração de IL-1 β no tecido gengival dos animais. Conclusão: A ATV promoveu proteção ao tecido ósseo, manteve os níveis de FAO, e modulou a resposta inflamatória na OMB, assim sugere-se que a ATV pode ser uma importante ferramenta farmacológica a ser ensaiada clinicamente como adjuvante à terapia da OMB.

Palavras-chave: Osteonecrose dos Maxilares, Bisfosfonatos, Atorvastatina.

INTRODUÇÃO

Os bisfosfonatos (BFs) são medicamentos utilizados no tratamento de diferentes tipos de cânceres, doenças ósseas e osteoporoses graves. (MIGLIORATI, et al., 2005; PAZIANAS et al., 2007; SCHWARTZ et al., 2008). Estes compostos são sintetizados e utilizados na indústria farmacêutica desde o século XIX, contudo, apenas na década de 1960 passaram a ser aplicados clinicamente (McLEOD et al., 2011).

Esses fármacos reduzem a reabsorção óssea, de maneira dose-dependente, ao inibirem o recrutamento e ao promoverem a apoptose dos osteoclastos (RANG H.P. et al, 2004; GEGLER et al, 2005; McLEOD; BRENNAN; RUGGIERO, 2011). Inibição semelhante ocorre sobre as células endoteliais, sendo observado decréscimo da proliferação e aumento da taxa de apoptose e diminuição da formação de capilares com consequente redução do número de vasos sanguíneos (FOURNIER et al, 2002).

Os mecanismos pelos quais os BFs induzem necrose óssea não são bem definidos. É considerado que os BFs reduzem o processo de remodelação óssea, por meio da inibição de osteoclastos, levando a áreas de necrose óssea (MOZZATI, M. et al, 2012). Outra hipótese é a redução da vascularização óssea, por meio de alterações promovida pelo Fator de Crescimento Endotelial Vascular(VEGF) e pelo Fator de Crescimento Plaquetário (SANTINI, D. et al, 2003; FURNIER, P. et al, 2002). Além de sua ação tóxica, agindo diretamente sobre a mucosa oral, que degradada, permite a passagem de patógenos que podem promover uma infecção no tecido ósseo e consequentemente necrose óssea (MOZZATI, M. et al, 2012).

Os BFs apresentam efeitos anti-angiogênicos, ao inibir o crescimento endotelial vascular e reduzindo a formação de capilares, promovendo necrose avascular, que é considerado um dos mecanismos iniciais da osteonecrose em maxilares, e bloqueio da síntese óssea e regeneração óssea (FOURNIER, P. et al, 2002; MOZZATI, M. et al, 2012). Os BFs podem promover aumento da expressão de RANKL (OHE, J.W. et al, 2012; KOCH, F.P. et al, 2012). Na Osteonecrose induzida por Bisfosfonatos (OMB) ocorre um aumento da proporção de RANKL sobre OPG induzindo a atividade e diferenciação dos osteoclastos e agindo sobre fatores inflamatórios, que estimula a liberação local de citocinas pró-inflamatórias, como IL -1 β , que apresenta ação osteoclastogênica e é um importante mediador na reabsorção óssea (MOZZATI, M. et al, 2012; YAMAGUCHI et al. 2000).

OBJETIVOS

Geral

Avaliar o efeito profilático da ATV na OMB em ratos.

Específicos

- Avaliar o aspecto macroscópico de cicatrização do tecido ósseo em ratos submetidos a OMB e recebendo ATV.
- Avaliar o aspecto histológico de cicatrização e de áreas necróticas, contagem osteócitos e lacunas vazias do tecido ósseo em ratos submetidos a OMB e recebendo ATV.
- Avaliar as dosagens de cálcio, fósforo e fosfatase alcalina óssea dos ratos submetidos a OMB e recebendo ATV.
- Avaliar a expressão de citocina inflamatória no tecido gengival de ratos submetidos a OMB e recebendo ATV.

MÉTODOS

Desenho do Estudo e Aspectos Éticos

Este será um estudo prospectivo, randomizado, controlado e cego, utilizando modelos animais. Os protocolos experimentais serão executados seguindo as recomendações apresentadas no ARRIVE (Animal Research: Reporting In Vivo Experiments) *guidelines* para uso de animais experimentais (KILKENNY et al., 2010). Os experimentos serão iniciados logo após aprovação no Comitê de Ética Animal da UFC, o qual é regido pela Declaração Universal de Direitos Animais (UNESCO – 27 de Janeiro 1978) e pelos *Guidelines* Éticos Internacionais para Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais (Conselho para Organizações Internacionais de Ciências Médicas – CIOMS).

Seleção dos animais

Serão utilizados 54 ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), com massa corpórea de aproximadamente 200 gramas. Esses animais serão procedentes do Biotério Central do *Campus* do Pici - UFC. Todos receberão ração comercial balanceada e água à vontade, e permanecerão nas mesmas condições ambientais de

ciclos claro/escuro de 12 horas e temperatura ambiente de 22 °C durante todo o experimento. Todos os esforços serão realizados no sentido de diminuir o número de animais e seu sofrimento, com base nas orientações para pesquisas com animais e apreciadas pelo comitê de pesquisa em animais institucional.

Protocolo experimental

Modelo de Osteonecrose Experimental

Para indução da Osteonecrose, os animais receberam dosagem de 0,1 mg/Kg de AZ (Ácido Zoledrônico) como sugerido por outros autores (Hikita et al., 2009; Huja et al., 2009, 2011; Barba-Recreo et al., 2014). A droga foi aplicada por via intraperitoneal (IP) três vezes por semana por 09 semanas em todos os grupos, exceto o grupo Salina que recebeu solução salina na mesma proporção, totalizando vinte e sete administrações de AZ ou SAL (0,1 mg/kg). A primeira administração do fármaco foi realizada ao início do experimento (dia experimental 0 – D0), após identificação e pesagem dos animais. Na semana 8 (49º dia experimental – D49), os animais foram submetidos à procedimento cirúrgico de exodontias dos molares superiores esquerdos (1º /2º /3º MSE) conforme protocolo estabelecido por MELO et al.,2014 e seguindo por nós para esse experimento.

Antes de iniciar as exodontias os animais foram anestesiados com cetamina; 75mg/kg e xilazina; 8mg/kg; por via intramuscular e realizada a sindesmotomia com sonda exploradora (GOLGRAN®), sendo a remoção do dente feita por luxação com uso de espátula Holleback 3S (GOLGRAN®) e para a extração do 1º MSE será utilizada a espátula Lecron-Zalle (GOLGRAN®) em movimento de alavanca, técnica adaptada de MAAHS et al. (2011).

Grupos Experimentais

Grupo Salina

- Os animais do grupo Controle receberam Solução Salina (0,1 mg/kg), três administrações semanais por nove semanas consecutivas administradas pela via intraperitoneal (IP) com seringa de insulina. Sendo submetidos a exodontia (D49) e acompanhados até a eutanásia (D77; n=18).

Grupo OMB

- O animais do grupo OMB receberam Ácido Zoledrônico (0,1 mg/kg), três administrações semanais por nove semanas consecutivas administradas pela via intraperitoneal (IP) com seringa de insulina. Sendo submetidos a exodontia (D49) e acompanhados até a eutanásia (D77; n=18).

Grupo ATV

- O animais do grupo ATV que foram submetidos a OMB e receberam que foram submetidos a OMB e receberam Atorvastatina (27 mg/kg) diariamente por 03 semanas consecutivas (D21-D42) administradas pela via oral (v.o) por gavagem sendo submetidos a exodontia (D49) e acompanhados até a eutanásia (D77; n=18).

Avaliação Macroscópica e Histológica

Previamente ao procedimento cirúrgico, após a anestesia, foi realizada oroscopia da cavidade oral do animal, com o objetivo de avaliar presença ou ausência de lesão na cavidade oral MAAHS et al. (2008).

No momento do sacrifício dos animais também foi realizada uma nova avaliação macroscópica da cavidade oral para avaliar presença ou ausência de lesões; presença ou ausência de solução de continuidade da mucosa oral nas regiões das exodontias, essa última com auxílio de uma sonda clínica número 5 (GOLGRAN®) (MAAHS et al, 2011).

Após análise histopatológica descritiva, as lâminas foram fotografadas em 10 (dez) campos microscópicos de grande aumento (400x) no local referente às extrações selecionadas aleatoriamente seguindo as seguintes regiões (região superior, região intermediária e região apical). O número de osteócitos e lacunas vazias forma contados com o auxílio do software Image J® (Wayne Rasband; <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, Services Research Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, E.U.A.). A soma do número de osteócitos e de lacunas vazias presentes nos dez campos analisados foram utilizados para a avaliação quantitativa e análise de correlação. O somatório dos campos de cada lâmina foi considerado como unidade amostral, e utilizaram-se os percentuais de lacunas de osteócitos.

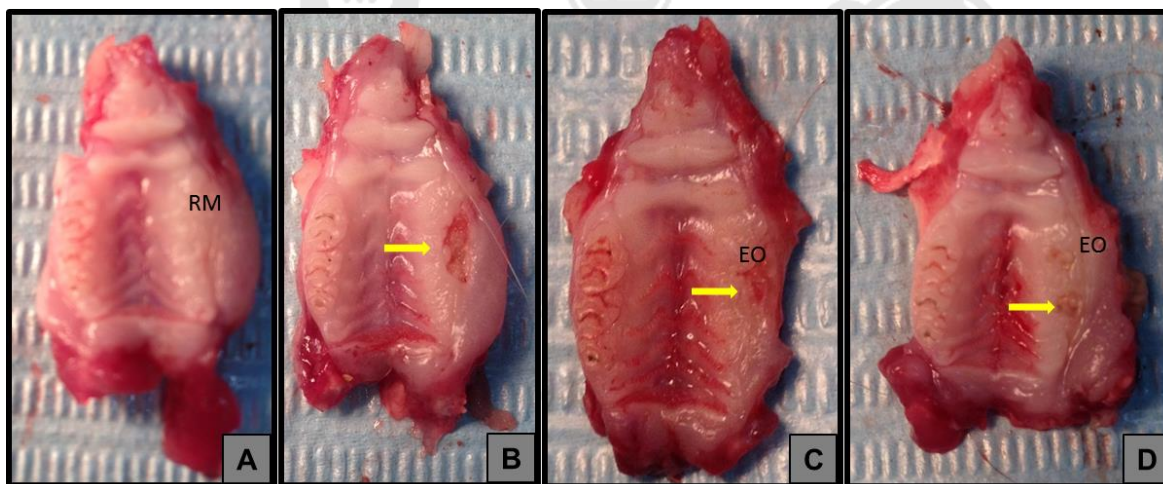
Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do software GraphPad Prism, versão 6.0. Os dados paramétricos serão apresentados como média \pm erro padrão da média. Foi utilizado o teste de análise de variância ANOVA seguido pelo teste de comparações múltiplas de Bonferroni. Os dados não paramétricos foram apresentados com mediana + valores extremos. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de Dunn. Em todas as situações foi adotado o nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Após a eutanásia, todas as maxilas extraídas foram examinadas clinicamente para verificar a presença de exposição óssea nos locais de extração, formação de abscessos e fístulas e cicatrização óssea (Fig. 01).

Figura 01 – Imagens representativas da avaliação macroscópica da cavidade oral dos ratos tratados e não tratados após eutanásia.



Legenda: A – Naive, B – Controle, C – Pré – operatório e D – Pós – operatório. No grupo Salina (A) é possível verificar o completo recobrimento mucoso (RM). Os grupos Controle (B) e Tratado com ATV (C e D) apresentaram presença de tecido ósseo necrótico (seta amarela) durante a avaliação, com recobrimento mucoso parcial nos grupos tratados, com pequena área de exposição óssea (EO) e exposição óssea em toda a extensão do alvéolo no grupo controle.

Todos os animais (6/100%) do grupo Naive (A) apresentaram recobrimento da ferida cirúrgica. Todos os animais do grupo Controle

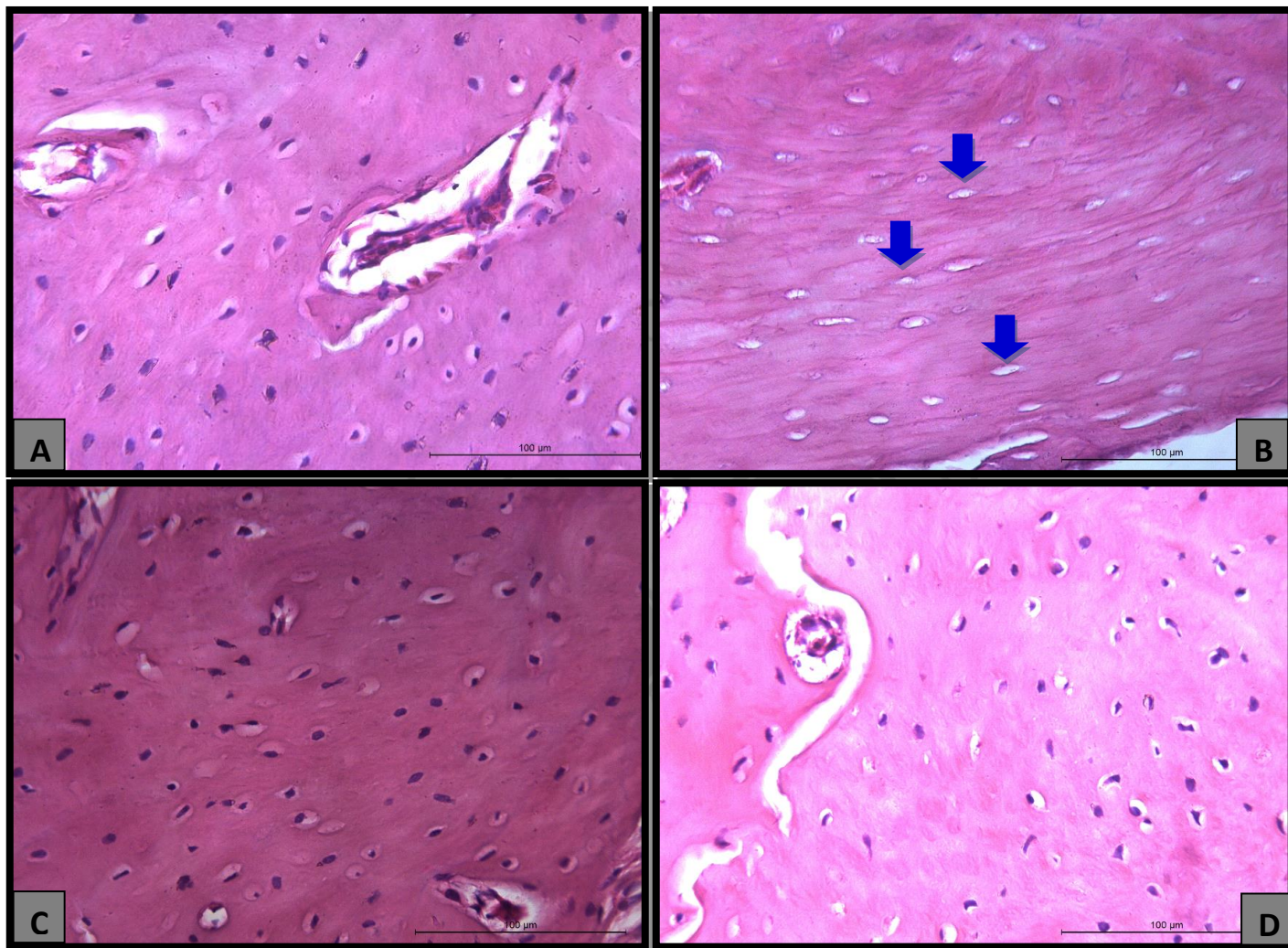
(6/100%) apresentaram exposição óssea com solução de continuidade da mucosa oral. Nos grupos tratados com ATV, 03 animais (75%) apresentaram recobrimento da mucosa oral com pequenas áreas de exposição óssea (Figura 01).

As Mandíbulas de 24 ratos sacrificados foram colhidas e seccionadas na linha média e fixadas em solução de formol a 10% e descalcificada com EDTA. Após a desidratação, todas as amostras foram processados para inclusão de parafina e 6 seções em série, 4mm, foram cortadas em um plano sagital ao longo do centro da extração e coradas com hematoxilina e eosina (H&E). Para cada amostra foi incluindo o comprimento máximo da região dos três molares superiores. Todas as seções foram avaliadas para a nova formação óssea no espaço de extração e presença de osso necrótico (área de osso com lacunas sem osteócitos) no osso alveolar circundante.

Os achados histológicos mais frequentes nas hemiarcadas com exodontia tanto no grupo controle quanto no pré e pós operatório foram o rompimento do tecido epitelial que pode indicar uma cicatrização da mucosa prejudicada.

Na região sobrejacente à extração de dentes, lacunas sem osteócitos (necrose) no osso alveolar que circundam o alvéolo e tecido de granulação com deterioração da nova formação óssea dentro da extração do dente. Em contraste, os achados histológicos mais comuns no grupo de tratado com ATV foram cicatrização epitelial melhorada, osteonecrose mínima com maior presença de osteócitos viáveis no osso alveolar e nova formação óssea trabecular (Fig. 02).

Figura 02 – Aspectos Histopatológicos do local das exodontias.



Legenda: Grupos A – Salina (tratado com solução salina), B – Controle – OMB (utilizado ácido zoledrônico), C e D – Tratado com atorvastatina. Hematoxilina-Eosina (200-400x). (A): Sítio de exodontia dos animais salina 21 dias após o procedimento cirúrgico exibindo tecido ósseo de elevada celularidade, preenchido por osteócitos (B): Sítio de exodontia dos animais submetidos à OMB, evidenciando osso desvitalizado, lacunas de osteócitos vazias (setas azuis) caracterizando necrose óssea (presença de lacunas osteocíticas vazias (os chamados osteoplastos); (C e D) Sítio de exodontia dos animais tratados com atorvastatina 27 mg/Kg e submetidos à OMB, mostrando osso revitalizado, com lacunas de osteócitos e raras lacunas vazias.

As áreas de osteonecrose identificadas ao exame histológico contemplavam fragmentos de osso não-vital, cujas lacunas de osteócitos estavam vazios – setas azuis (Figura 02B). A porção de osso não-vital era contígua ao osso vital subjacente (Figura 02).

O estudo histológico mostrou que nos animais não tratados com ácido zoledrônico e com exodontia, e nos animais tratados com ácido zoledrônico com exodontia, houve alteração do tecido ósseo. A figura 02 (A e B) mostra

um corte histológico com alteração tecidual entre os dois grupos (Salina (A) e Controle (B)). A figura 02 (C e D) mostra um corte histológico do processo de cicatrização após as exodontias com indução de OMB e prevenção com Atorvastatina.

O tratamento com ATV associado às infusões de ácido zoledrônico reduziu de maneira significativa o percentual de lacunas vazias de osteócitos em relação ao grupo controle que recebeu somente AZ [Controle ($50,18 \pm 6,25\%$); ATV pré - operatória 27 mg/kg ($45,55 \pm 5,59\%$), $p < 0,001$, 1-way-ANOVA/Bonferroni, Média \pm EPM)].

Os ensaios bioquímicos evidenciaram que a concentração plasmática de Cálcio aumentou no grupo controle, e diminuiu no grupo pré – operatório quando comparado com o baseline. A concentração plasmática de cálcio foi mantida após os experimentos nos grupos salina comparados ao início do experimento.

As concentrações de fósforo foram reduzidas no grupo controle e pré – operatório e se manteve no grupo salina. A atividade da fosfatase alcalina nas ratas controle e pré – operatória foi significativamente maior comparado ao início do experimento e no grupo salina foi mantida.

Os animais do grupo ATV pré - operatório apresentou redução significativa dos níveis gengivais de IL1 – β quando comparado ao grupo controle. O tratamento com ATV 27 mg/kg foi capaz de prevenir a formação de IL1 – β comparado ao Controle ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Atualmente, a fisiopatologia subjacente e os fatores de risco associados a OMB e os padrões de ouro para sua prevenção e tratamento não são claramente compreendidos. A maioria dos relatos da literaturas publicadas anteriormente tratam – se de revisão de literatura, relatos de casos e pesquisas retrospectivas. Embora algumas investigações da OMB tenham sido previamente realizadas em modelos animais, ainda se precisa estudar bastante sobre esse processo, pois os resultados ainda são iniciais e não conclusivos.

No presente estudo, de vários bisfosfonatos presente no mercado, o ácido zoledrônico foi escolhido para o desenvolvimento da OMB, porque esta droga é a de uso intravenoso mais potente sendo associada ao maior risco de OMB e amplamente utilizada no manejo de doenças ósseas (DODSON, 2009).

No presente estudo, corroborando com o encontrado por (BARBA-RECREO et al., 2014) que obteve 80% de OMB nos animais tratados com o protocolo utilizado (0,1 mg / kg de AZ). Verificou – se a presença de necrose óssea pela redução de osteócitos viáveis e aumento de lacunas de osteócitos vazias, que caracteriza a presença de matriz óssea em disfunção nos animais submetidos ao protocolo de OMB (grupo controle).

A verificação de que nenhum animal, salina, controle e ATV, exibiu lesão de mucosa oral previamente às exodontias respalda a ideia de que as lesões detectadas posteriormente estejam, de fato, associadas ao procedimento cirúrgico e ao uso dos bisfosfonatos, e não a outros fatores locais ou sistêmicos.

Como esperado, os animais salina que realizaram exodontias e não foram submetidos a administração de AZ, não desenvolveram OMB, com presença de osso celularizado e ausências de sinais de infecção, com baixo número de lacunas vazias. Em contrapartida, os animais controle, que receberam a administração de AZ e tiveram exodontias exibiram osso acelularizado, com presença de lacunas vazias de osteócitos e sinais sugestivos de infecção e necrose óssea.

O grupo OMB tratado com ATV apresentou osso celularizado, com menor quantidade de lacunas de osteócitos vazias quando comparado ao controle que apresentou osso pouco celularizado e lacunas de osteócitos vazias em maior quantidade configurando-se presença de OMB nesse grupo.

Uma forma de avaliar a remodelação óssea é através da mensuração dos marcadores bioquímicos da remodelação óssea. Os ensaios bioquímicos evidenciaram que a concentração plasmática de Cálcio aumentou no grupo controle e reduziu no grupo pré operatório quando comparado com ao baseline, já no grupo salina a concentração plasmática de cálcio manteve – se. Esse aumento de níveis séricos de cálcio no grupo controle, em que foi administrado somente AZ, pode ter sido ocasionado pela liberação de cálcio a partir do osso afetado pela OMB, já que nesse grupo a reabsorção óssea apresentou – se mais acentuada, com maior número de lacunas vazias de osteócitos, promovendo a disponibilização de cálcio e fósforo no sangue. Achados que corroboram com diversos estudos em que o uso do AZ aumenta níveis séricos de cálcio (KHAJURIA; RAZDAN; MAHAPATRA, 2014).

A FAO é considerada um marcador específico de formação óssea (KELES et al., 2005), trata-se de uma enzima produzida somente pelos osteoblastos sendo essencial para mineralização óssea (BREUR et al., 2004).

O aumento na sua expressão é observado após a administração de ATV (KAJINAMI et al., 2003; MAJIMA et al., 2007; GOES et al., 2016), confirmando, assim, nossos achados que nos grupos tratados com associação ATV e AZ apresentaram uma maior concentração da FAO.

É consenso que o AZ iniba o metabolismo ósseo e autores como Hokugo (2010) e seus colaboradores, sugerem que a inibição do turnover ósseo também esteja associada a aspectos inflamatórios, tendo a participação de linfócitos e macrófagos na produção de citocinas pró – inflamatórias como TNF – α e IL 1 β , dentre outras, que recrutam e ativam células inflamatórias adicionais (XING et al., 2005), essas informações, mostram que a homeostase óssea está diretamente relacionada com o processo inflamatório. Os animais do grupo Pré - operatório apresentou redução significativa dos níveis gengivais de IL1 – β quando comparado ao grupo controle. O tratamento com ATV 27 mg/kg foi capaz de prevenir a formação de TNF – α e IL1 – β comparado ao grupo Controle, sendo o IL1 – β significativo. Assim, esses achados sugerem que a ATV possui um importante papel na modulação da resposta inflamatória, além de mostrar seu efeito pleiotrópico relacionado a processos reabsortivos.

CONCLUSÃO

O grupo tratado com ATV apresentou redução da solução de continuidade, melhor padrão de cicatrização tecidual, menor grau de osteonecrose, maior número de osteócitos viáveis e formação óssea trabecular quando comparado a SAL. Foi observado redução das concentrações séricas de Cálcio e aumento dos níveis de fosfatase alcalina óssea (FAO). O tratamento com ATV reduziu a concentração de IL-1 β no tecido gengival dos animais.

A ATV promoveu proteção ao tecido ósseo, manteve os níveis de FAO, e modulou a resposta inflamatória na OMB, assim sugere-se que a ATV pode ser uma importante ferramenta farmacológica a ser ensaiada clinicamente como adjuvante à terapia da OMB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA-SCHARPLATZ M, et al. Cost-effectiveness analysis of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin from a Canadian health system perspective. **Clin. Ther.**, v. 30, n. 7, p. 1345-1357, 2008.

DALCICO R, et al. Mechanisms of simvastatin in experimental periodontal disease. **J Periodontol.** 2013 Aug;84(8):1145-57.

FOURNIER, P. et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated. **Cancer Res**, v. 62, n. 22, p. 6538-44, Nov 15 2002.

HSU SM, et al. Protein A, avidin, and biotin in immunohistochemistry. **J Histochem Cytochem** 1981;29:1349-53.

KESKINRUZGAR, A., BOZDAG,Z, ARAS, M.H., DEMIR, T., YOLCU, U., CETINER, S. Histopathological Effects of Teriparatide in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: An Animal Study. **American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons J Oral Maxillofac Surg** -:1-11, 2015

KOCH, F. P. et al. Influence of bisphosphonates on the osteoblast RANKL and OPG gene expression in. **Clin Oral Investig**, v. 16, n. 1, p. 79-86, Feb 2012.

MCLEOD, N. M. et al. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a literature review of UK policies. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 49, n. 5, p. 335-42, Jul 2011.

MIGLIORATI, C. A. et al. Managing the care of patients with bisphosphonate-associated osteonecrosis: an. **J Am Dent Assoc**, v. 136, n. 12, p. 1658-68, Dec 2005.

MOZZATI, M. et al. Oral mucosa produces cytokines and factors influencing osteoclast activity and. **Clin Oral Investig**, Aug 3 2012.

OHE, J. Y.; KWON, Y. D.; LEE, H. W. Bisphosphonates modulate the expression of OPG and M-CSF in hMSC-derived. **Clin Oral Investig**, v. 16, n. 4, p. 1153-9, Aug 2012.

SANTINI, D. et al. Zoledronic acid induces significant and long-lasting modifications of circulating. **Clin Cancer Res**, v. 9, n. 8, p. 2893-7, Aug 1 2003.

SILVA, P. G. B. et al. Effect of different doses of zoledronic acid in establishing of bisphosphonate-related osteonecrosis. **Archives of Oral Biology**, v. 60, p. 1237 – 1245, 2015.

YAMAGUCHI, K. et al. Involvement of interleukin-1 in the inflammatory actions of aminobisphosphonates. **Br J Pharmacol**, v. 130, n. 7, p. 1646-54, Aug 2000.