

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/06/2023.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Isabella Fernanda dos Santos

**Utilização de bisfosfonato e pentoxifilina na modulação óssea na periodontite
induzida. Estudo em ratos**

Araraquara

2021



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Isabella Fernanda dos Santos

Utilização de bisfosfonato e pentoxifilina na modulação óssea na periodontite induzida. Estudo em ratos

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na Área de Periodontia

Orientador: Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

Araraquara

2021

S237u	Santos, Isabella Fernanda dos Utilização de bisfosfonato e pentoxifilina na modulação óssea na periodontite induzida. Estudo em ratos / Isabella Fernanda dos Santos. -- Araraquara, 2021 67 f. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientadora: Rosemary Adriana Chierici Marcantonio 1. Periodontite. 2. Osteogênese. 3. Reabsorção óssea. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Isabella Fernanda dos Santos

Utilização de bisfosfonato e pentoxifilina na modulação óssea na periodontite induzida. Estudo em ratos

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Periodontia

Presidente e orientador Rosemary Adriana Chierici Marcantonio

2º Examinador Juliano de Almeida Milanezi

3º Examinador Karina Gonzales Silverio Ruiz

Araraquara, 23 de junho de 2021.

DADOS CURRICULARES

Isabella Fernanda dos Santos

NASCIMENTO: 06 de maio de 1996 – Porto Ferreira – SP

FILIAÇÃO: Leo Fernando dos Santos
Adriana Maris Peripato

2014-2018 Curso de Graduação em Odontologia – Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr/UNESP

2019-2021 Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Periodontia – Nível Mestrado - Faculdade de Odontologia de Araraquara – FOAr Universidade Estadual Paulista – UNESP.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Leo e Adriana, por todo o suporte dado até aqui. Aos meus avós José Valter e Elza (in memoriam). Obrigada por sempre acreditarem em mim e tenho certeza de que minha avó estaria muito feliz nesse momento.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Rosemary Adriana Chierici Marcantonio. Agradeço por todo o apoio nos piores e melhores momentos. Obrigada por ser essa mãezona para todos os orientados. Minha jornada como sua orientada começou em 2016 e termina aqui, mas sempre será lembrada com muito carinho e saudades. Meu eterno agradecimento por ter me ajudado a crescer tanto pessoal como profissionalmente, com certeza não sou a mesma Isabella de quando nos conhecemos e você tem grande parte nisso.

Ao meu namorado, Cassio. Sem ele não teria chegado até aqui. Obrigada por ser meu suporte em tudo. Todos os momentos que achei que não conseguiria você estava lá pra dizer que sim. Meu exemplo de ser humano e profissional.

Aos meus tios Andrea e Reinaldo, meu muito obrigada por todos os conselhos, acolhimento e carinho que sempre tiveram comigo.

À minha amiga Morgana, por sempre estar do meu lado mesmo que a distância.

Aos meus amigos que me acompanharam desde a graduação: Gabriela e Fernanda em especial. Obrigada por sempre estarem aqui por mim.

Aos meus amigos de pós-graduação. Fernanda que viveu tudo isso comigo, todas as noites no biotério operando ratos, todos os problemas que passamos, muito obrigada. Maria Eduarda, obrigada por todo apoio tanto pessoal quanto nessa dissertação. Camila, obrigada pela ajuda com os dados do trabalho e com tudo que precisei nesse caminho. Isis, que bom que deu tempo de te conhecer, obrigada por todo o carinho que sempre teve comigo.

Aos funcionários do departamento, especialmente Ana Claudia, Suleima e Isabela, agradeço por sempre terem sido tão solícitas.

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de sua Diretora, Prof. Dr., Edson Alves de Campos e do Vice-Diretor, Profa. Dra. Patricia Petromilli Nordi Sasso Garcia, responsável pela minha formação e pela estrutura oferecida para a realização dessa pesquisa.

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Periodontia, Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli, e a todos os docentes do Curso de Pós-Graduação do Programa de Periodontia, sempre dispostos a ensinar, pela disponibilidade e dedicação ao programa e aos seus alunos.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2018/24717-5) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Santos IF. Utilização de bisfosfonato e pentoxifilina na modulação óssea na periodontite induzida. Estudo em ratos [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

RESUMO

Este projeto teve como objetivo avaliar o processo de reparo ósseo periodontal utilizando pentoxifilina (50 mg/kg/dia) na prevenção e/ou tratamento da doença periodontal induzida. Este projeto foi dividido em 2 estudos: Estudo 1: avaliar os efeitos da pentoxifilina na interferência da progressão da doença periodontal induzida. Os animais foram divididos: Grupo controle - soro (C), Grupo pentoxifilina (PTX) e Grupo bisfosfonato (BIS). Os animais receberam durante 60 dias um dos medicamentos; após este período foi induzida a doença periodontal utilizando ligaduras na região de segundo molar. Neste momento a administração dos medicamentos foi interrompida. Após 15 dias os animais foram eutanasiados. Os resultados demonstraram na análise microtomográfica um resultado semelhante entre pentoxifilina e controle, na análise histométrica uma menor perda óssea no grupo PTX na região interproximal e a análise estereométrica apontou um maior grau de inflamação no grupo que recebeu pentoxifilina. Como conclusão tem-se que a pentoxifilina não teve efeito na perda óssea. Estudo 2: avaliar a pentoxifilina no tratamento da doença periodontal induzida. Os animais foram divididos em: Controle - soro (C); Grupo pentoxifilina (PTX); Grupo bisfosfonato (BIS). No momento de indução da doença periodontal com ligaduras os animais foram submetidos a administração de um dos medicamentos até o momento da eutanásia. Após 15 dias as ligaduras foram removidas. Neste momento, metade dos animais de cada grupo recebeu raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais (Controle - CR; Grupo pentoxifilina (PTX-R); Grupo bisfosfonato - BIS-R) e outra metade dos animais de cada grupo não recebeu nenhum tratamento (Controle - C; Grupo pentoxifilina (PTX); Grupo bisfosfonato - BIS). Após os períodos de 7, 15 e 30 dias os animais foram eutanasiados. Os animais dos grupos que receberam pentoxifilina apresentaram maior porcentagem de vasos sanguíneos, menor de tecido conjuntivo na análise estereométrica, e maior grau de inflamação no grupo BIS-R. As análises histométrica e microtomográfica demonstraram um resultado menos satisfatório nos períodos iniciais nos grupos que receberam raspagem, que após a partir do período 15 passaram a ter uma menor perda óssea. Foi possível concluir que os grupos PTX e PTXR apresentaram resultado positivo na formação óssea.

Palavras – chave: Periodontite. Osteogênese. Reabsorção óssea.

Santos IF. Use of bisphosphonates and pentoxifylline on induced periodontitis bone modulation. Study in rats. [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the process of periodontal bone repair when using pentoxifylline (50 mg/kg/day) on the prevention and/or treatment of induced periodontal disease. This project was separated in 2 studies: Study 1: to evaluate if pentoxifylline interfere on the progression of induced periodontal disease. Animals were divided in: Control Group – saline (C); Pentoxifylline Group (PTX) and Bisphosphonate Group (BIS). The animals received the medicines for 60 days; then periodontal disease was induced by ligatures on the second molar. In the moment the medicines administration was interrupted. After 15 days the animals were euthanized. The results demonstrated in the microtomographic analysis a similar result between pentoxifylline and control, in the histometric analysis less bone loss in the PTX group in the interproximal region was found and stereometric analysis showed a greater degree of inflammation in the group that received pentoxifylline. It was concluded that pentoxifylline had no effect on bone loss. Study 2: to evaluate if pentoxifylline interfere on the treatment of induced periodontal disease. Animals were divided in: Control Group – saline (C); Pentoxifylline Group (PTX) and Bisphosphonate Group (BIS). By the time the ligatures were made the animals started receiving the medicines until the moment they were euthanized. After 15 days the ligatures were removed. At this moments half of the animals received scaling and root planning with hand instruments (Control – CR, Pentoxifylline Group- PTX-R, and Bisphosphonate Group - BIS-R) and the other half of each group didn't receive any treatment (Control – CR, Pentoxifylline Group – PTX, and Bisphosphonate Group - BIS). After the periods 7, 15 and 30 days the animals were be euthanized. The animals in the groups that received pentoxifylline had a higher percentage of blood vessels, less of connective tissue in the stereometric analysis, and a higher degree of inflammation in the BIS-R group. Histometric and microtomographic analyzes showed a less satisfactory result in the initial periods in the groups that received scaling and root planning, which after the period of 15 days started to have less bone loss. It was possible to conclude that the PTX and PTXR groups had a positive result in bone formation.

Keywords: Periodontitis. Osteogenesis. Bone resorption.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 PROPOSIÇÃO	17
2.1 Objetivo Geral.....	17
2.2 Objetivos Específicos.....	17
3 PUBLICAÇÕES	18
3.1 Estudo 1.....	18
3.2 Estudo 2.....	32
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	47
5 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS.....	51
APÊNDICE A – MATERIAL E MÉTODOS	59
ANEXO A – CERTIFICADO DE COMITÊ DE ÉTICA.....	67

1 INTRODUÇÃO

Bactérias patogênicas que compõem o biofilme subgengival se proliferam na superfície radicular liberando peptídeos e antígenos que são difundidos através do epitélio para o tecido conjuntivo, resultando em uma resposta inflamatória crônica do hospedeiro^{1,2}. O desequilíbrio entre microbiota específica presente na superfície dentária supra e subgengival e hospedeiro promove a instauração da periodontite: doença inflamatória que acomete os tecidos de sustentação dos dentes¹⁻³.

As bactérias patogênicas promovem o início da inflamação do tecido conjuntivo sobre o periodonto, porém a resposta do hospedeiro é igualmente importante na degradação do tecido conjuntivo. Grande parte da destruição tecidual é causada por enzimas derivadas do hospedeiro, como metaloproteinases da matriz (MMPs), citocinas e prostanóides⁴. Sendo assim o equilíbrio entre mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios deve ser restaurado o mais rápido possível para que haja regressão da doença.

O tratamento da periodontite busca promover a redução da carga microbiana, através do tratamento periodontal não cirúrgico, que consiste na raspagem e alisamento radicular, tendo, portanto, uma ação local. Buscando melhorar os resultados do tratamento convencional novas estratégias terapêuticas coadjuvantes podem ser buscadas, como o uso de agentes que alterem a resposta do hospedeiro. Com esse intuito, uma redução do processo inflamatório desencadeado pelos periodontopatógenos^{1,2} pode ser uma alternativa através da administração de substâncias ou medicamentos, sistêmica ou localmente. Tais procedimentos poderiam, além de reduzir a resposta, impedir o processo de reabsorção e favorecer a neoformação óssea⁵. Dessa forma poderíamos agir em ambos os lados envolvidos da doença: biofilme, através do tratamento periodontal convencional, e hospedeiro, regulando sua resposta inflamatória.

Desta forma, tendo a doença periodontal um caráter multifatorial, sendo o desequilíbrio hospedeiro-microbiota fundamental para que haja doença, é oportuno avaliar se os medicamentos pentoxifilina e alendronato tem alguma influência na instalação e no tratamento da doença periodontal.

A pentoxifilina (3,7-dimetil-1-(5-oxohexil)-xantina) é um derivado da metilxantina, sendo um inibidor não seletivo da fosfodiesterase, que atua

modificando a flexibilidade eritrocitária (característica que permite o transito de eritrócitos até capilares menores, atingindo assim todas as regiões), a adesão e a agregação das plaquetas^{6,7}. Como resultado tem-se a redução da viscosidade sanguínea e dilatação dos vasos, diminuindo o fibrinogênio e deprimindo a função dos granulócitos. Além disso ela atua na inibição de leucócitos⁸, agindo na modulação da liberação de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-10 e IL-17)^{6,7,9-18}.

Esse medicamento tem sido amplamente utilizado como um agente para o tratamento de distúrbios vasculares cerebrais e de doenças arteriais oclusivas. Estudos mostraram que a pentoxifilina atua prevenindo ou atenuando a ação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)^{19,20} possivelmente por meio da inibição da transcrição do RNA mensageiro do TNF- α ²¹.

Estudo de Horiuchi et al.¹¹ onde ratos receberam injeção subcutânea de pentoxifilina previamente à instalação de uma esponja de colágeno contendo proteína morfogenética humana (BMP-2) apontou que a administração desse medicamento aumentou a neoformação óssea e a concentração de cálcio no tecido ósseo através da indução de BMP-2.

Em 2002 Tsutsumimoto et al.²² demonstraram por meio de cultura celular mesenquimal de ratos que a pentoxifilina aumenta o nível de BMP-4, por meio da via de sinalização do monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), uma vez que a inibição da fosfodiesterase resulta no aumento do cAMP intracelular⁷, induzindo dessa forma a diferenciação de células osteoprogenitoras.

No mesmo ano Kinoshita et al.²³ demonstraram em um estudo in vivo que injeções diárias de pentoxifilina estimularam a formação óssea e aumentaram a massa óssea em ratos. Além disso, associado ao efeito sobre o cAMP houve também o estímulo da produção de prostaglandinas não-inflamatórias das séries E e I (PGE₂, PGI₂) pelo endotélio vascular²⁴⁻²⁶.

Em 2004 Lima et al.²⁷ realizaram um estudo em que ratos foram divididos em grupos controle, pentoxifilina e talidomida. Foi realizada análise histológica baseada no influxo de células, integridade do cemento e quantidade de tecido ósseo. A pentoxifilina apresentou efeito protetivo na doença periodontal, com uma menor perda óssea alveolar diretamente proporcional ao aumento da dose do medicamento. Os autores sugerem que estes resultados podem ser devido a um

papel importante do TNF- α na patogênese da doença periodontal, uma vez que a pentoxifilina tem efeito sobre essa citocina e a mesma foi capaz de prevenir o infiltrado inflamatório e a perda óssea.

Queiroz-Junior et al.¹⁴., em 2013 realizam estudo com ratos machos que receberam indução de artrite reumatoide e foram tratados com injeções diárias de pentoxifilina (50 mg/kg) preventiva ou terapêutica. 14 dias após a indução da artrite os animais foram eutanasiados e foram realizadas análises microscópica e imuno-histoquímica. Os resultados obtidos demonstraram que a pentoxifilina promoveu efeitos anti-inflamatórios e protetivos ao osso quando usada de forma terapêutica ou preventiva com redução de TNF- α nos tecidos maxilares.

Em 2014 Labib, Farid²⁸ avaliaram in vitro e in vivo (coelhos) o uso de gel contendo pentoxifilina (1% ou 3%) ao redor de implantes. Os resultados in vitro demonstraram que, uma mistura de gel e pentoxifilina, apresentam liberação da droga durante 24hs, boa bioadesão e bom espalhamento. Na avaliação in vivo, foi observado uma diferença significativa na quantidade óssea quando foi usado o gel a 3%, além de apresentar osso mais organizado quando comparado ao grupo controle.

Atalay et al.²⁹, em 2015 apontaram um efeito benéfico na cicatrização óssea após fratura femoral em ratos ($p < 0,05$). Os animais foram divididos em grupos e eutanasiados nos períodos de 21 e 30 dias, para realização de análise histopatológica. Os resultados demonstraram aumento no volume ósseo e cartilaginoso no grupo que recebeu pentoxifilina (50 mg/kg/dia via injeção intraperitoneal) além de um maior nível de modulação óssea.

Revisão sistemática e meta-análise de Brie et al.³⁰, de 2016 com 15 estudos clínicos randomizados, onde a pentoxifilina era administrada por via oral (variando de 400 a 600mg/dia) com o objetivo de avaliar o impacto da pentoxifilina na pressão sanguínea, concentração de TNF- α plasmático, proteína C-reativa e de IL-6, demonstrou uma significativa redução dos níveis plasmáticos de TNF- α e proteína C-reativa.

Pal et al.³¹, em 2019 concluíram que a administração de pentoxifilina restaurou massa, força e propriedades minerais ósseas por meio de um mecanismo anabólico, sendo um medicamento com potencial osteogênico para tratamento da osteoporose.

No mesmo ano estudo de Farahani et al.³² concluiu que houve um efeito antirreabsortivo no grupo de animais que receberam pentoxifilina após fratura óssea.

O mesmo grupo em outro trabalho³³ em 2019 demonstrou reversão da osteopenia em ratas ovariectomizadas após a administração de pentoxifilina. Esse medicamento aumentou a expressão de fator de crescimento endotelial e seus receptores em ossos e osteoblastos e também do marcador de formação óssea PINP.

Em 2020 Gorji et al.³⁴ demonstraram melhora da reparação óssea em 60 ratos que tiveram fratura mandibular e recebiam administração de pentoxifilina. Os animais foram divididos em grupos de acordo com o medicamento que seria administrado (sildenafil, pentoxifilina ou placebo) e com o período em que seriam sacrificados (1 semana ou 4 semanas). A taxa de reparo ósseo no grupo que recebeu sildenafil ($p=0,001$) e no que recebeu pentoxifilina ($p=0,004$) foi significativamente maior do que o grupo controle no período de 4 semanas.

Os bisfosfonatos são uma classe de medicamentos moleculares semelhantes ao pirofosfato inorgânico, que tem sido utilizado em pacientes com osteoporose, por serem inibidores da mineralização óssea e por alterarem o metabolismo desse tecido³⁵⁻³⁸.

A administração desses medicamentos pode ser por via oral ou endovenosa. Bisfosfonatos administrados por via endovenosa, tem efeito mais potente devido a sua alta disponibilidade no organismo. Já os administrados por via oral, apresentam-se em baixa disponibilidade, devido a sua taxa de absorção e excreção e são usados no tratamento de pacientes com osteoporose^{39,40}. São substâncias resistentes a degradação biológica, uma vez que não sofrem hidrólise; tal fato se deve a presença de uma ligação de fósforo-carbono-fósforo (P-C-P), o que os diferencia do pirofosfato⁴¹⁻⁴³. O mecanismo de ação dos bisfosfonatos se dá pela inibição da reabsorção óssea feita pelas células osteoclásticas, através de quatro mecanismos: indução de apoptose^{44,45}, inibição do recrutamento para a superfície óssea⁴⁶, da adesão dessas células⁴⁷ e da atividade osteoclástica na superfície do osso^{48,49}. A inibição da reabsorção resulta na estabilização da perda óssea ocasionada por doenças metabólicas e aumento da densidade mineral⁵⁰. Devido a sua afinidade pelo cálcio (encontrado na hidroxiapatita) seu local de ação se dá na superfície óssea no processo de reabsorção⁵¹.

A ação sobre osteoclastos já é comprovada na literatura, porém vários estudos têm demonstrado a ação indireta dos bisfosfonatos em osteoblastos, impedindo o turnover ósseo ou neoformação óssea^{52,53}. Estudos demonstram outros efeitos dos bisfosfonatos, como: capacidade de alterar o mecanismo de anfigênese^{54,55} e diminuir os níveis de fator de crescimento endotelial (VEGF) quando usados de maneira crônica^{56,57}. Portanto, a diminuição da quantidade de osteoclastos pelos bisfosfonatos, altera indiretamente a vascularização óssea^{58,59}, de acordo com Schoutens et al.⁶⁰, o aumento da vascularização óssea é proporcional ao número de osteoclastos. Esses efeitos podem resultar em lesões ósseas necrosantes em pacientes que fazem uso destes medicamentos quando submetidos a alguns procedimentos odontológicos⁶¹⁻⁶⁴.

No ano de 1992 Brunsvold et al.⁶⁵, realizaram estudo em 27 macacos que receberam alendronato (0,05mg/kg ou 0,25mg/kg) ou placebo (solução salina) por via endovenosa a cada 2 semanas durante 4 meses. Uma semana após a primeira administração do medicamento os molares e pré-molares mandibulares direitos receberam uma ligadura de algodão para indução da doença periodontal e 2 semanas após todos os dentes com ligaduras receberam inoculação de *Porphyromonas gingivalis*. Esse processo foi repetido em 2 semanas. Medidas clínicas e radiográfica foram tomadas no início do experimento, 8 e 16 semanas do início do estudo. O alendronato na concentração de 0,05 mg/kg retardou a progressão da doença periodontal quando foram medidas mudanças na densidade óssea através de um programa de densitometria que usou radiografias periapicais. Esse medicamento em uma maior concentração não diferiu do grupo placebo.

O mesmo grupo⁶⁶ em 1994 avaliou o efeitos do alendronato na perda óssea causada pela doença periodontal também em macacos. Seguindo os mesmos materiais e métodos do estudo anterior realizaram análise histomorfométrica. Os resultados foram semelhantes ao estudo anterior: os animais que receberam alendronato com concentração de 0,05 mg/kg mostraram significativa redução na perda óssea induzida pela doença periodontal.

Em 1995 Reddy et al.⁶⁷ realizaram estudo em cães que desenvolviam doença periodontal naturalmente, os quais foram divididos em dois grupos dependendo da severidade da doença periodontal inicial. Um grupo recebeu 3 mg/kg de alendronato

semanalmente por via oral e o outro placebo. A doença periodontal foi agravada pela instalação de ligaduras durante 3 meses. Dados clínicos como nível de inserção, índice gengival, de placa e mobilidade foram avaliados no baseline e em intervalos de 1 mês. Além disso houve a realização de radiografias no baseline, 3 e 6 meses, por meio das quais foi realizado um cálculo de miligramas de osso equivalente (massa óssea). Os resultados apresentaram uma diferença na quantidade óssea ($p < 0,001$) entre os grupos, onde os animais que receberam alendronato apresentaram 14mg enquanto o grupo placebo -4mg. O uso de alendronato não trouxe diferença nos parâmetros de inflamação gengiva e de quantidade de placa bacteriana. Houve também uma tendência de menor perda de inserção e mobilidade no grupo teste.

Estudo de Rocha et al.⁶⁸ em 2004 avaliou o efeito de 6 meses de tratamento com alendronato (10 mg/dia) na doença periodontal em mulheres no período pós-menopausa. Todas as voluntárias receberam tratamento periodontal convencional e antes e após essa intervenção foram realizadas algumas análises como: avaliação clínica, medição da distância entre crista óssea e junção cimento-esmalte e densidade mineral óssea. Os resultados mostraram uma maior melhora da profundidade de sondagem e sangramento a sondagem no grupo que usavam alendronato além de melhora dos marcadores sistêmicos. Chegou-se à conclusão de que o uso de alendronato trouxe melhoras na doença periodontal e no turnover ósseo.

Em 2005 Lane et al.⁶⁹, realizaram estudo clínico com 66 pacientes que receberam bisfosfonato por via oral durante 12 meses. Todos receberam tratamento periodontal não-cirúrgico e acompanhamento a cada 3 meses. Os participantes tiveram alguns parâmetros clínicos analisados no baseline, 6 meses e 12 meses. Os resultados demonstraram melhora nos parâmetros periodontais analisados: nível de inserção clínica, profundidade de sondagem e sangramento a sondagem.

Sharma, Pradeep⁷⁰ em 2012 avaliaram a eficácia clínica de um gel de alendronato 1% como adjunto ao tratamento periodontal convencional. 17 pacientes com defeitos infra-ósseos receberam o gel ou placebo. Parâmetros clínicos foram avaliados no baseline, 2 meses e 6 meses além de radiografias realizadas nos primeiro e último tempos de acompanhamento. O ganho de inserção e a diminuição

da profundidade de sondagem foram maiores no grupo que recebeu o gel de alendronato, o que demonstrou que seu uso tópico estimulou uma melhora significativa do quadro de doença periodontal.

Estudo de Tanna, Jeffcoat⁷¹ em 2013 foi realizado com 125 pacientes com periodontite de moderada a severa que receberam tratamento periodontal e após 3 meses na manutenção foram divididos de forma aleatória em grupo teste (administração de risedronato) ou placebo. Após 9 meses do início do tratamento, foram realizadas avaliações clínicas finais. Os resultados demonstraram resultado mais favorável em relação a altura óssea no grupo teste ($p < 0,04$) e não foram encontrados efeitos adversos.

No ano de 2016 Bhavsar et al.⁷², avaliaram o efeito de um bisfosfonato como adjunto no tratamento da doença periodontal crônica em mulheres pós-menopausa. Foram realizadas radiografias periapicais, avaliação de parâmetros clínicos e medição da densidade óssea por meio de tomografia computadorizada de feixe cônico. Os resultados demonstraram uma melhora na densidade óssea (118.56 ± 3.251 HU), no ganho de inserção (3.57 ± 0.234 mm) e na diminuição da profundidade de sondagem (2.20 ± 0.229 mm). A melhora obtida nas pacientes desse estudo sugere que a terapia com bisfosfonato como adjunto ao tratamento periodontal básico pode trazer benefícios clínicos ao periodonto.

Em 2017 Akram et al.⁷³ realizaram uma revisão sistemática para avaliar a eficácia da terapia com bisfosfonato como adjuvante da raspagem e alisamento radicular (RAR) no tratamento da periodontite. Oito estudos clínicos foram incluídos na revisão, sete estudos utilizaram o alendronato como adjuvante da RAR. Destes, quatro estudos utilizaram aplicação tópica e três utilizaram alendronato oral. Os resultados da meta-análise demonstraram redução da doença periodontal estatisticamente significativa ($p = 0,002$), ganho de nível clínico de inserção ($p = 0,008$) e preenchimento do defeito ósseo ($p < 0,001$) para o tratamento com raspagem + bisfosfonato em comparação somente a raspagem.

Estudo de Messer et al.⁷⁴ em 2018 avaliou em ratos se a dose e duração do tratamento com bisfosfonato induz lesões de osteonecrose em periodontite induzida através de impactação alimentar. Foi observada ocorrência de osteonecrose nos

animais que fizeram uso de maiores doses do medicamento e não observaram correlação com a duração do tratamento.

Graziani et al.⁷⁵, em 2019 realizaram estudo clínico randomizado com 66 pacientes, os quais foram divididos em um grupo que recebeu raspagem e alisamento radicular + administração de bisfosfonato e outro que recebeu apenas o tratamento periodontal básico. Os pacientes passaram por exame periodontal no baseline, 3 meses e 6 meses após a primeira sessão de tratamento. Nos períodos analisados o uso de bisfosfonato não trouxe benefícios no reparo periodontal comparado a raspagem e alisamento radicular de forma isolada.

Embora a literatura demonstre que a pentoxifilina apresente efeito na modulação dos processos inflamatórios e de formação óssea, não existem evidências na utilização destes medicamentos na doença periodontal. Já o efeito dos bisfosfonatos ainda não está totalmente esclarecido. Baseado nisto, esse projeto busca avaliar, em animais, o processo de reparo ósseo periodontal utilizando estes medicamentos na prevenção e/ou tratamento da doença periodontal induzida.

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos no primeiro estudo foi possível observar um menor grau de perda óssea do grupo BIS e uma sutil ação do grupo PTX frente a indução de inflamação dos tecidos periodontais em ratos. Já no estudo 2 foi possível demonstrar uma tendência de efeito positivo da pentoxifilina no reparo periodontal após a remoção do fator local (ligadura). Novos estudos são necessários para observar a ação da pentoxifilina.

REFERÊNCIAS*

1. Preshaw PM, Taylor JJ. How has research into cytokine interactions and their role in driving immune responses impacted our understanding of periodontitis? *J Clin Periodontol*. 2011; 38 Suppl 11:60-84.
2. Gokhale SR, Padhye AM. Future prospects of systemic host modulatory agents in periodontal therapy. *Br Dent J*. 2013; 214(9):467-71.
3. Lindhe J, Lang N. Tratado de periodontologia clínica e implantologia oral. 4th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
4. Kantarci A, Hasturk H, Dyke TE. Host-mediated resolution of inflammation in periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2006; 40(1):144–63.
5. Gjoseva S, Geskovski N, Sazdovska SD, Popeski-Dimovski R, Petruševski G, Mladenovska K, et al. Design and biological response of doxycycline loaded chitosan microparticles for periodontal disease treatment. *Carbohydr Polym*. 2018; 186:260–72.
6. Abdel-Salam OME, Baiuomy AR, El-Shenawy SM, Arbid MS. The anti-inflammatory effects of the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline in the rat. *Pharmacol Res*. 2003; 47(4):331-40.
7. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. *Drugs*. 1987; 34(1):50–97.
8. Seiffge D, Bissinger T, Kremer E, Laux V, Schleyerbach R. Inhibitory effects of pentoxifylline on LPS-induced leukocyte adhesion and macromolecular extravasation in the microcirculation. *Inflamm Res*. 1995; 44(7):281–6.
9. van Furth AM, Verhard-Seijmonsbergen EM, van Furth R, Langermans JA. Effect of lisofylline and pentoxifylline on the bacterial-stimulated production of TNF-alpha, IL-1 beta IL-10 by human leucocytes. *Immunology*. 1997; 91(2):193–6.
10. Teng MS, Futran ND. Osteoradionecrosis of the mandible. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005; 13(4):217–21.
11. Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S, Tsutsumimoto T, Takaoka K. Enhancement of bone morphogenetic protein-2-induced new bone formation in mice by the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline. *Bone*. 2001; 28(3):290–4.
12. Fernandes JL, de Oliveira RTD, Mamoni RL, Coelho OR, Nicolau JC, Blotta MHS, et al. Pentoxifylline reduces pro-inflammatory and increases anti-inflammatory activity in patients with coronary artery disease- a randomized placebo-controlled study. *Atherosclerosis*. 2008; 196(1):434-442.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. Bombini G, Canetti C, Rocha FAC, Cunha FQ. Tumour necrosis factor- α mediates neutrophil migration to the knee synovial cavity during immune inflammation. *Eur J Pharmacol.* 2004; 496(1-3):197-204.
14. Queiroz-Junior CM, Bessoni RLC, Costa V V., Souza DG, Teixeira MM, Silva TA. Preventive and therapeutic anti-TNF- α therapy with pentoxifylline decreases arthritis and the associated periodontal co-morbidity in mice. *Life Sci.* 2013; 93(9–11):423–8.
15. Domínguez-Jiménez C, Sancho D, Nieto M, Montoya MC, Barreiro O, Sánchez-Madrid F, et al. Effect of pentoxifylline on polarization and migration of human leukocytes. *J Leukoc Biol.* 2002; 71(4):588-96.
16. Jacoby D, Mohler ER. Drug treatment of intermittent claudication. *Drugs.* 2004; 64(15):1657–70.
17. Zabel P, Schade FU, Schlaak M. Inhibition of endogenous TNF formation by pentoxifylline. *Immunobiology.* 1993; 187(3–5):447–63.
18. Schmidt-Choudhury A, Furuta GT, Lavigne JA, Galli SJ, Wershil BK. The regulation of tumor necrosis factor- α production in murine mast cells: pentoxifylline or dexamethasone inhibits IgE-dependent production of TNF- α by distinct mechanisms. *Cell Immunol.* 1996; 171(1):140–6.
19. Waage A, Sørensen M, Størdal B. Differential effect of oxpentifylline on tumour necrosis factor and interleukin-6 production. *Lancet.* 1990; 335(8688):543.
20. Strieter RM, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP, Larrick J, et al. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor- α production by pentoxifylline. *Biochem Biophys Res Commun.* 1988; 155(3):1230–6.
21. Han J, Thompson P, Beutler B. Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *J Exp Med.* 1990; 172(1):391–4.
22. Tsutsumimoto T, Wakabayashi S, Kinoshita T, Horiuchi H, Takaoka K. A phosphodiesterase inhibitor, pentoxifylline, enhances the bone morphogenetic protein-4 (BMP-4)-dependent differentiation of osteoprogenitor cells. *Bone.* 2002; 31(3):396–401.
23. Kinoshita T, Kobayashi S, Ebara S, Yoshimura Y, Horiuchi H, Tsutsumimoto T, et al. Phosphodiesterase inhibitors, pentoxifylline and rolipram, increase bone mass mainly by promoting bone formation in normal mice. *Bone.* 2000; 27(6):811–7.
24. Matzky R, Darius H, Schrör K. The release of prostacyclin (PGI₂) by pentoxifylline from human vascular tissue. *Arzneimittelforschung.* 1982; 32(10):1315–8.

25. Fahr A, Langer R, Sziegoleit W, Albert H, Liebal H, Mest HJ. Influence of pentoxifylline administered in vivo on the synthesis of PGI₂ in human varicose veins. *Biomed Biochim Acta*. 1988; 47(10-11):S238-40.
26. Görög P, Kovacs IB. Prostacyclin is a more potent stimulator of thrombolysis than inhibitor of haemostasis. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 1986; 16(5):337–45.
27. Lima V, Vidal FDP, Rocha FAC, Brito GAC, Ribeiro RA. Effects of tumor necrosis factor- α inhibitors pentoxifylline and thalidomide on alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. *J Periodontol*. 2004; 75(1):162–8.
28. Labib GS, Farid RM. Osteogenic effect of locally applied pentoxifylline gel: in vitro and in vivo evaluations. *Drug Deliv*. 2015; 22(8):1094–102.
29. Atalay Y, Gunes N, Guner MD, Akpolat V, Celik MS, Guner R. Pentoxifylline and electromagnetic field improved bone fracture healing in rats. *Drug Des Devel Ther*. 2015; 9:5195–201.
30. Brie D, Sahebkar A, Penson PE, Dinca M, Ursoniu S, Serban MC, et al. Effects of pentoxifylline on inflammatory markers and blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hypertens*. 2016; 34(12):2318-2329.
31. Pal S, Porwal K, Khanna K, Gautam MK, Malik MY, Rashid M, et al. Oral dosing of pentoxifylline, a pan-phosphodiesterase inhibitor restores bone mass and quality in osteopenic rabbits by an osteogenic mechanism: a comparative study with human parathyroid hormone. *Bone*. 2019; 123:28-38.
32. Vashghani Farahani MM, Farahani RM, Abdollahifar MA, Ghatresamani M, Ghoreishi SK, Hajihossainlou B, et al. Effects of pentoxifylline and alendronate on fracture healing in ovariectomy-induced osteoporosis in rats. *Vet Res Forum*. 2019; 10(2):93–100.
33. Pal S, Porwal K, Singh H, Malik MY, Rashid M, Kulkarni C, et al. Reversal of osteopenia in ovariectomized rats by pentoxifylline: evidence of osteogenic and osteo-angiogenic roles of the drug. *Calcif Tissue Int*. 2019; 105(3):294–307.
34. Gorji MM, Golestaneh A, Razavi SM. The effect of two phosphodiesterase inhibitors on bone healing in mandibular fractures (animal study in rats). *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2020; 46(4):258–65.
35. Neto NC, de Souza Bastos A, Chierici-Marcantonio RA, Marcantonio E. Is rheumatoid arthritis a risk factor for oral bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws? *Med Hypotheses*. 2011; 77(5):905–11.
36. Tella SH, Gallagher JC. Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014; 142:155–70.

37. Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer*. 2000; 88(12 Suppl):2961–78.
38. Tolia M, Zygogianni A, Kouvaris JR, Meristoudis C, Margari N, Karakitsos P, et al. The key role of bisphosphonates in the supportive care of cancer patients. *Anticancer Res*. 2014; 34(1):23–37.
39. Nase JB, Suzuki JB. Osteonecrosis of the jaw and oral bisphosphonate treatment. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137(8):1115–9.
40. Ponte Fernández N, Estefania Fresco R, Aguirre Urizar JM. Bisphosphonates and oral pathology I. General and preventive aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11(6):E456-61.
41. Choudhary S, Wadhwa S, Raisz LG, Alander C, Pilbeam CC. Extracellular calcium is a potent inducer of cyclo-oxygenase-2 in murine osteoblasts through an ERK signaling pathway. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(10):1813-24.
42. Russell RGG. Bisphosphonates: Mode of action and pharmacology. *Pediatrics*. 2007; 119 Suppl 2:S150-62.
43. Rogers MJ, Munoz MA. From vesicle to cytosol. *Elife*. 2018; 7: e38847.
44. Reszka AA, Halasy-Nagy JM, Masarachia PJ, Rodan GA. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mst1 kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinase. *J Biol Chem*. 1999; 274(49):34967–73.
45. Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A, Yoneda T, Roodman DG, et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res*. 2009; 10(10):1478–87.
46. Boonekamp PM, van der Wee-Pals LJ, van Wijk-van Lennep MM, Thesing CW, Bijvoet OL. Two modes of action of bisphosphonates on osteoclastic resorption of mineralized matrix. *Bone Min*. 1986; 1(1):27-39.
47. Colucci S, Minielli V, Zambonin G, Cirulli N, Mori G, Serra M, et al. Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone protein-coated surfaces. *Calcif Tissue Int*. 1998; 63(3):230-5.
48. Flanagan AM, Chambers TJ. Inhibition of bone resorption by bisphosphonates: interactions between bisphosphonates, osteoclasts, and bone. *Calcif Tissue Int*. 1991;49(6):407–15.
49. Piper K, Boyde A, Jones SJ. The effect of 3-amino-1-hydroxypropylidene-1,1-bisphosphonate (ADP) on the resorptive function of osteoclasts of known nuclear number. *Calcif Tissue Int*. 1994; 54(1):56–61.

50. Roelofs AJ, Thompson K, Gordon S, Rogers MJ. Molecular Mechanisms of Action of Bisphosphonates: Current Status. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(20):6222s-30s.
51. Viereck V, Emons G, Lauck V, Frosch K-H, Blaschke S, Gründker C, et al. Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 291(3):680–6.
52. Maruotti N, Corrado A, Neve A, Cantatore FP. Bisphosphonates: effects on osteoblast. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68(7):1013–8.
53. Ohe J-Y, Kwon Y-D, Lee H-W. Bisphosphonates modulate the expression of OPG and M-CSF in hMSC-derived osteoblasts. *Clin Oral Investig.* 2012; 16(4):1153–9.
54. Ledoux D, Hamma-Kourbali Y, Di Benedetto M, Foucault-Bertaud A, Oudar O, Sainte-Catherine O, et al. A new dimethyl ester bisphosphonate inhibits angiogenesis and growth of human epidermoid carcinoma xenograft in nude mice. *Anticancer Drugs.* 2006; 17(4):479–85.
55. Fournier P, Boissier S, Filleur S, Guglielmi J, Cabon F, Colombel M, et al. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res.* 2002; 62(22):6538–44.
56. Santini D, Vincenzi B, Avvisati G, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, et al. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenetic factors in cancer patients. *Clin Cancer Res.* 2002; 8(5):1080–4.
57. Vincenzi B, Santini D, Rocci L, Tonini G. Bisphosphonates: new antiangiogenic molecules in cancer treatment? *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 2003; 14(5):806–7.
58. Cackowski FC, Anderson JL, Patrene KD, Choksi RJ, Shapiro SD, Windle JJ, et al. Osteoclasts are important for bone angiogenesis. *Blood.* 2010; 115(1):140–9.
59. Kapitola J, Zák J. Effect of pamidronate on bone blood flow in oophorectomized rats. *Physiol Res.* 1998; 47(4):237–40.
60. Schoutens A, Verhas M, L'Hermite-Baleriaux M, L'Hermite M, Verschaeren A, Dourov N, et al. Growth and bone haemodynamic responses to castration in male rats. Reversibility by testosterone. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1984; 107(3):428–32.
61. Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera JL, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. Zoledronic acid – related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2014; 42(6):744–50.

62. de Molon RS, Shimamoto H, Bezouglaia O, Pirih FQ, Dry SM, Kostenuik P, et al. OPG-Fc but not zoledronic acid discontinuation reverses osteonecrosis of the jaws (ONJ) in mice. *J Bone Miner Res*. 2015; 30(9):1627–40.
63. Kang P, Xie X, Tan Z, Yang J, Shen B, Zhou Z, et al. Repairing defect and preventing collapse of femoral head in a steroid-induced osteonecrotic of femoral head animal model using strontium-doped calcium polyphosphate combined BM-MNCs. *J Mater Sci Mater Med*. 2015; 26(2):80.
64. Yanık S, Aras MH, Erkiş S, Bozdağ Z, Demir T, Çetiner S. Histopathological features of bisphosphonates related osteonecrosis of the jaw in rats with and without vitamin d supplementation. *Arch Oral Biol*. 2016; 65:59–65.
65. Brunsvold MA, Chaves ES, Kornman KS, Aufdemorte TB, Wood R. Effects of a bisphosphonate on experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontol*. 1992; 63(10):825–30.
66. Weinreb M, Quartuccio H, Seedor JG, Aufdemorte TB, Brunsvold M, Chaves E, et al. Histomorphometrical analysis of the effects of the bisphosphonate alendronate on bone loss caused by experimental periodontitis in monkeys. *J Periodontal Res*. 1994; 29(1):35–40.
67. Reddy MS, Weatherford TW, Smith CA, West BD, Jeffcoat MK, Jacks TM. Alendronate treatment of naturally-occurring periodontitis in beagle dogs. *J Periodontol*. 1995; 66(3):211–7.
68. Rocha ML, Malacara JM, Sánchez-Marin FJ, de la Torre CJV, Fajardo ME. Effect of alendronate on periodontal disease in postmenopausal women: a randomized placebo-controlled trial. *J Periodontol*. 2004; 75(12):1579–85.
69. Lane N, Armitage GC, Loomer P, Hsieh S, Majumdar S, Wang H-Y, et al. Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol*. 2005; 76(7):1113–22.
70. Sharma A, Pradeep AR. Clinical efficacy of 1% alendronate gel in adjunct to mechanotherapy in the treatment of aggressive periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol*. 2012; 83(1):19–26.
71. Tanna NK, Jeffcoat MK. Actonel® (risedronate) therapy for the maintenance of alveolar bone in adult chronic periodontitis. *Health (Irvine Calif)*. 2013; 5(7):12–7.
72. Bhavsar N V., Trivedi SR, Dulani K, Brahmbhatt N, Shah S, Chaudhri D. Clinical and radiographic evaluation of effect of risedronate 5 mg as an adjunct to treatment of chronic periodontitis in postmenopausal women (12-month study). *Osteoporos Int*. 2016;27(8):2611–9.

73. Akram Z, Abduljabbar T, Kellesarian SV, Abu Hassan MI, Javed F, Vohra F. Efficacy of bisphosphonate as an adjunct to nonsurgical periodontal therapy in the management of periodontal disease: a systematic review. *Br J Clin Pharmacol.* 2017; 83(3):444-54.
74. Messer JG, Mendieta Calle JL, Jiron JM, Castillo EJ, Van Poznak C, Bhattacharyya N, et al. Zoledronic acid increases the prevalence of medication-related osteonecrosis of the jaw in a dose dependent manner in rice rats (*Oryzomys palustris*) with localized periodontitis. *Bone.* 2018; 108:79–88.
75. Donos N, Graziani F, Mardas N, Kostopoulos L. The use of human hypertrophic chondrocytes-derived extracellular matrix for the treatment of critical-size calvarial defects. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22(12):1346–53.
76. Schwarz T, Schwarz A, Krone C, Luger TA. Pentoxifylline suppresses allergic patch test reactions in humans. *Arch Dermatol.* 1993; 129(4):513-4.
77. Lima V, Vidal FDP, Rocha FAC, Brito GAC, Ribeiro RA. Effects of tumor necrosis factor- α inhibitors pentoxifylline and thalidomide on alveolar bone loss in short-term experimental periodontal disease in rats. *J Periodontol.* 2004; 75(1):162–8.
78. Gomes CC, Freitas DQ, Medeiros Araújo AM, Ramírez-Sotelo LR, Yamamoto-Silva FP, de Freitas Silva BS, et al. Effect of alendronate on bone microarchitecture in irradiated rats with osteoporosis: micro-CT and histomorphometric analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2018; 76(5):972–81.
79. Graziani F, Cei S, Guerrero A, La Ferla F, Vano M, Tonetti M, et al. Lack of short-term adjunctive effect of systemic neridronate in non-surgical periodontal therapy of advanced generalized chronic periodontitis: an open label-randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2009; 36(5):419–27.
80. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs.* 1987; 34(1):50-97.
81. Lin SL, Chen RH, Chen YM, Chiang WC, Lai CF, Wu KD, et al. Pentoxifylline attenuates tubulointerstitial fibrosis by blocking Smad3/4-activated transcription and profibrogenic effects of connective tissue growth factor. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16(9):2702–13.
82. Scott PG, Dodd CM, Tredget EE, Ghahary A, Rahemtulla F. Chemical characterization and quantification of proteoglycans in human post-burn hypertrophic and mature scars. *Clin Sci.* 1996; 90(5):417–25.
83. Isaac C, Mathor MB, Bariani G, Paggiaro AO, Herson MR, Goldenstein-Schainberg C, et al. Pentoxifylline modifies three-dimensional collagen lattice model contraction and expression of collagen types I and III by human fibroblasts derived from post-burn hypertrophic scars and from normal skin. *Burns.* 2009; 35(5):701–6.

84. Yalcin-Ulker GM, Cumbul A, Duygu-Capar G, Uslu Ü, Sencift K. Preventive effect of phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline against medication-related osteonecrosis of the jaw: an animal study. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017; 75(11):2354–68.
85. Conte Neto N, Spolidorio LC, Andrade CR, S. Bastos A, Guimarães M, Marcantonio E. Experimental development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in rodents. *Int J Exp Pathol.* 2013; 94(1):65-73.
86. da Silva LAB, da Silva RAB, Branco LGS, Navarro VP, Nelson-Filho P. Quantitative radiographic evaluation of periapical bone resorption in dog's teeth contaminated with bacterial endotoxin (LPS) associated or not with calcium hydroxide. *Braz Dent J.* 2008; 19(4):296–300.
87. Odze RD, Marcial MA, Antonioli D. Gastric fundic gland polyps: a morphological study including mucin histochemistry, stereometry, and MIB-1 immunohistochemistry. *Hum Pathol.* 1996; 27(9):896–903.