



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'AQUILA
DIPARTIMENTO DI MEDICINA CLINICA, SANITÀ PUBBLICA,
SCIENZA DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Dottorato in Scienze della Salute e dell'Ambiente
Ciclo: XXXVI

Curriculum: **FISIOPATOLOGIA DEL SISTEMA STOMATOGNATICO**

TESI DI DOTTORATO

**“Osteonecrosi dei Mascellari Farmaco-Correlata: studio retrospettivo di 14 anni sugli
eventi scatenanti patogenetici”**

SSD: MED/28

Dottorando

Dott. Marino Raffaele

Relatore

Prof. Giuseppe Marzo

Co-Relatore

Prof. Stefano Mummolo

Coordinatrice

Prof.ssa Maria Grazia Cifone

A.A. 2022/2023

INDICE:

1. Il tessuto osseo	3
2. I bifosfonati	9
2.1. Composizione chimica e classificazione	12
2.2. Farmacodinamica	17
2.3. Biodisponibilità	28
2.4. I BPs nella pratica clinica	31
3. Altri farmaci antiriassorbitivi	38
4. ONJ: storia e definizione	50
4.1 Epidemiologia	62
4.2 I fattori di rischio della MRONJ	68
4.3 Criteri radiologici e stadiazione della MRONJ	72
5. Contributo sperimentale	83
5.1 Materiali e metodi	84
5.2 Criteri di inclusione ed esclusione	85
5.3 Analisi statistica	85
5.4 Risultati	86
5.5 Discussioni	91
6. Bibliografia	95

Abstract

Although events such as tooth extraction and oral surgery were considered for a while the sole triggering factor for Medication-Related Osteonecrosis of the jaw (MRONJ), it is still unclear if trigger events may be precipitating factors that accelerate the onset of the disease that would have possibly occurred anyway. Therefore, this research aimed to retrospectively analyze MRONJ cases diagnosed in our tertiary referral hospital during the last 14 years, focusing on the onset of the disease, potential trigger events, and countermeasures to update the knowledge on their pathogenesis. An audit of patients diagnosed with MRONJ attending our department from 2008 to 2021 was performed. χ^2 test and Fisher exact test were employed to assess the relationship between the medications used and trigger events; χ^2 test was also used to assess any relationship between MRONJ localization and drug, drug class, trigger, or trigger type. Seventy-six patients' records were identified. Fifty-two records were selected for analysis. Trigger events for the onset of the disease were found in 35 cases (67.3%). χ^2 test showed a correlation between the drug used and trigger event occurrence ($P = 0.045$) confirmed by Fisher exact test ($P = 0.34$). Visual histogram analysis showed positive correlation when Alendronate (12 cases, 85.7%), Zoledronate (12 cases, 75%), and Risedronate (2 cases, 100%) were administered. Subgroup analysis per underlying disease, showed a significant correlation between the drug used and trigger event occurrence in the osteoporosis group (χ^2 test, $P = 0.021$; Fisher exact test, $P = 0.009$).

1. Il tessuto osseo

Il tessuto osseo, insieme alla cartilagine, costituisce i tessuti connettivi specializzati per la funzione di protezione e sostegno. È un tessuto sia dinamico che plastico al fine di modulare la propria struttura in seguito a stimoli organici e meccanici. Tali caratteristiche gli permettono di svolgere numerose funzioni di tipo:

- meccanico, come supporto e sito di attacco per i muscoli della locomozione;
- protettivo, per organi vitali e midollo spinale;
- metabolico, come riserva di ioni, specialmente calcio e fosfato, per il mantenimento dell'omeostasi minerale sistemica essenziale per la vita.

Rispettivamente agli altri connettivi, esso origina dal mesenchima ed è caratterizzato da cellule, fibre e una matrice complessa, in cui si distinguono una parte inorganica ed una organica. Nella parte inorganica della sostanza intercellulare vengono depositati cristalli minerali costituiti principalmente da sali di calcio e fosfato, sottoforma di calcio-idrossiapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, e in quantità minore da carbonato di calcio e altri minerali.

Le fibre organiche sono disperse all'interno della matrice extracellulare in maniera altamente ordinata, e sono costituite per il 90% da collagene (di cui il 97% è di tipo I ed il 3% di tipo V) e per il 10% da acqua e numerose proteine non collageniche

(osteocalcina, osteonectina, osteopontina, fibronectina, trombospondina, sialoproteine, proteoglicani, biglicani, albumine ed immunoglobuline) (Amizuka N., 2004).

La presenza di tessuto connettivo fortemente mineralizzato, composto di cristalli minerali con prevalenza di ioni fosfato e calcio, conferisce al tessuto durezza e resistenza al carico mentre la composizione e la distribuzione delle componenti proteiche della matrice, elasticità e resistenza alle fratture. Infatti il collagene di tipo I è costituito da una peculiare struttura terziaria caratterizzata dall'avvolgimento elicoidale di tre catene polipeptidiche uguali in cui si ripetono catene di amminoacidi in genere poco frequenti nelle proteine (prolina, glicina, idrossiprolina e idrossilisina) che conferisce le proprietà elastiche alla molecola e di conseguenza all'osso (Marks

S.C. et al., 2001). Si tratta quindi di un tessuto estremamente dinamico sottoposto a continuo rimodellamento, caratterizzato da fasi di produzione e riassorbimento della matrice mineralizzata.

Grazie all'accurato controllo della deposizione di calcio nell'osso tramite meccanismi endocrini e relativa mobilizzazione, il tessuto osseo rappresenta il principale deposito di ione calcio per le necessità metaboliche dell'intero organismo, contribuendo alla regolazione dei livelli plasmatici dello ione.

Il tessuto osseo si classifica in due tipologie principali:

- il tessuto osseo non lamellare in cui la matrice extracellulare non forma lamelle e rappresenta il tessuto osseo primario presente durante la vita prenatale e nell'adulto nei casi di neodeposizione ossea (ad esempio in caso di fratture).

- il tessuto osseo lamellare costituisce la stragrande maggioranza del tessuto osseo nei mammiferi adulti ed è organizzato in lamelle. Si divide in: (a) tessuto osseo lamellare compatto, quando è composto prevalentemente da lamelle concentriche complete, come per esempio nelle diafisi, e si presenta come un tessuto molto duro, attraversato da numerosi canali contenenti vasi sanguigni e dotti linfatici visibili solo al microscopio; e in (b) tessuto osseo lamellare spugnoso, se invece è composto da lamelle incomplete che formano tanti piccoli frammenti incastonati fra di loro (trabecole ossee), come per esempio nelle epifisi e si presenta come un reticolo tridimensionale di trabecole ossee che viene a delimitare uno spazio labirintico ripieno di midollo osseo.

Dal punto di vista istologico il tessuto osseo è rivestito dal periostio, una spessa capsula connettivale costituita da tessuto connettivo denso a fibre intrecciate, con funzione protettiva e trofica mediata dai vasi sanguigni di cui è ricco.

Le cellule ossee coinvolte nelle varie fasi del metabolismo osseo, si suddividono in tre fondamentali categorie: le cellule osteoprogenitrici (o preosteoblasti), gli osteoblasti, gli osteociti, gli osteoclasti. Il ruolo delle cellule ossee è quello di regolare il rimodellamento, la riparazione e la rigenerazione tissutale partecipando con le cellule endoteliali che sono ausiliari nel provvedere, con l'angiogenesi, all'apporto di nutrienti e ossigeno indispensabili per il metabolismo e l'allontanamento dei prodotti del catabolismo cellulare.

Le cellule osteoprogenitrici, sono elementi fusati con citoplasma acidofilo o lievemente basofilo. Si riscontrano sulla superficie delle trabecole ossee in via di ossificazione e nel tessuto connettivo delle cavità midollari dell'osso, sulle superfici libere delle ossa, al livello dello strato più interno del periostio apposto all'osso, lo strato osteogenico di Ollier, riccamente vascolarizzato ed al livello del tessuto connettivo lasso che riveste le cavità interne dell'osso, chiamato endostio, in vicinanza dei capillari sanguigni.

I preosteoblasti derivano dalla cellula mesenchimale e costituiscono una popolazione di elementi relativamente indifferenziati e proliferanti. Esse hanno i caratteri di cellule staminali, di elementi cioè dotati della capacità di dare origine mediante frequenti mitosi a cellule destinate a differenziarsi nonché ad altre cellule osteoprogenitrici.

Durante l'accrescimento dell'osso le cellule osteoprogenitrici proliferano attivamente e si trasformano in osteoblasti. I medesimi fenomeni di attivazione delle cellule osteoprogenitrici si verificano nell'individuo adulto, durante la riorganizzazione interna dell'osso e nel corso di riparazione di fratture. Tale trasformazione si sviluppa nel periostio e nell'endostio dove il differenziamento delle cellule preosteoblastiche in osteoblasti maturi avviene grazie allo stimolo di numerosi fattori, principalmente il paratormone (PTH), l'ormone della crescita (GH) e il transforming growth factor-beta (TGF- β).

Gli osteoblasti sono cellule che si occupano della formazione ossea poiché secernono i componenti organici della matrice (collagene, proteoglicani e glicoproteine) e sono situate in corrispondenza delle superfici in via di espansione delle ossa e nello strato

osteogenico del periostio e dell'endostio durante tutto il periodo di morfogenesi dell'osso. Sono cellule dalla forma voluminosa, altamente polarizzate, con un nucleo ovoidale leggermente spostato in periferia e con citoplasma intensamente basofilo, sede di un'intensa attività fosfatasi alcalina contenente granuli PAS-positivi che costituiscono i precursori delle glicoproteine della matrice ossea. La parte della cellula rivolta verso la matrice in via di mineralizzazione è caratterizzata da numerose vescicole con contenuto amorfo o granulare corrispondenti ai granuli PAS-positivi visibili al microscopio ottico. Queste vescicole sono a contenuto glicoproteico e proteoglicanico e vengono espulse dalla cellula nella matrice dove fungono da "nuclei" per l'inizio della sua mineralizzazione. Quando la neoformazione di tessuto osseo si arresta, scompaiono i granuli, la reazione per la fosfatasi alcalina e la basofiliacitoplasmatica si attenuano e gradualmente gli osteoblasti si trasformano in osteociti.

Gli osteociti sono le cellule più numerose del tessuto osseo e sono contenuti in piccole escavazioni all'interno della matrice interconnesse tra loro da canalicoli che sfociano in vasi sanguigni nel canale di Havers. Pertanto presentano forma simile alle lacune ossee in cui sono accolti: il corpo cellulare è appiattito, dovendosi adattare alla forma lenticolare della cavità che lo contiene ed è provvisto di numerosi e sottili prolungamenti alloggiati nei canalicoli ossei. Alle estremità, i prolungamenti sono connessi con quelli degli osteociti vicini mediante giunzioni serrate, per mezzo delle quali avvengono gli scambi intercellulari di metaboliti e molecole segnale citoplasmatici. Tra la membrana plasmatica del corpo cellulare e dei prolungamenti, e la matrice mineralizzata rimane uno spazio sottile occupato da tessuto osseo che non

mineralizza. Attraverso il tessuto osteoide delle lacune e dei canalicoli ossei, ampiamente comunicanti, l'acqua e le sostanze disciolte riescono a raggiungere anche gli osteociti più distanti dai vasi sanguigni. Quando l'osteocita giunge al termine del suo ciclo vitale, ritrae i propri prolungamenti e degenera.

Gli osteoclasti derivano dalla fusione di numerosi precursori monocitari (fino a 30) e sono deputati alla distruzione (o riassorbimento) e al rimaneggiamento del tessuto osseo rimuovendo la struttura mineralizzata mediante acidificazione e digestione enzimatica, scindendo gli ioni calcio (Ca) e fosfato (P) dalla matrice ossea. Si presentano come grandi cellule purinucleate del diametro di 20-100 μm , contenenti decine di nuclei, che si trovano sulla superficie di trabecole ossee in via di riassorbimento. Sono situati nelle lacune di Howship, fossette scavate sulla superficie della trabecola ossea a causa dell'azione erosiva degli osteoclasti. Il loro citoplasma ha aspetto vacuolizzato ed è molto meno basofilo di quello degli osteoblasti o, in alcune di esse, debolmente acidofilo. Gli osteoclasti derivano da cellule monocitiche o macrofagiche che si sono differenziate da cellule di origine ematopoietica. I precursori degli osteoclasti sono i preosteoclasti trasportati dal torrente circolatorio fino alle sedi in cui deve avvenire il riassorbimento osseo e migrando nel tessuto osseo si fondono insieme, dando origine a cellule polinucleate. L'osteoclasto, in seguito alla sua attività di riassorbimento osseo, muore per apoptosi ed è poi rapidamente rimosso per fagocitosi.

2. I bifosfonati

I bifosfonati (noti anche con i termini difosfonati o bisfosfonati), sono farmaci sviluppati nel XIX secolo impiegati per contrastare la perdita di densità minerale ossea ed entrano a far parte della categoria dei farmaci anti-riassorbimento e anti-angiogenesi in correlazione al metabolismo osseo solo nei primi anni '60.

La scoperta e lo sviluppo dei bifosfonati (BPs) come classe di farmaci per la terapia delle patologie del tessuto osseo risale al 1961 grazie a Neuman e Fleisch, mentre studiavano il meccanismo di calcificazione indotto dal collagene. Essi scoprirono che fluidi organici come il plasma e le urine fungevano da contenitori per gli inibitori della calcificazione mostrando in particolar modo come il pirofosfato inorganico, presente nel siero e nelle urine, potesse prevenire la calcificazione legando i nuovi cristalli di idrossiapatite in formazione. Grazie a questi studi è emerso l'importante ruolo del pirofosfato. Quest'ultimo infatti previene la calcificazione dei tessuti molli e la calcificazione indotta sperimentalmente delle arterie, del rene, della cute e di molti altri tessuti e impedisce la formazione di calcoli renali indotti da dosi tossiche di vitamina D e del tartaro orale quando somministrato localmente, tanto che in alcuni paesi è il principale agente utilizzato come antitartaro per dentifrici.

I BPs, analogamente al pirofosfato, mostrano un'elevata affinità per il tessuto osseo e sono in grado di prevenire sia *in vivo* che *in vitro* la calcificazione. Inoltre, rispetto al pirofosfato, sono efficaci anche quando somministrati per via orale; infatti sono in

grado di resistere all'idrolisi operata dagli enzimi intestinali (Fleisch et al. 1970) e inoltre inibiscono la dissoluzione dei cristalli di idrossiapatite. Ciò ha rappresentato la scoperta più importante relativa a questo ampio gruppo di molecole, consentendone un utilizzo nella pratica clinica per il controllo di tutte quelle patologie dell'apparato scheletrico caratterizzate da un elevato riassorbimento osseo (Fleisch 1997).

Infatti uno studio condotto da Russell et al. ha evidenziato le differenti proprietà farmacologiche del pirofosfato e dei polifosfati in relazione al tipo di somministrazione: per via parenterale conservano le loro proprietà mentre per via orale perdono poiché sono inattivati dall'idrolisi operata dalle fosfatasi presenti sull'orletto a spazzola delle cellule della mucosa intestinale (Russell et al., 1999). Attraverso a ricerca di analoghi più stabili del pirofosfato, con le medesime proprietà biologiche e con resistenza ai processi idrolitici, che sono stati introdotti in ambito medico i BPs.

Le prime molecole sviluppate furono il Clodronato e l'Etidronato, utilizzato prima come inibitore della crescita e della dissoluzione dei cristalli di calcio, poi come farmaco in grado di inibire il riassorbimento osseo, ma furono presto abbandonati a causa di una scarsa maneggevolezza farmacodinamica e per la comparsa di discrasie ematiche, comportando una progressiva perdita d'interesse verso queste molecole da parte di tutta l'industria farmaceutica, e producendo quindi un ritardo di circa 10 anni nella loro evoluzione. Il riscoperto interesse nei confronti di questi farmaci si deve all'italiano Sergio Rosini e dall'olandese Olaf Bejvoet, grazie alle ricerche eseguite negli anni '80 riguardo le formulazioni farmaceutiche di etidronato e clodronato che

hanno portato alla commercializzazione del Pamidronato (1994), del Risedronato (1998), dell'Ibandronato e dello Zolendronato (2001).

I BPs ad oggi rappresentano i farmaci di prima scelta per il trattamento delle lesioni osteolitiche di metastasi ossee da tumori solidi, dell'osteolisi da mieloma multiplo, dell'osteoporosi e di altre patologie del metabolismo osseo quali il morbo di Paget e l'osteogenesi imperfetta. Tali farmaci sono in grado di modificare la storia naturale della malattia ossea determinando una positiva riduzione degli eventi scheletrici e sono pertanto da considerarsi irrinunciabili nella gestione di un paziente con metastasi ossee.

2.1. Composizione chimica e classificazione

I BPs sono analoghi sintetici al pirofosfato P-O-P e sono molecole non idrolizzabili, nei quali il legame fosfoanidritico è stato sostituito da un legame con il carbonio P-C-P non soggetto ad idrolisi, né in ambiente acido, né per azione delle pirofosfatasi. All'atomo di carbonio tetravalente oltre a due gruppi fosfato sono legate una catena corta R1 ed una lunga R2 (*Figura 1*).

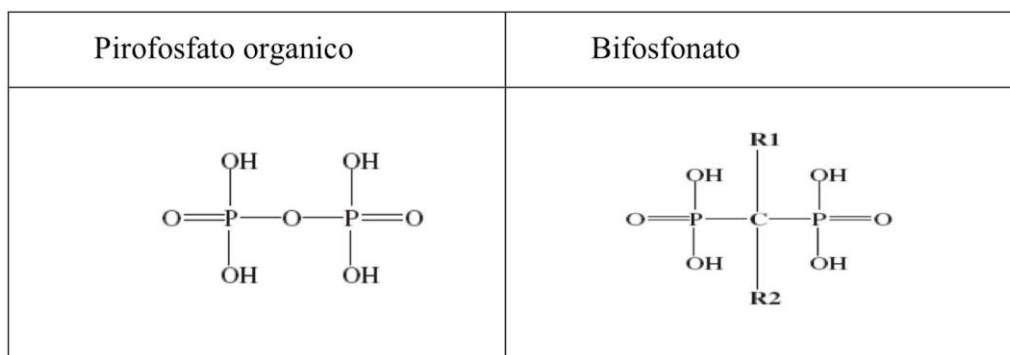


Fig. 1 Formula stechiometrica del pirofosfato organico e di un bifosfonato generico.

Fonte: Catteral JB, Cawston TE, et al. Drugs in development: bisphosphonates and metalloproteinase inhibitors. *Arthritis Res Ther* 2003; 5:12-24.

La catena laterale R1 è il sito di legame all'idrossiapatite ed è sostanzialmente simile in tutti i BPs (-OH, -Cl, -H), diversamente dalla catena laterale R2 che costituisce le

proprietà anti-riassorbitive della molecola stessa e presenta notevoli differenze tra i diversi BPs. Quindi la catena R1 è direttamente responsabile delle proprietà farmacocinetiche, mentre la catena R2 caratterizza la potenza e la modalità di azione (Figura 2).

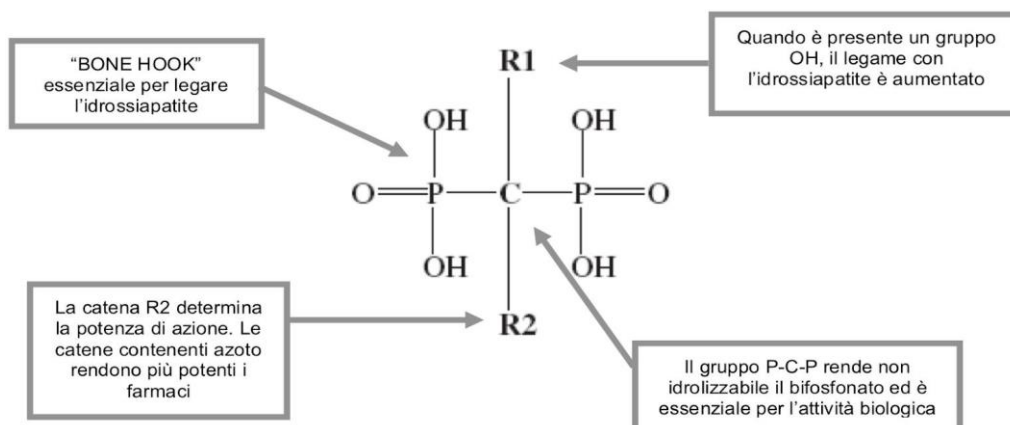


Fig. 2 Schema dei gruppi funzionali all'interno di una molecola di BPs. Fonte: Russell RGG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from laboratory to the clinic and back again. Bone 1999; 25:97-106.

Questa modifica strutturale favorisce la resistenza alla degradazione biologica, poiché il legame P-C-P è relativamente stabile alla temperatura, rendendo tutti i BPs resistenti a molti reagenti chimici, mentre l'atomo di carbonio tetravalente permette il legame con altre due catene secondarie dando la possibilità di sintetizzare una grande varietà d'analoghi (Figura 3).

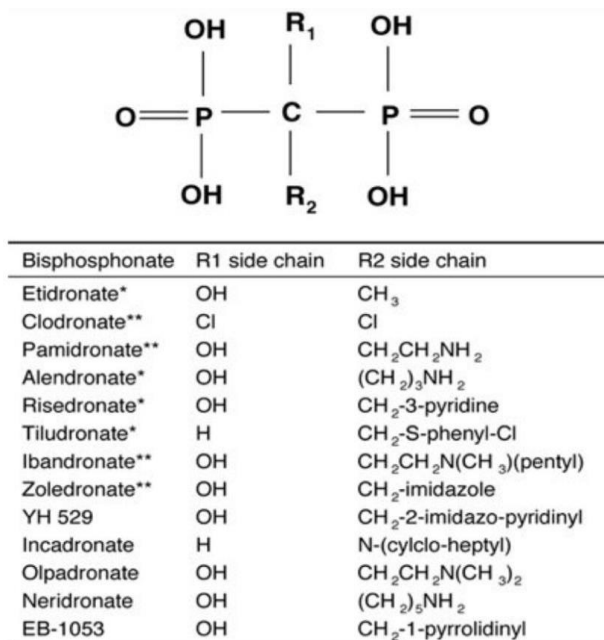


Fig. 3 Formula chimica dei BPs e analoghi.

Il meccanismo d'azione a livello cellulare dei BPs è condizionato dalla presenza all'interno della molecola di un gruppo amminico (N). Questa caratteristica chimica classifica i BPs in due gruppi biologicamente e funzionalmente diversi (*Tabella 1*):

- *Non ammino-BPs*: molecole prive del gruppo amminico. Questa classe di BPs causa la morte immediata degli osteoclasti.
- *Ammino-BPs*: molecole contenenti un gruppo amminico che inducono gli osteoclasti alla morte cellulare programmata (apoptosi).

Bisfosfonati	
<i>Non ammino-Bps</i>	<i>Ammino-Bps</i>
Etidronato *	Pamidronato §
Clodronato *	Neridronato §
Tiludronato §	Aledronato §
	Risedronato †
	Ibandronato †
	Zoledronato †
* prima generazione; § seconda generazione; † terza generazione	

Tab. 1 Principali Non ammino-BPs e Ammino-BPs utilizzati in ambito chimico.

Il gruppo d'azoto primario all'interno della catena R2 costituisce le proprietà farmacodinamiche dei diversi BPs e permette di incrementare significativamente la loro potenza di azione. Infatti all'interno della stessa generazione di farmaci BPs la potenza delle molecole varia in base alla relazione ai gruppi che si ritrovano sul radicale R2. I BPs di ultima generazione (ibandronato o zoledronato) ad esempio, mostrano una potenza di 5.000 e 10.000 volte superiore rispetto all'etidronato (Catteralet al. 2003) (*Figura 4*).

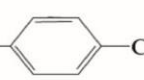



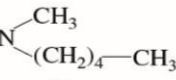

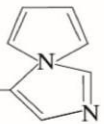

	R1	R2
Potency 1x		
Etidronate	—OH	—CH ₃
Potency 10x		
Chlodronate	—Cl	—Cl
Tiludronate	—H	—S— 
Potency 100x		
Pamidronate	—OH	—(CH ₂) ₂ —NH ₂
Neridronate	—OH	—(CH ₂) ₂ —NH ₂
Potency >100-<1000x		
Alendronate	—OH	—(CH ₂) ₃ —NH ₂
EB-1053	—OH	—(CH ₂) ₂ —N 
Incadronate	—H	—NH— 
Olpadronate	—OH	—(CH ₂) ₂ — 
Potency >1000-<10 000x		
Ibandronate	—OH	—CH ₂ —N 
Risedronate	—OH	—CH ₂ — 
Potency >10 000x		
YH529	—OH	—CH ₂ — 
Zoledronate	—OH	—CH ₂ —N 

Fig. 4 Struttura della catena laterale R1 e R2 dei BPs. Queste molecole sono raggruppate in relazione alla potenza di inibizione del riassorbimento osseo in ratti. Fonte: Catteral JB e Cawston TE. Drugs in development: bisphosphonates and metalloproteinase inhibitors. Arthritis Res Ther 2003, 5:12-24.

2.2. Farmacodinamica

L'azione dei BPs può essere considerata a tre differenti livelli: tissutale, cellulare e molecolare. A livello tissutale la principale azione di questi farmaci è quella di diminuire il turnover osseo. I BPs sono infatti in grado di legarsi ai cristalli di idrossiapatite e vengono internalizzati dagli osteoclasti durante la fisiologica fase di riassorbimento del processo di rimodellamento osseo. Data l'elevata affinità dei BPs per la componente minerale del tessuto osseo con conseguente assimilazione da parte degli osteoclasti attivati durante il riassorbimento osseo, la concentrazione citotossica di questi metaboliti viene accumulata all'interno degli osteoclasti attivi. Tali farmaci determinano l'apoptosi degli osteoclasti o la lisi cellulare. L'apoptosi degli osteoclasti presentano un meccanismo equivalente a quello degli ammino-BPs, i quali determinano le alterazioni strutturali a livello cellulare poiché agiscono sulla via del mavelonato; la lisi cellulare invece è associabile ai non ammino-BPs poiché agiscono come analoghi strutturali dell'ATP determinando un deficit energetico all'interno dell'osteoclasta (*Figura 5 e 6*).

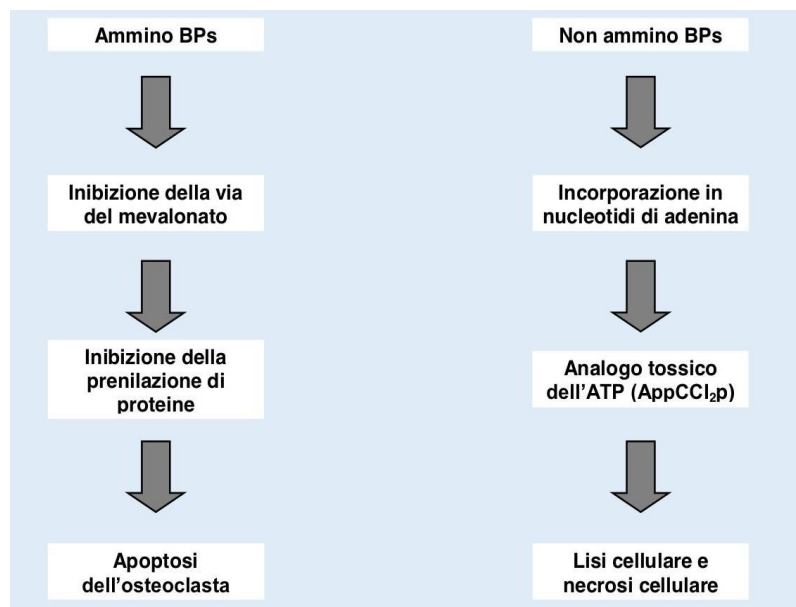


Fig. 5 Differenti meccanismi d'azione degli Ammino-BPs e Non ammino-BPs.

L'azione dei BPs viene amplificata dall'attività degli osteoclasti stessi poiché acidificano la matrice ossea e provocano la dissoluzione dei cristalli di idrossiapatite, determinano la liberazione delle stesse molecole di BPs precedentemente inglobate, che entrano a contatto con altri osteoclasti e ne riverberano l'effetto finale d'inibizione del riassorbimento osseo. I BPs determinano l'inibizione del reclutamento di nuovi osteoclasti e della loro maturazione (osteoclastogenesi) attraverso la selettiva inibizione di questi processi mediati dagli osteoblasti (Dannemann et al., 2006).

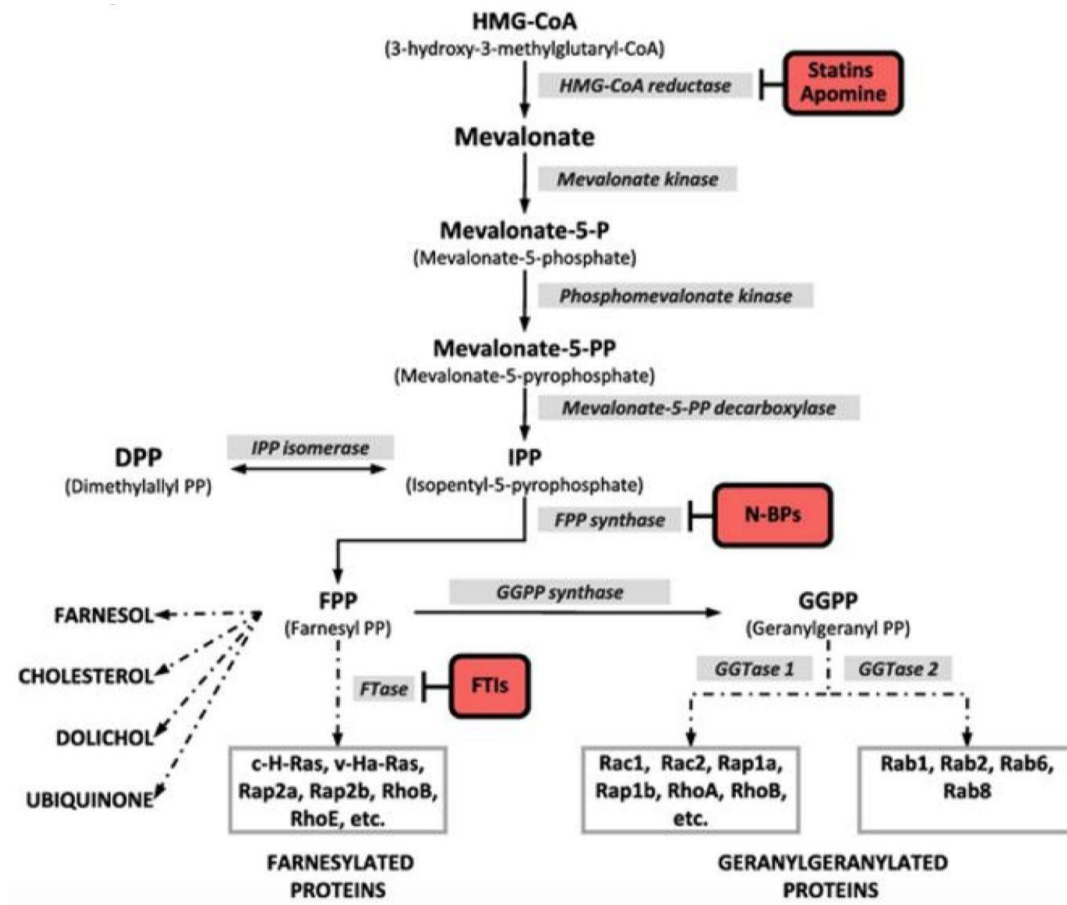


Fig. 6 Meccanismo d'azione dei BPs nell'inibizione dell'azione osteoclastica a livello osseo. Fonte: Verena Stresing, Florence Daubinè, et al. Bisphosphonates in cancer therapy. Cancer letters 2007 Nov 8; 257(1):16-35

Secondo quanto descritto nella Tabella 1 e nella Fig. 5 i BPs vengono classificati in due di classi biologicamente e funzionalmente diverse, in relazione alla presenza o meno di un gruppo amminico N all'interno della molecola:

- *Non-ammino BPs*: costituiscono questa classe il clodronato, l'etidronato ed il tiludronato. Presentano una struttura più simile al pirofosfato organico e sono metabolizzati dagli osteoclasti e dalla linea cellulare da cui derivano attraverso la via dell'enzima citoplasmatico aminoacyl-tRNA in analoghi non idrolizzabili dell'adenosintrifosfato (ATP). Una volta incorporato in queste cellule provocano un deficit energetico causandone la morte immediata (Rosset al., 2003). Gli analoghi dell'ATP infatti sono accumulati all'interno del citosol e alterano la permeabilità della membrana mitocondriale inducendo l'apoptosi (morte cellulare) per l'inibizione degli enzimi ATP dipendenti, come l'adenina nucleotide traslocasi (ANT). L'inibizione dell'ANT da parte del metabolita AppCCl₂p (adenosin5 5'-[beta,gamma-diclorometilene] trifosfato) causa iperpolarizzazione della membrana mitocondriale interna, la quale può portare all'alterazione del potenziale di membrana mitocondriale, rilascio del citocromo C ed induzione dell'apoptosi.
- Alcuni studi (Coxon et al. 2006) hanno scoperto un ultimo e nuovo meccanismo di azione ossia come l'inibizione della farnesilpirofosfato sintetasi (FPP sintetasi) determini l'accumulo di isopentenilpirofosfato (IPP). Quest'ultimo insieme all'adenosina monofosfato (AMP) entra a far parte del processo di formazione dell'ATP e contribuisce all'inibizione dell'ANT mitocondriale inducendo l'apoptosi.
- *Ammino-BPs*: protagonisti di questa classe sono il pamidronato, l'aledronato, il neridronato, l'ibandronato, l'isedronato, lo zoledronato e rappresentano quel

gruppo di molecole costituite un gruppo amminico e inducono alla morte cellulare programmata degli osteoclasti. Infatti l'azione principale degli ammino-BPs è proprio quella di inibire il riassorbimento osseo inibendo l'attività e la durata di vita osteoclastica. Ciò comporta una modulazione della interrelazione osteoclasta-osteoblasta che ha come risultato un aumento della densità minerale ossea e riduzione del calcio sierico (McLeod et al., 2012).

Gli ammino-BPs sono classificati in base ai loro differenti meccanismi di azione:

1. *Anti-riassorbimento osseo* (apoptosi degli osteoclasti, inibizione del legame RANK/RANKL/protegerina, riduzione dell'attività osteoclastica attraverso un effetto sul citoscheletro cellulare, stimolazione della proliferazione delle cellule osteoblastiche),
2. *Anti-angiogenesi*,
3. *Espansione clonale e attivazione linfociti T gamma/delta*.

1. Azione anti-riassorbimento osseo

Gli ammino-BPs agiscono sulla via del mevalonato inibendo in modo selettivo l'enzima farnesil-pirofosfato sintetasi, che è catalizzatore della biosintesi del colesterolo a partire dal mevalonato stesso, responsabile della sintesi dei due gruppi isoprenilici: farnesildifosfato (FPP) e geranilgeranilpirofosfato (GGPP) con conseguente mancata prenilazione delle *GTP-binding protein* come Ras, Rho, Rac, ecc. Esse svolgono un ruolo molto importante nel mantenimento del ciclo cellulare compromettendo il funzionamento delle cellule osteoclastiche agendo su trasduzione

di segnali intercellulari, traffico delle vescicole, morfologia e sulla sopravvivenza dell'osteoclasta (Figura 7).

La mancata prenilazione delle proteine Rho, Rac, Cdc42 comporta la rottura degli anelli di F-actina, struttura essenziale per l'architettura citoscheletrica delle cellule osteoclastiche.

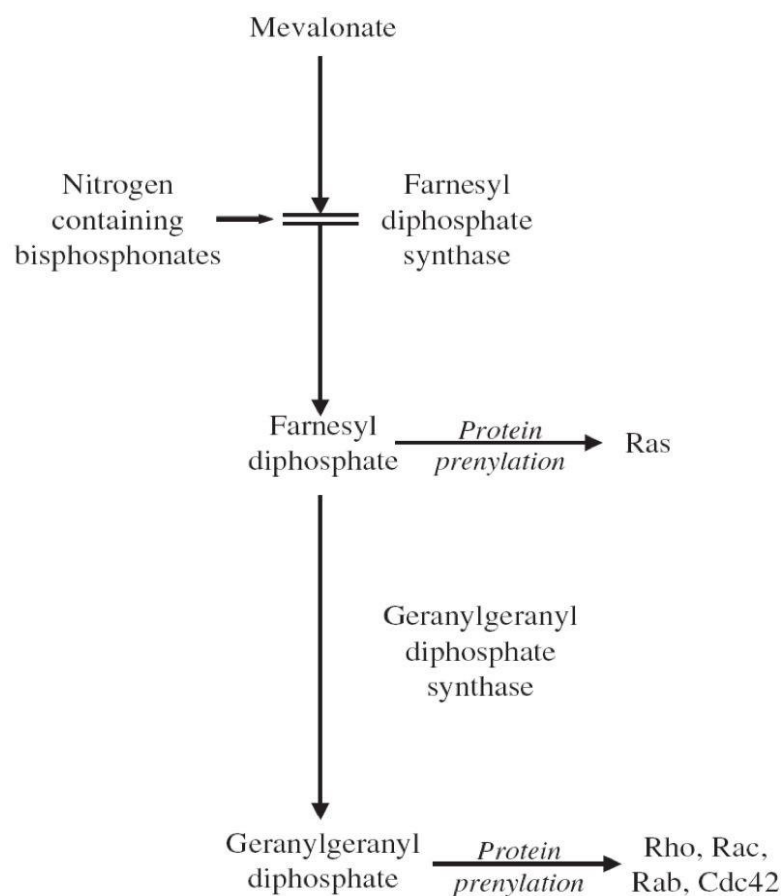


Fig. 7 Rappresentazione schematica della via del mevalonato. I bisfosfonati contenenti azoto esplicano la loro azione sulla via del mevalonato. L'inibizione dell'enzima farnesil difosfato sintetasi impedisce la produzione della farnesil difosfato necessaria per la

prenilazione delle proteine. Fonte: Catteral JB e Cawston TE Drugs in development: bisphosphonates and metalloproteinase inhibitors. Arthritis Res Ther 2003 5:12-24.

Studi *in vivo* sull'alendronato hanno mostrato come l'effetto finale dell'inibizione di queste proteine sia l'apoptosi delle cellule osteoclastiche (Coxon et al. 2006). Lo zoledronato determina l'inibizione del riassorbimento del tessuto osseo mediante un effetto diretto pro-apoptotico sulla cellula osteoclastica. È stata osservata anche un'azione diretta dell'acido zoledronico sugli osteoblasti attraverso l'inibizione del reclutamento e della differenziazione cellulare (Chaplet et al., 2004).

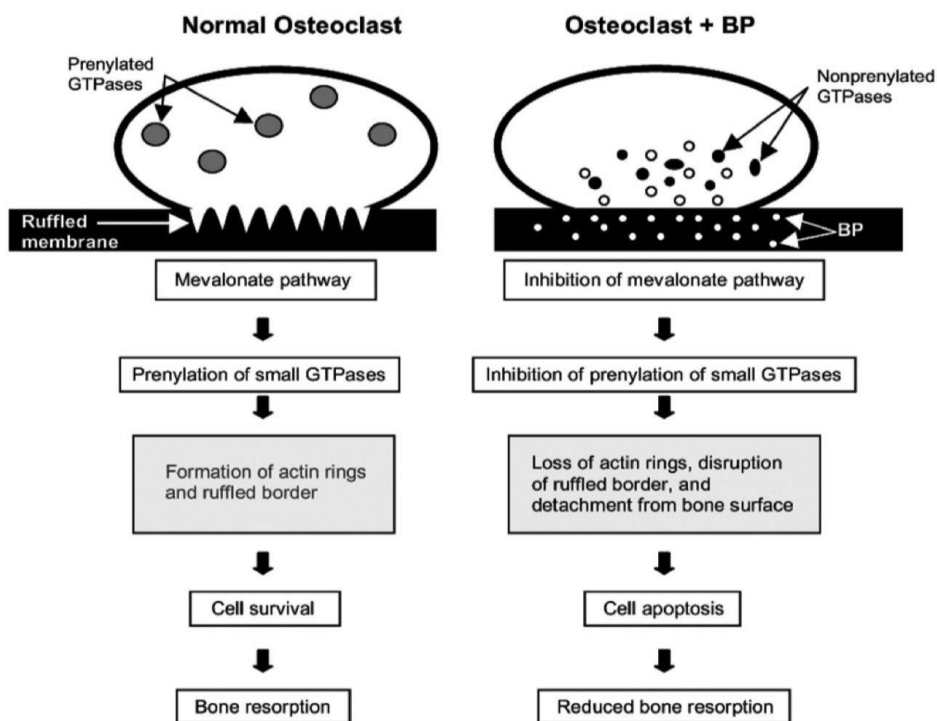


Fig. 8 Differenza di funzionalità tra la cellula osteoclastica normale (sx) e con BPs

(dx). Fonte: The mechanism of Trattament da: Coxon FP, Thompson K, Rogers MJ, et al. Recent advances in understanding action of bisphosphonates. Curr Opin Pharmacol. 2006 Jun; 6(3): 307-12.

Recentemente è stato scoperto un ulteriore meccanismo con cui gli ammino-BPs inibiscono il riassorbimento osseo. Essi agiscono sul legame di particolari proteine, RANK (Receptor Activator Nuclear factor- Kb), un polipetide espresso sui precursori emopoietici osteoclastici nel midollo osseo e sulla membrana delle cellule osteoclastiche, e il suo ligando RANKL, una proteina espressa sulle membrane degli osteoblasti e dei linfociti T attivati e si trova in forma solubile nel midollo osseo ed in altri tessuti.

Entrambe sono coinvolte nella differenziazione e attivazione degli osteoclasti. Legandosi il RANK-RANKL attiva dei trasduttori di segnale (NF-Kb e Akt) che consequenzialmente si occupano dell'attivazione degli osteoclasti maturi. del prolungamento della loro sopravvivenza e del loro mantenimento (Pan et al., 2004) (*Figura 9*).

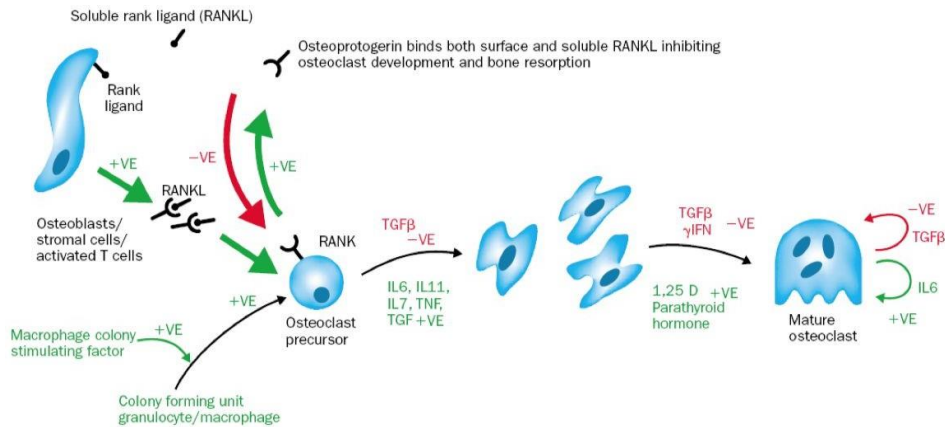


Fig.9 Interazione RANK/RANKL/osteoprotegerina nella differenziazione osteoclastica. Fonte: Ashcroft AJ, Davies FE, Morgan GJ. Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonate in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2003; 4:284-292.

L'osteoprotegenina OPG invece agisce come inibitore biologico solubile del RANK-L. Infatti l'OPG compete con il RANK per il recettore specifico RANK-L. Il legame tra OPG e RANK-L impedisce l'attivazione di trasduttori (NF-Kb e Akt) del segnale intracellulare, quindi contrasta gli effetti osteoclastogenici, pro- riassorbimento e anti-apoptotici sull'osteoclasta maturo (Hofbauer et al. 2000).

Infine l'inibizione dell'esposizione del RANK-L sulla membrana osteoblastica e l'aumentata produzione dell'OPG indotte dallo zoledronato, determinano l'inibizione dell'attivazione delle suddette vie endocellulari e la riduzione del riassorbimento osseo (Ashcroft et al., 2003; Boyle et al., 2003) (*Figura 10*).

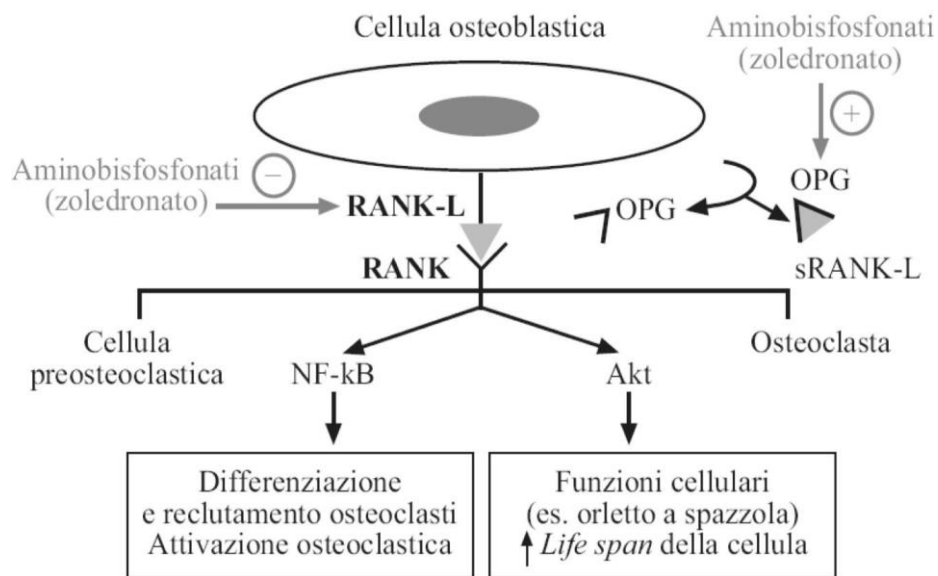


Fig. 10 Meccanismo di azione degli amino-BPs: inibizione del riassorbimento osteoclastico mediante un effetto diretto sulla cellula osteoclastica. Fonte: Girasole Bifosfonati: meccanismo d'azione. Up to date 2006

2. Anti-angiogenesi

Un'ulteriore capacità dei BPs è quella di inibire l'angiogenesi in diversi casi neoplastici (cancro alla prostata, alla mammella, all'epitelio) (Figura 11). Questo effetto avviene attraverso l'inibizione selettiva di metalloproteinasi prodotta dai macrofagi attivati in sede tumorale, la mancata attivazione del *vascular endothelial growth factor* (VEGF), l'inibizione della proliferazione, l'adesione e la migrazione delle cellule endoteliali (Fournier et al., 2002; Santini et al., 2002). Queste azioni, associate ad una riduzione del turnover osseo ed ad un impoverimento dei fattori di crescita presenti nella matrice ossea, potrebbero contribuire a limitare la diffusione delle metastasi ossee (Coxon et al., 1998; Caraglia et al., 2004).

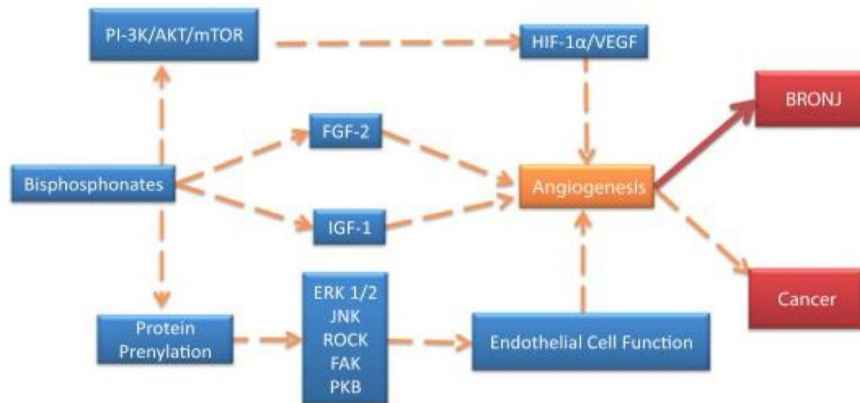


Fig. 11 Meccanismo di inibizione della angiogenesi. Fonte: Sharma D, Ivanovski S, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected anti-angiogenic side effect.

Vascular cell 2013 Jan 14;5(1):1

3. Espansione clonale e attivazione linfociti T gamma/delta

I linfociti T gamma/delta hanno funzione di difesa contro virus e tumori linfoidi. Gli ammino-BPs sono in grado di determinare l'espansione clonale e l'attivazione di linfociti T gamma/delta. L'effetto sarebbe dovuto ad un accumulo di isopentenil-pirofosfato (aumentato dopo l'inibizione della via del mevalonato da parte dei BPs) in grado di attivare i recettori gamma-delta dei linfociti T. Il risultato finale comporterebbe un'aumentata proliferazione ed attivazione cellulare associata a produzione di citochine come l'IL-2. I BPs sarebbero così in grado di sensibilizzare cellule tumorali e le cellule osteoclastiche all'attività citotossica dei linfociti.

Tali scoperte sono state possibili grazie alla risposta di pazienti con mieloma multiplo refrattario in terapia BPs che hanno riportato una significativa proliferazione dei linfociti T gamma/delta e perché grazie ad uno studio condotto da Bukowski si è potuto evidenziare come gli osteoclasti umani esposti ad un amino-BPs vanno incontro ad una lisi mediata dalle cellule T di un'entità 10 volte superiore rispetto a quella ottenuta con la presenza dei soli linfociti negli osteoclasti di controllo (Bukowski et al., 2005).

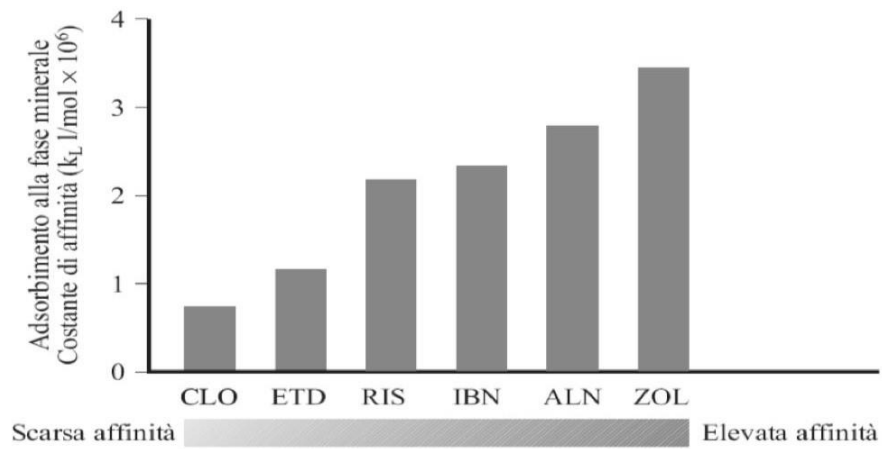
2.3. Biodisponibilità

Come detto in precedenza le modalità di somministrazione dei BPs sono di due tipi: per via orale o per via endovenosa. La somministrazione orale dei BPs dà una bassa biodisponibilità che è condizionata anche da una notevole variabilità individuale. Il ridotto assorbimento può essere attribuito alle scarse proprietà lipofile che comportano un assorbimento osseo che varia dal 20% al 50% mentre il resto viene escreto dai reni. La scarsa biodisponibilità obbliga il medico alla somministrazione di elevati dosaggi, specialmente per il clodronato, e ciò favorisce la comparsa di effetti collaterali. Tutti i

BPs somministrati per *os* presentano come effetti avversi a livello gastrointestinale: esofagite, mucosite, nausea, vomito e diarrea.

Durante la fase di assorbimento, diffusione tissutale ed escrezione, le molecole di BPs conservano inalterata la loro struttura molecolare perché sono dei composti di sintesi non presenti nel mondo animale e nessun enzima è in grado di scindere il legame P-C-P presente all'interno della molecola. A causa della bassa biodisponibilità la via orale è la più utilizzata nel trattamento dell'osteoporosi, dove dosi ridotte appaiono sufficienti a controllarne il turnover osseo e ad impedire la maggior parte delle complicanze scheletriche. Per quanto riguarda la somministrazione endovenosa, al pari di quella intramuscolare, la biodisponibilità è pari al 100% e per questo motivo sono considerate le vie di somministrazione più indicate nella terapia delle ipercalcemie secondarie a metastasi scheletriche di neoplasie solide e neoplasie dell'apparato emopoietico. I BPs sono completamente ionizzati nel sangue a pH fisiologico (7.4), ciò comporta un alto livello di legame con le proteine plasmatiche.

La somministrazione endovenosa di una singola dose di alendronato porta dall'altra parte a un rapido accumulo di questo farmaco nel tessuto osseo, circa 30% in 5 minuti e 60% in un'ora (Lin et al., 1994). Inoltre si è evidenziata una maggiore affinità per quanto riguarda lo *zoledronato* e l'*aledronato* rispetto all'*etidronato* e il *clodronato* (Figura 12). La diversa affinità per i cristalli di idrossiapatite giustifica la reversibilità, la maggiore potenza anti-riassorbitiva e la prolungata permanenza nel tempo anche dopo aver terminato la terapia.



CLO: clodronato; ETD: etidronato; RIS: risedronato; IBN: ibandronato; ALN: alendronato; ZOL: zoledronato

Fig. 12 Diversa affinità (misura della capacità adsorbitiva alla superficie minerale a una temperatura di 37°C) di legame per i cristalli di idrossiapatite. Fonte: Girasole Bisfosfonati: meccanismo d'azione. Up to date 2006

2.4. I BPs nella pratica clinica

Nella Tabella 2 vengono riportati i BPs attualmente disponibili in commercio, le principali indicazioni, la posologia e la modalità di somministrazione consigliate.

<i>Bifosfonato</i>	<i>Indicazione primaria</i>	<i>Molecola di azoto</i>	<i>Dose</i>	<i>Vie di somministrazione</i>
Etidronato	Malattia di Paget	No	300-750 mg/die	Orale
Tiludronato	Malattia di Paget	No	400 mg/die	Orale
Alendronato	Osteoporosi	Si	10 mg/die	Orale
Residronato	Osteoporosi	Si	5 mg/die	Orale
Ibandronato	Osteoporosi	Si	2.5 mg/die	Orale
Pamidronato	Metastasi ossee	Si	90 mg	Intravenosa
Zolendronato	Metastasi ossee	Si	4 mg	Intravenosa

L'*etidronato*, introdotto nel 1980, è il meno potente di questo gruppo di farmaci. È stato utilizzato per il trattamento delle calcificazioni ossee ipertrofiche che si sviluppano in seguito a traumi ossei e per l'iperosteogenesi della malattia di Paget. Il *tiludronato* viene utilizzato limitatamente per il trattamento della malattia di Paget. L'*alendronato* è il farmaco più comunemente utilizzato per il trattamento dell'osteoporosi e dell'osteopenia, con un'emivita superiore ai dieci anni. Il *residronato* è il secondo farmaco più frequentemente prescritto per il trattamento dell'osteoporosi e dell'osteopenia; come l'alendronato la sua emivita è superiore ai dieci anni. L'*ibandronato*, a differenza degli altri BPs, può essere assunto una volta al mese alla dose di 150 mg per il trattamento dell'osteoporosi; è inoltre approvato per

l'assunzione giornaliera alla dose di 2,5 mg. Il *pamidronato*, introdotto nei primi anni novanta, è stato il primo BPs utilizzato, per via endovenosa, per l'inibizione del riassorbimento osseo correlato alle localizzazioni neoplastiche maligne nei pazienti affetti da neoplasia metastatizzante. Lo *zoledronato* rappresenta il farmaco di prima scelta per il trattamento delle metastasi ossee. Viene somministrato con un'infusione di 15 minuti alla dose di 4 mg ogni 3 o 4 settimane.

I BPs vengono utilizzati da circa quarant'anni nella cura di numerose malattie mostrando effetti positivi sulla qualità e sulla vita del paziente affetto da mieloma multiplo, metastasi ossee, osteoporosi e malattia di Paget, riducendo e ritardando complicanze potenzialmente fatali come l'ipercalcemia maligna, crolli vertebrali con compressioni spinali e fratture patologiche.

Nel *mieloma multiplo* le sedi più colpite sono: la colonna vertebrale (66%), le coste (44%), il cranio (41%), la pelvi (28%), il femore (24%), la clavicola (10%) e la scapola (10%). Mundy e colleghi furono i primi ad individuare un fattore promuovente il riassorbimento osseo, *Osteoclast Activating Factor* (OAF) (Mundy et al., 1974). Numerose citochine prodotte direttamente o indirettamente dalle cellule mielomatose hanno dimostrato di possedere attività osteoclastogenetica (*Figura 13*).

La funzione dei BF consiste nell'inibizione del riassorbimento osseo attraverso tre meccanismi fondamentali: soppressione dell'attività osteoclastica a livello delle superfici di riassorbimento osseo, riduzione di reclutamento degli osteoclasti, stimolazione dell'apoptosi osteoclastica con riduzione della vita e dell'attività degli osteoclasti.

È stato inoltre osservato che lo zoledronato riduce la resistenza all'apoptosi del clone mielomatoso contrastando l'attività degli osteoblasti, che sono in grado di sostenere la sopravvivenza delle cellule tumorali tramite il rilascio di IL-6 e IL-11. Infine è capace di attivare i linfociti T gamma/delta che presentano una potente attività citotossica diretta contro le plasmacellule del clone mielomatoso (Ficarra et al., 2005).

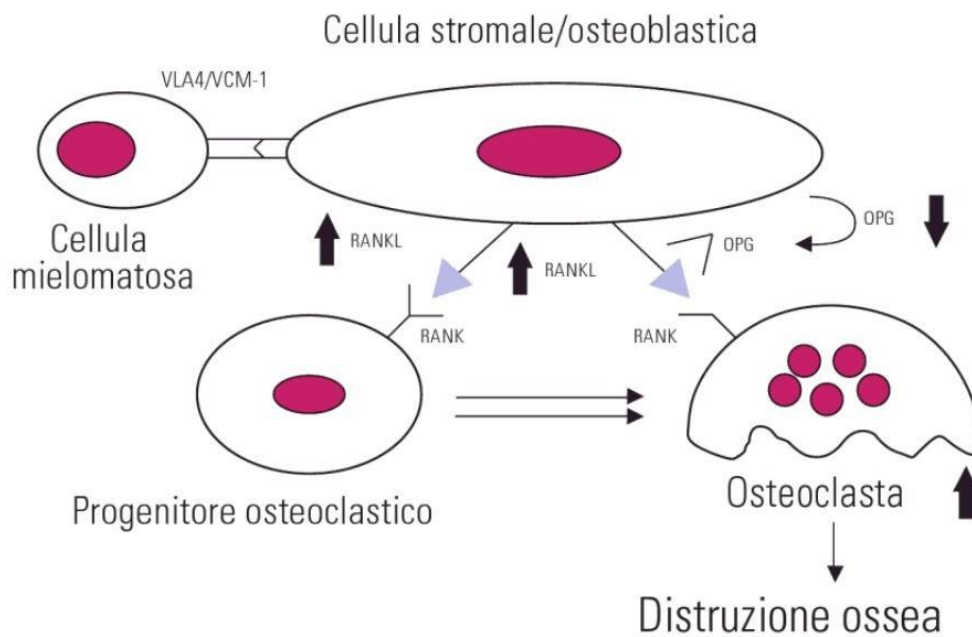


Fig. 13 Alterazione del sistema RANKL-OPG del microambiente nel mieloma multiplo. Fonte: Paolo Vescovi, Osteonecrosi dei mascellari e bisfosfonati, terapia odontoiatrica e prevenzione, settembre 2008, 2:14.

Nelle *metastasi ossee* l'80% dei casi è associabile a conseguenze del carcinoma della mammella, prostatico e polmonare, e nel restante 20% dei casi ad altri tumori maligni

(Figura 14). Il carcinoma mammario è fra tutte le neoplasie solide quellamaggiormente responsabile di metastasi scheletriche. Le linee guida sull'utilizzo dei BPs nel carcinoma della mammella indicano come standard l'uso di pamidronato, zoledronato e ibandronato per via endovenosa (4-6 mg ogni 3-4 settimane). Questi farmaci sembrano ridurre del 38-40% il rischio di comparsa complicanze scheletriche (Rosenberg and Ruggiero, 2003).

Nel carcinoma prostatico la somministrazione di Zoledronato in pazienti affetti da tumore della prostata ha dimostrato di ritardare di 5 mesi la comparsa di metastasi ossee e di ridurre del 36% il rischio di una metastasi ossea nei 24 mesi successivi. Inoltre questo farmaco si è rivelato estremamente utile nel controllo della sintomatologia dolorosa da metastasi ossee.

Tumore	Prevalenza a 5 anni ¹	Incidenze di metastasi osse in malattia avanzata (%) ²	Sopravvivenza mediana dalla diagnosi di metastasi ossee (mesi) ³
mammella	3,860	65-75	19-25
prostata	1,555	65-75	2-53
polmone	1,394	30-40	6-7
vescica	1,000	40	6-9
rene	480	20-25	12
tiroide	475	60	48
melanoma	533	14-45	6

¹ Ferlay *et al*

² Coleman *et al*

³ Coleman *et al*, Zekri *et al*

Fig. 14 Incidenza di metastasi ossee in pazienti con tumori solidi. Fonte: Coleman RE. Bisphosphonates: clinical experience. The Oncologist 2004; 9 (suppl 4): 14-27

Le metastasi ossee si classificano in base al loro aspetto radiologico: litiche, addensanti o miste. Nel carcinoma della mammella sono presenti tutte e tre le varianti, mentre nel carcinoma prostatico predominano solo le lesioni addensanti.

I BPs che si sono dimostrati altamente efficaci nella terapia metastatica ossea sono: il *clorodronato*, il *pamidronato*, l'*ibandronato* e l'*acido zoledronico* (Body, 2006) poiché, avendo un potente effetto inibitorio sugli osteoclasti, li inducono alla morte cellulare. Quest'ultimo però è risultato finora il più efficace nella riduzione di eventi scheletrici legati a metastasi ossee di altri tumori solidi.

L'*osteoporosi* è la più comune malattia ossea: è una malattia scheletrica sistemica caratterizzata da una riduzione della densità dell'osso al di sotto del limite necessario per lo svolgimento della funzione di sostegno. L'osso subisce quindi un'alterazione della microarchitettura con conseguente aumento della fragilità e rischio di frattura ossea. Dopo i 30-35 anni di vita compare un fisiologico riassorbimento osseo, più evidente nelle donne rispetto agli uomini dovuto alla carenza di estrogeni nel periodo post-menopausale, conseguenza questa della diminuzione degli estrogeni. Allo stesso modo uno stile di vita sedentario, alimentazione povera di calcio, alcool, fumo o patologie sistemiche come il diabete mellito, amplificano la probabilità di un riassorbimento osseo. La frattura è la manifestazione clinica dell'osteoporosi. Le sedi a

maggior rischio sono: vertebre e radio nelle forme post-menopausali, collo del femore, della parte prossimale dell'omero, della tibia e del bacino.

I BPs sono largamente utilizzati nel trattamento dell'osteoporosi in virtù dell'azione positiva di questi farmaci sul riassorbimento osseo. È stato infatti progressivamente dimostrato e riconosciuto l'effetto positivo dei BPs (in particolare l'*aledronato*, il *risedronato*, l'*etidronato* e l'*acido zoledronico*) sui marcatori del turnover osseo giustificando in ampia misura l'azione antifratturativa di questi agenti.

Resta da definire quale sia l'entità ottimale di soppressione del riassorbimento osseo da parte dei BPs, e in che misura i farmaci più potenti che prevedono somministrazioni meno frequenti contribuiscano al miglioramento della compliance senza esporre il paziente ad un rischio superiore di MRONJ.

Il problema del pericolo di insorgenza dell'osteonecrosi ha portato comunque a riconsiderare gli schemi terapeutici impiegati per l'osteoporosi e le altre malattie non oncologiche nei termini di durata della terapia e scelta del farmaco (Landis et al., 2007).

La *malattia di Paget* dell'osso è un'affezione dovuta ad alterazioni focali del rimodellamento, che rendono lo scheletro incompetente sul piano meccanico e quindi facile alle deformità e alle fratture (Polizzotto et al., 2006). A livello istologico gli osteoblasti si presentano rigonfi ed attivi, e numerosi osteoclasti attivi. L'osso "pagetico" quindi mostra un aumento di volume e ciò comporta la compressione di strutture nervose che decorrono all'interno dello scheletro.

Sebbene tutti i BPs possono essere utili per il trattamento della malattia di Paget, quelli ad uso parenterale sono i maggiormente utilizzati, soprattutto il clodronato, il pamidronato e, più recentemente il neridronato e lo zoledronato (Marx, 2003).

3. Altri farmaci antiriassorbitivi

I farmaci relativi alla cura dell'osteoporosi sono suddivisibili in due categorie: *antiriassorbitivi*, come BPs, estrogeni, modulatori selettivi del recettore dell'estrogeno (SERM), e *anabolici*, come il teriparatide (1-34 PTH) (Tabella 1). Il loro obiettivo terapeutico è quello di contenere il rimodellamento osseo al fine di contrastare e superare il riassorbimento. Gli *estrogeni*, nonostante abbiano occupato un posto di ruolo nella cura dell'osteoporosi riducendo il rischio di fratture, ad oggi non vengono più utilizzati a causa delle gravi complicanze quali cancro della mammella, eventi tromboembolici e ictus (Hamrick et al., 2015). I modulatori selettivi per il recettore degli estrogeni (SERM) sono composti che, pur mancando della struttura steroidea degli estrogeni, si legano ai loro recettori, con diversi effetti agonisti e antagonisti. Essi infatti sono stati sviluppati con l'obiettivo di avere effetti estrogenici (agonistici) in alcuni tessuti come lo scheletro ed effetti neutri o antagonisti in altri tessuti come utero e mammella e modulano l'attività osteoblastica e osteoclastica legandosi ai recettori estrogenici alfa e beta ($ER\alpha$, $ER\beta$). Questi recettori modulano attività distinte nei diversi distretti corporei. Sono stati identificati almeno cinque diversi tessuti sui quali misurare la selettività d'azione dei diversi composti ad azione estrogenica: il SNC, l'osso, il sistema cardiovascolare, l'endometrio, la ghiandola mammaria. In particolare sul tessuto osseo gli estrogeni svolgono un'azione di tipo protettivo,

inibendo il turnover osseo, riducendone cioè sia il riassorbimento che la neoformazione.

Classe farmacologica	Molecola/dose/via e frequenza di somministrazione	Controindicazioni	Effetti avversi comuni
Bisfosfonati	Alendronato/70 mg/orale, settimanale Clodronato/100 mg/i.m., ogni 7-14 giorni Clodronato/200 mg/i.m., ogni 14-28 giorni Clodronato/400 mg/orale, giornaliera Risedronato/35 mg/orale, settimanale Risedronato/75 mg/orale, due giorni consecutivi al mese Ibadronato/150 mg/orale, mensile Ibadronato/3 mg/i.v., trimestrale Acido zoledronico/5 mg/ i.v., annuale Neridronato/25 mg/i.m., mensile*	Ipocalcemia Anomalie dell'esofago (stenosi, acalasia) Incapacità di stare in piedi per 30 minuti Grave compromissione renale con clearance della creatinina <35 ml/min Gravidanza e allattamento Età pediatrica (eccetto neridronato) Trattamenti concomitanti con altri bisfosfonati Controindicazioni della lidocaina (solo clodronato i.m.): sindrome di Adam-Stokes, sindrome di Wolff-Parkinson White o gradi severi di blocco seno-atriale, atrioventricolare o intraventricolare, scompenso cardiaco acuto	Cefalea Esofagite, Dispepsia Rash cutaneo Sindrome simil-influenzale Dolore muscoloscheletrico Iperemia oculare Aritmie (zoledronato) Ipocalcemia, Ipfosfatemia
Modulatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERM)	Raloxifene/60 mg/orale, giornaliera Bazedoxifene/22,6 mg/orale, giornaliera	Tromboembolismo venoso Gravidanza e allattamento Insufficienza epatica, colestasi Insufficienza renale grave Sanguinamento uterino di natura imprecisata; segni o sintomi di carcinoma dell'endometrio	Edema periferico Vampate di calore Crampi Sindrome simil-influenzale
Attivatore del ligando del recettore del fattore nucleare kappa-B (RANKL)	Denosumab/60 mg/s.c., semestrale	Gravidanza e allattamento Ipocalcemia	Infezioni del tratto urinario, delle vie respiratorie superiori Sciatica Costipazione Rash/eczema Dolore muscoloscheletrico
1-34 PTH	Teriparatide/20 mcg/s.c., giornaliero	Gravidanza e allattamento Ipercalcemia Grave insufficienza renale Altre malattie metaboliche delle ossa (compresi iperparatiroidismo e morbo di Paget). Aumenti ingiustificati della fosfatasi alcalina. Precedente radioterapia dello scheletro Tumori maligni allo scheletro o metastasi ossee	Artralgia Nausea Ipercalcemia Aumento dell'uricemia Vertigini
Stronzio	Stronzio ranelato/2 g/orale, giornaliero	Tromboembolismo venoso Immobilizzazione temporanea o permanente (es. per intervento chirurgico o allattamento prolungato) Cardiopatia ischemica, malattia arteriosa periferica e/o malattia cerebrovascolare Iperensione non controllata	Ipercolesterolemia Insonnia Cefalea, vertigini Dispepsia Rash, eczema Dolore muscoloscheletrico Edema periferico Epatite, aumento della CPK Infarto miocardico Tromboembolismo venoso Iperreattività bronchiale

Tab. 1 Farmaci anti-riassorbitivi. Fonte: Giovanni Iolascon, Antimo Moretti,

Giuseppe Toro, Osteoporosi oggi: diagnostica e trattamento, 2018;44:102-110.

L'assunzione di estrogeni comporta una regolazione extrascheletrica e scheletrica. Nella risposta extrascheletrica gli estrogeni stimolano la sintesi della calcitonina (CT) contrastando la naturale diminuzione di produzione nei soggetti in menopausa o in condizioni di ipoestrogenismo. Inoltre determinano un incremento dei recettori per la vitamina D a livello dell'intestino tenue, e la 25 OH vitamina D viene convertita in 1,25 OH vitamina D per azione diretta degli estrogeni sull'1- α -idrossilasi e/o per effetto indiretto mediato dall'aumento del PTH. Nella risposta scheletrica invece il meccanismo attraverso il quale gli estrogeni regolano il rimodellamento osseo non è ancora del tutto chiaro. A livello citologico, la presenza dei recettori per gli estrogeni è stata individuata in più e diversi siti: nelle cellule della linea osteoblastica, negli osteoclasti e nei monociti-macrofagi. Gli estrogeni negli osteoblasti e nelle cellule mononucleate periferiche:

1. Inibiscono in vitro la produzione di IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e tumor necrosis factor- α (TNF- α) e stimolano la liberazione di IL-1ra (IL-1 receptor antagonist);
2. Inducono la secrezione di IGF-I, di cui peraltro inibiscono la produzione epatica indotta dal GH, e delle IGF-BP, in particolare dell'IGF-BP4, che, frenando l'azione dell'IGF-I, crea una sorta di autocontrollo dell'effetto estrogenico;

3. Stimolano la produzione di TGF- β e di altri fattori inibenti gli osteoclasti; Inibiscono la produzione della glicoproteina gp 130, a sua volta in grado di mediare le influenze biologiche di IL-6, IL-11 e LIF;
4. Modulano la sintesi di M-CSF nelle cellule stromali e nei monociti, sopprimendo la trasformazione dei preosteoclasti in osteoclasti.

Per quanto riguarda invece la linea osteoclastica gli estrogeni:

1. Riducono nel midollo osseo il numero di CFU-GM, precursori cellulari degli osteoclasti;
2. Ostacolano la conversione dei preosteoclasti in osteoclasti attraverso la soppressione dei fattori inducenti di origine osteoblastica (IL-6 e GM-CSF);
3. Stimolano la sintesi osteoclastica di Transforming Growth Factor- β (TGF- β) con effetto inibente sulla maturazione e sulla funzione degli osteoclasti; in particolare favoriscono la formazione dell'isoforma TGF- β 3 che è coinvolta nell'apoptosi di queste cellule;
4. Sopprimono l'attività funzionale degli osteoclasti prevenendo la formazione degli orletti a spazzola attraverso l'inibizione della sintesi di catepsina B e D e di fosfatasi acida tartratoresistente.

I SERM attualmente approvati in Italia per la prevenzione e il trattamento dell'osteoporosi sono il *raloxifene* e il *bazedoxifene*. Il *raloxifene* ha mostrato un effetto positivo sulla riduzione delle fratture vertebrali con un dosaggio di 60 mg al giorno. Più recentemente, il *bazedoxifene* alla dose di 20 mg al giorno si è dimostrato in grado di prevenire la perdita di massa ossea nelle donne con BMD normale e in

quelle osteopeniche e di prevenire le fratture vertebrali in quelle con osteoporosi. Il *denosumab* è un anticorpo monoclonale interamente umano di isotipo IgG2 dotato di elevata affinità e specificità per il RANKL umano. Legandosi ad esso, il denosumab mimica l'azione dell'OPG impedendo l'attivazione di RANK, riducendo la maturazione degli osteoclasti a partire dai pre-osteoclasti, oltre ad aumentare l'apoptosi (Figura 1) (Iolascon et al., 2013). Differentemente dai BPs, l'effetto biologico del denosumab persiste finché il principio attivo è presente in concentrazioni adeguate e appare totalmente reversibile dopo la sospensione del trattamento. Infatti ad una fase di assorbimento prolungata (con una concentrazione sierica massimale tra i 5 e i 21 giorni), seguono una fase- β con un tempo di dimezzamento prolungato (circa 32 giorni) ed una rapida fase terminale di eliminazione nella quale le concentrazioni sieriche scendono sotto 1 $\mu\text{g/ml}$.

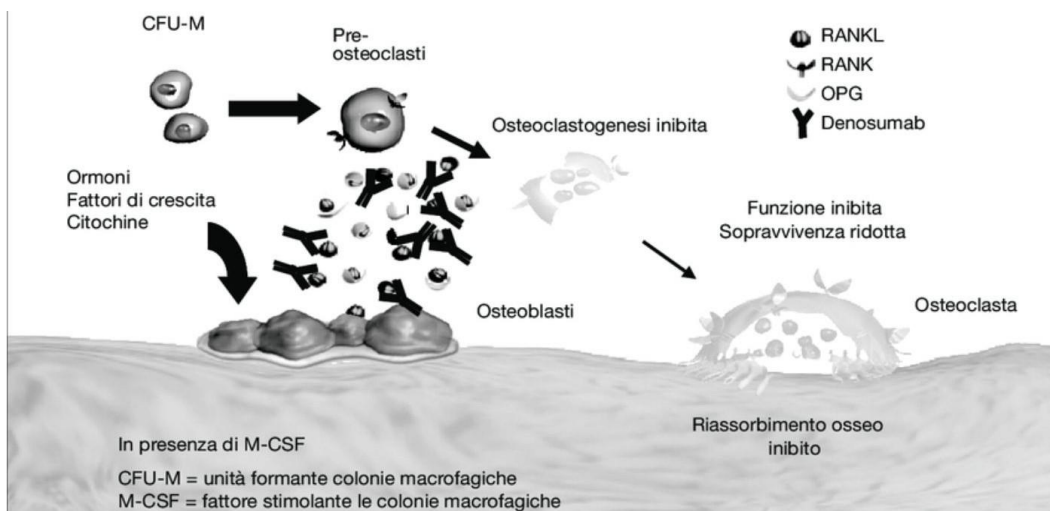


Fig.1 Meccanismo d'azione del denosumab

Gli effetti del denosumab risultano uniformi su tutte le strutture scheletriche indipendentemente dallo stato del turnover osseo e la terapia cronica è associata ad un aumento densitometrico continuo, diversamente a quanto accade con altri farmaci antiassorbitivi, che stabilizzano la BMD dopo 3-4 anni di terapia, in particolare a livello corticale (Tarantino et al., 2017). Grazie a studi precedenti che hanno verificato i vari aspetti del trattamento con denosumab, quali l'efficacia nella prevenzione della perdita ossea in postmenopausa, l'efficacia antifratturativa nelle donne osteoporotiche e l'efficacia relativa rispetto ai bisfosfonati, ed in particolare ad alendronato, considerati ancora oggi lo *standard of care* del trattamento dell'osteoporosi, si è giunti a quella che viene definita Fase III, base del successivo disegno degli studi clinici.

Lo studio FREEDOM (*Fracture REduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis every 6 Months*) infatti costituisce lo studio clinico registrativo di Fase III, controllato con placebo, della durata di tre anni su 7868 casi di sesso femminile (età media 72 anni) con osteoporosi randomizzate in doppio cieco a ricevere: denosumab con posologia di 60 mg sc ogni 6 mesi (n = 3902), oppure placebo (n = 3906). Inoltre tutte le pazienti ricevevano quotidianamente una dose di 1000 mg di calcio e 400/800 UI di vitamina D (Cummings et al., 2009).

L'obiettivo dello studio, avvenuto con successo, era quello di mostrare la riduzione delle fratture a livello dell'anca e delle vertebre e nei follow-up oltre i 6 anni, il farmaco si dimostrava ancora in grado di determinare soppressione del turnover osseo

con conseguente aumento della BMD e diminuzione delle fratture a livello delle vertebre lombari e del femore.

Lo studio DEFEND (*Denosumab Evaluation For prE-serving boNe Density*) è uno studio di Fase III a scopo preventivo e al fine di valutare le variazioni della BMD a livello lombare dopo un anno di trattamento.

Sono state valutate infatti l'efficacia e la sicurezza del denosumab nella prevenzione della perdita di massa ossea in donne in postmenopausa (n = 332; età media di 59,4 anni) con osteopenia (T-score della BMD a livello lombare compreso tra -1,0 e -2,5; valore medio di -1,61) (Bone et al., 2008). La somministrazione sc di 60 mg di denosumab ogni 6 mesi ha comportato come esito l'aumento della massa ossea e diminuito il rimodellamento osseo in tempi rapidi e significativi.

Lo studio DECIDE (*Determining Efficacy: Comparison of Initiating Denosumab versus alEndronate*) è un altro studio di Fase III, randomizzato, in doppio cieco e double dummy, controllato con trattamento attivo della durata di 1 anno nel quale denosumab (60 mg sc ogni 6 mesi) è stato confrontato con alendronato (70 mg settimanali) per verificarne la non inferiorità nell'incrementare la massa ossea. L'obiettivo primario dello studio era la variazione percentuale della BMD a livello del femore totale dopo 12 mesi di trattamento nelle pazienti che ricevevano denosumab rispetto a quelle che ricevevano alendronato. I risultati finali mostrano un notevole miglioramento dell'assorbimento della massa ossea femorale nelle pazienti con trattamento denosumab rispetto alle pazienti con trattamento alendronato.

Lo studio STAND (*Study of Transitioning from Alendronate to Denosumab*) è un ulteriore studio di Fase III, randomizzato, in doppio cieco e *double dummy*, con controllo attivo della durata di 12 mesi (Kendler et al., 2009). Lo studio, condotto sempre su pazienti di sesso femminile in menopausa di circa 55 anni di età, mette nuovamente in relazione denosumab e alendronato, valutando questa volta l'effetto del passaggio dalla terapia con alendronato per 6 mesi a quella con denosumab nei restanti 6 mesi. A un anno, l'aumento della BMD a livello del femore totale, della colonna lombare, del collo del femore e del radio distale, è risultato significativamente superiore nel gruppo trattato con denosumab rispetto a quello che ha proseguito il trattamento con alendronato. Inoltre, denosumab ha provocato una riduzione significativamente superiore dei marcatori biochimici del rimodellamento osseo rispetto ad alendronato.

In ultimo, lo studio DAPS (*Denosumab Adherence Preference Satisfaction*), randomizzato, in aperto, *cross-over*, della durata di 2 anni, ha l'obiettivo di valutare l'aderenza, la compliance e la persistenza rispetto all'alendronato (Kendler et al., 2010). I risultati dell'analisi dei primi 12 mesi mostrano che il trattamento con denosumab ha comportato una significativa riduzione dei livelli di non aderenza (42%), di non compliance (52%) e di non persistenza (46%) alla terapia rispetto ad alendronato.

Grazie alle numerose caratteristiche di efficacia, innovatività, potenzialità nell'aumentare l'aderenza alla terapia e di ottima tollerabilità, denosumab, insieme al

teriparatide, è ad oggi una delle terapie prese in considerazione per rispondere alla necessità di ridurre le fratture da fragilità nelle donne in post-menopausa.

Il teriparatide è un analogo dell'ormone PTH paratiroideo umano ricombinante che aumenta il turnover osseo (Tarantino et al. 2017; Gambacciani and Levancini, 2014).

La somministrazione quotidiana prevede 20 mcg di dosaggio al giorno e se somministrato ad intermittenza va a stimolare gli osteoblasti e l'effetto è definito "finestra anabolica" con un significativo risultato specie nei primi 12 mesi di somministrazione su un totale di 24 mesi di terapia consigliata. È indicato per il trattamento dell'osteoporosi post-menopausale, dell'osteoporosi indotta da glucocorticoidi in entrambi i sessi, e della perdita ossea negli uomini con osteoporosi primaria o ipogonadica ad alto rischio di frattura (Hamrick et al., 2015). In Italia viene promosso come farmaco di prima linea nei casi di almeno tre fratture da fragilità, almeno una frattura in osteoporosi severa o se si verifica una nuova frattura dopo un anno di trattamento con altri farmaci (AIFA, 2018). Teriparatide è stato anche associato a terapie combinate con altri antirassorbitivi come l'alendronato e ildenosumab. Nel primo caso l'efficacia del teriparatide diminuisce mentre aumenta il beneficio in termini di BMD nel secondo (Tsao et al., 2013). Il teriparatide può aumentare la calcemia, pertanto deve essere usato con cautela nei pazienti in trattamento con digossina ed è controindicato anche in pazienti con ipercalcemia, iperparatiroidismo e grave insufficienza renale. Per ridurre il rischio cancerogenico, bisogna evitare il teriparatide in pazienti con malattia ossea di Paget, pazienti giovani

con epifisi aperte, pazienti sottoposti a radioterapia dello scheletro e con metastasi ossee.

Il ranelato di stronzio è una molecola costituita da due atomi di stronzio, fisicamente un catione e chimicamente simile al calcio, e una molecola di acido ranelico, priva di attività farmacologica, che funge da carrier e conferisce palatabilità alla formulazione.

Il farmaco mostra un'elevata affinità nei confronti dell'osso dove inizialmente viene assorbito alla superficie dei cristalli di idrossiapatite mentre viene incorporato nell'osso al posto del calcio durante il processo di mineralizzazione.

Lo stronzio possiede una duplice azione: aumenta la formazione dell'osso e riduce il riassorbimento e ad oggi occupa un posto di ruolo nelle terapie anti-riassorbitive grazie agli studi IPREVOS (PREvention Of early postmenopausal bone loss by Strontium ranelate) (Reginster et al., 2002), STRATOS (Strontium Administration for Treatment of Osteoporosis) (Meunier et al., 2002) rispettivamente su 160 e 353 donne e sui risultati a 36 mesi di due studi, SOTI e TROPOS (Meunier e al., 2004; Reginster et al., 2005), (della durata prevista di 5 anni) multicentrici, in doppio cieco, per valutare l'efficacia nel ridurre le fratture vertebrali e avventi. I risultati degli studi hanno prodotto esiti favorevoli sulla riduzione del rischio di fratture al collo del femore in donne a rischio elevato e sulla diminuzione delle fratture vertebrali in donne con più di 80 anni. Il trattamento con ranelato di stronzio si mostra quindi efficace nel ridurre il rischio di fratture vertebrali, non vertebrali e dell'anca nelle donne con osteoporosi post-menopausa. Il farmaco è controindicato in pazienti con tromboembolia venosa corrente o precedente (TEV) e in pazienti temporaneamente o permanentemente

immobilizzati e in pazienti che presentano deficit al sistema cardiovascolare e ipertesi, in quanto il ralenato di stronzio è associato ad un aumento del rischio cardiaco.

In ultimo, il romosozumab, un farmaco di ultima generazione che vede ancora pareri contrastanti in materia. È un anticorpo monoclonale che inibisce gli effetti della sclerina contribuendo alla formazione ossea (Cosman et al., 2016). Il programma di sviluppo di romosozumab comprende 19 studi clinici che hanno arruolato circa 14.000 pazienti e mostrano i vantaggi ottenuti attraverso le terapie a base di romosozumab.

Lo studio FRAME (Fracture study in postmenopausal women with osteoporosis) (Cosman et al., 2018) è uno studio randomizzato, in doppio cieco *vs placebo*, della durata di 12 mesi, che ha valutato la riduzione dell'incidenza di nuove fratture vertebrali in 7.180 donne in post-menopausa con osteoporosi con esito di riduzione delle fratture del 73% rispetto al placebo.

Lo studio ARCH (Active-controlled fracture study in postmenopausal women with osteoporosis at high risk of fracture) è uno studio randomizzato, in doppio cieco *vs* alendronato, condotto in 4.093 donne in post-menopausa con osteoporosi e precedenti fratture sottoposte a 12 mesi di trattamento con romosozumab e altri 12 mesi con alendronato (Saag et al., 2017). Un anno di trattamento con romosozumab seguito da un anno di alendronato rispetto a due anni di solo alendronato ha ridotto il rischio di nuova frattura: vertebrale -50% e non vertebrale -20%.

Un terzo studio, multicentrico, internazionale, randomizzato, in doppio cieco, controllato *vs placebo*, condotto in 245 pazienti di sesso maschile, che prende il nome di BRIDGE (Lewiecki et al., 2017) ha arruolato 245 uomini di età compresa tra i 55 e i

90 anni, con T score densitometrico della colonna lombare, dell'anca in toto o del collo femorale $\leq -2,5$ o $\leq -1,5$ e una storia di frattura non-vertebrale di fragilità (esclusa la frattura d'anca) o frattura vertebrale. Il farmaco, somministrato mensilmente sottocute con 210 mg di romosozumab per 12 mesi (n = 163), ha aumentato i livelli di densità minerale ossea a livello del rachide e del femore, rispetto al placebo (n = 82). Il trattamento, inoltre, è risultato generalmente ben tollerato dai pazienti.

4. ONJ: storia e definizione

L'osteonecrosi delle ossa mascellari (ONJ) è un'invalidante patologia infettiva e necrotizzante, specifica del tessuto osseo, a carattere progressivo e con scarsa tendenza alla guarigione spontanea, ed è sicuramente la più severa tra le patologie odontoiatriche degli ultimi anni.

Recentemente è stata definita come “una reazione avversa farmaco-correlata, caratterizzata dalla progressiva distruzione e necrosi dell'osso mandibolare e/o mascellare di soggetti esposti al trattamento con farmaci per cui sia accertato un aumentato rischio di malattia, in assenza di un pregresso trattamento radiante (Ministero della Salute, 2014)” ma tale definizione è il risultato di un continuo e progressivo lavoro di ricerca da parte degli studiosi in materia.

Storicamente parlando, l'osteonecrosi fu descritta per la prima volta da Black (Black, 1915) nel 1915 come osteite cronica e rappresentava un tipo di osteonecrosi definita maxillo-facciale ischemica avente come segni clinici la perdita di vitalità ossea e la formazione di micro e macro-cavità intramidollari di alcuni centimetri di estensione.

Una varietà di osteonecrosi ischemica maxillo-facciale è in seguito rappresentata dalla nuova forma nei pazienti in terapia con farmaci appartenenti alla famiglia dei bifosfonati, caratterizzata da evidenti segni clinici di necrosi ossea a livello mascellare.

L'aspetto clinico delle ONJ osservate nei pazienti in terapia con i bifosfonati, ricorda un quadro clinico risalente alla prima metà del XIX secolo nei lavoratori di fabbriche

londinesi di fiammiferi. Tali operai, entrando in contatto con agenti tossici come il fosforo giallo o bianco, iniziavano a mostrare strane manifestazioni flogistiche e infettive a carico del cavo orale e delle ossa mascellari con dolore intenso, arrossamento, tumefazioni gengivali e deformità permanenti (Figura 1). L'intervento odontoiatrico prevedeva la sola estrazione dei denti infetti conducendo il quadro clinico alle evoluzioni della necrosi ossea con coinvolgimento globale delle basi ossee mascellari e mandibolari, ascessi al volto con fistole orali e cutanee, perdita di parti dell'osso sequestrato. Tale quadro prese il nome di phosphorus necrosis o più comunemente phossy jaw (Dearden, 1899; Miles 1972).

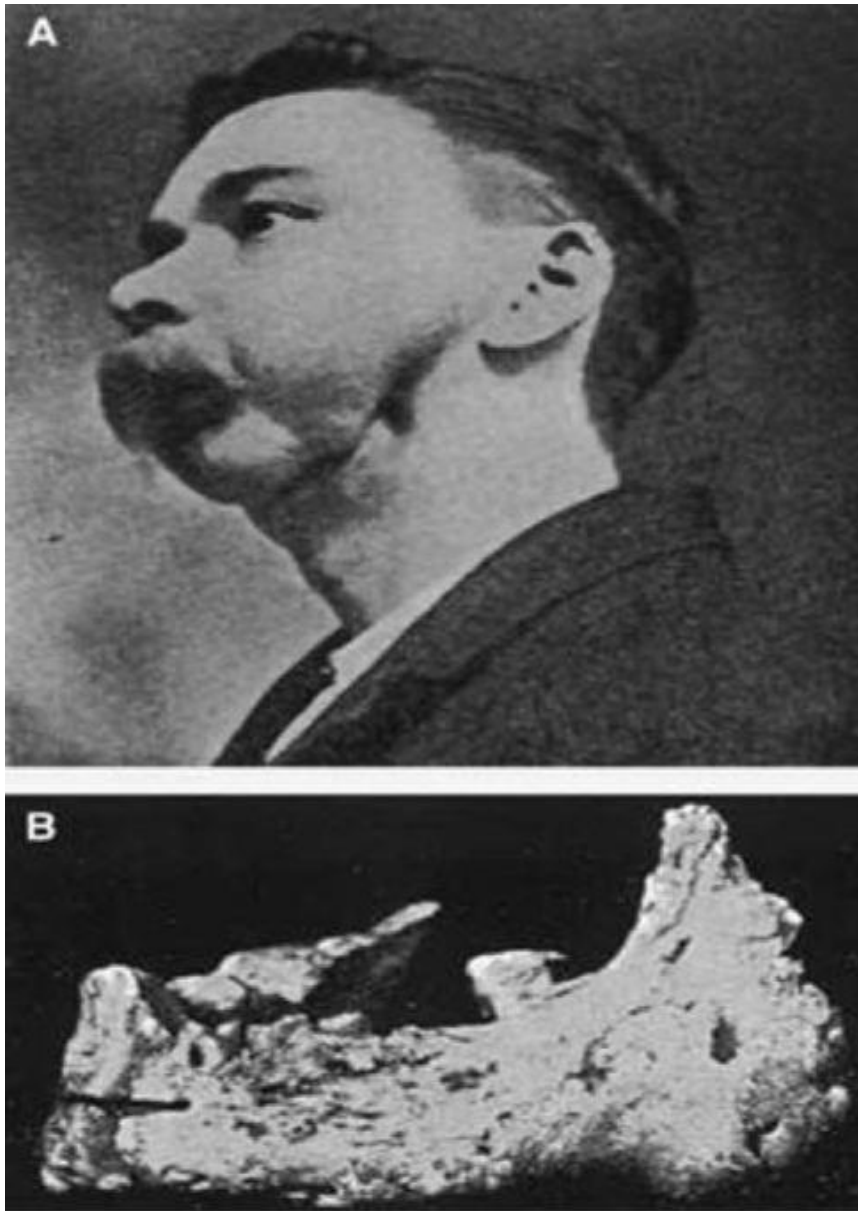


Fig. 1 Deformità risultante dall'escissione della mandibola in un caso di necrosi da fosforo. (Case of Dr John P. Andrews, *The Occupational Diseases*, Gilman Thompson W, Appleton D & Co, New York, 1914). Fonte: Donoghue AM. Bisphosphonates and osteonecrosis: analogy to phossy jaw. *Med J Aust*. 2005.

1;183(3):163-4.

Ad oggi è ancora evidente la discordanza di vedute su approccio clinico e linee guida terapeutiche, confermata anche dalla discordanza tassonomica, ossia dalla disomogeneità nel definire universalmente tale patologia e il suo quadro clinico.

Il termine osteochemonecrosis venne usato nel 2004, insieme al più descrittivo quadro clinico, anatomopatologico ed etiologico, bisphosphonate osteonecrosis of the jaws, in corrispondenza ai numerosi casi di necrosi ossea nei pazienti trattati con questi farmaci.

Qualche autore impiegò il termine Bis-Phossy Jaw associando la comune appartenenza etiopatogenica della nuova entità clinica osservata con la storica complicità ottocentesca (Hellestein JW and Marek CL, 2005).

Nel corso degli ultimi 10 anni circa vennero attribuiti alla patologia una serie di acronimi relativi a termini differenti: ONJ-BP (Osteonecrosis of the Jaws and Bisphosphonate), BON (Bisphosphonate associated Osteonecrosis), BAJO (Bisphosphonate Associated Jaw Osteonecrosis) BRON (Bisphosphonate-Related Osteonecrosis), oppure Bisphosphonate-induced osteoporosis, avascular osteonecrosis, BONJ (Bisphosphonate-associated Osteonecrosis of the Jaw).

Questa patologia ha assunto sempre più rilievo dai primi anni del 2000, quando nel settembre 2003 appare per la prima volta in letteratura scientifica sul Journal of Oral Maxillofacial Surgery la descrizione di osteonecrosi dei mascellari correlata a carcinoma mammario con presenza di metastasi ossee in chemioterapia antitumorale con taxani, desametasone e pamidronato, trattate nel Dipartimento di Chirurgia Orale e

Maxillofacciale dell'Università di San Francisco (Wang J. et al., 2003). La necrosi ossea era insorta in due dei tre casi sul mascellare superiore con presenza di fistole oro-sinusalì in seguito ad estrazioni dentarie, e nel restante caso sulla mandibola. I casi furono trattati con terapia chirurgica più o meno aggressiva, ma gli autori non riportarono l'esito del trattamento ed il relativo follow-up. L'analisi istologica e strumentale non evidenziava presenza di metastasi nella sede interessata, ma rilevava un'infezione massiva da parte di microorganismi orali. L'ipotesi diagnostica formulata dagli autori fu di osteonecrosi correlata a terapia medica.

Quasi contemporaneamente, Robert Marx in una lettera all'editore del Journal Of Oral Maxilofacial Surgery, segnala 36 casi di esposizioni mascellari o mandibolari, non responsive alle terapie mediche e chirurgiche, con tessuto osseo esposto necrotico e avascolare. Le necrosi di 28 pazienti erano consequenziali ad interventi iatrogeni da parte dell'odontoiatra mentre nei restanti 8 casi risultavano essere di natura spontanea. L'autore identifica immediatamente la correlazione tra necrosi ossee e alcuni farmaci appartenenti alla famiglia dei bifosfonati, in particolare con zoledronato e pamidronato. Questa pubblicazione è la prima a identificare come possibili responsabili delle necrosi i BPs (Starck et al., 1995). Nei mesi successivi a questo studio sono stati analizzati altri casi importanti riassunti in tre importanti studi (Migliorati, 2003; Carter and Goss, 2003; Tarassoff et al., 2003), che sottolineavano il rischio di necrosi ossee avascolari nei pazienti oncologici con metastasi ossee o affetti da mieloma multiplo. Nel mese di maggio del 2004 Ruggiero (Ruggiero et al., 2004) riporta sul Journal of Oral Maxillofacial Surgery un importante numero (in totale 63

casi) di osteomieliti refrattarie alle comuni terapie in pazienti che avevano assunto bifosfonati. Questo studio prende in esame le possibili concause ed i presunti fattori di rischio e volge l'attenzione sia sulla gestione terapeutica sia sulle risposte alle terapie e agli interventi chirurgici.

Il 2005 sarà un anno protagonista di numerose pubblicazioni e per tale motivo definito "l'anno della prevenzione". In letteratura vengono inseriti una cinquantina di lavori di provenienza internazionale, che mostrano l'attenzione diretta all'aspetto preventivo e etiopatogenetico della malattia. Compaiono infatti le prime raccomandazioni specifiche per gli odontoiatri riguardo le misure da seguire, come l'astensione assoluta delle manovre invasive considerate ormai causa determinante delle necrosi ossee. Viene inoltre portato a compimento (già riunito nell'anno precedente) il primo Expert Panel Recommendations for Prevention, Diagnosis and Treatment of Osteonecrosis of the Jaws, al quale prendono parte i maggiori esperti mondiali che hanno analizzato il problema sia dal punto di vista medico-oncologico che stomatologico-chirurgico (Novartis Pharmaceuticals Corporation, 2005).

Si avvia così una fase ricca di indicazioni e linee guida inerenti a prevenzione, comportamenti da seguire, ma è proprio nel campo terapeutico che si riscontrano numerose carenze e risulta essere lacunosa anche la raccolta dati relativa all'area di necrosi: localizzazione, estensione, quadro radiografico, quadro scintigrafico, sintomatologia correlata.

In questo stesso anno, i casi di necrosi ossea in tutto il mondo superavano la soglia dei 200 e tra la fine di quell'anno ed i primi mesi del 2006 comparivano le prime reviews

(Markiewicz et al., 2005; Woo et al., 2006) dove gli autori iniziavano ad interrogarsi su un elemento fondamentale, ossia quale fosse il fattore scatenante l'osteonecrosi su soggetti caratterizzati da fattori sistemici e condizioni orali simili. Venne quindi valutata l'ipotesi che il fattore scatenante l'insorgenza dell'osteonecrosi ossea fosse riconducibile a manovre odontoiatrico-chirurgiche e a traumi esercitati sulle mucose da parte degli elementi dentari e dei manufatti protesici (Vescovi et al., 2006).

Nel 2006 le casistiche sono sempre più ampie e gli studi mostrano dei follow up sempre più soddisfacenti. In questo anno l'attenzione viene maggiormente rivolta alla gestione clinica della BRONJ con l'inserimento di nuove manovre diagnostiche collaterali (biopsia mucosa e ossea, indagini radiologiche ed esami colturali) e alla gestione delle complicanze (sinusiti mascellari e fratture mandibolari). Viene inoltre proposto l'utilizzo dell'analisi scintigrafica al fine di individuare le lesioni il più tempestivamente possibile nelle loro fasi iniziali (Chiandussi et al., 2006).

Le linee guida inerenti la terapia delle necrosi sottolineano l'assoluta necessità di eliminare la quota di osso necrotico al fine di consentire una chiusura delle deiscenze mucose, indispensabile per monitorare la sintomatologia e garantire un apprezzabile qualità di vita al paziente.

Al termine del 2006 e nei primi mesi del 2007 le Società Internazionali di Oncologia ed Ematologia e i singoli Centri Nazionali, modificano le precedenti posizioni acquisite riguardo posologia, durata e associazioni farmacologiche nella terapia con i BF. Durante il 2006 infatti, compaiono le prime posizioni ufficiali delle diverse e numerose associazioni scientifiche specialistiche stomatologiche e chirurgiche

(American Dental Association, Council on Scientific Affairs, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons, American Academy of Periodontology) riguardo le terapie odontoiatriche, con particolare attenzione ai casi a rischio di osteonecrosi da BF (American Dental Association, 2006).

In base alle nuove e numerose casistiche del 2007 vengono quindi rivalutate le linee guida e i protocolli. Alcuni autori tornano a ribadire l'importanza dell'ossigenoterapia iperbarica, altri ottengono buoni risultati con la sola terapia medica, mentre altri ancora solo con la chirurgia. Nello stesso anno escono interessanti puntualizzazioni riguardanti diagnosi e stadiazione delle aree necrotiche mediante sofisticate tecniche radiodiagnostiche (MDCT, MPR, VR, 3D, RMN, FDG-PET) che vanno a completare le indagini di base considerate non sufficienti ad una esauriente diagnosi (Endorali e OPT). Alla fine del 2007 viene segnalata da Marx (Marx and Sawatari, 2007) la possibilità di separare, attraverso specifici test ematologici, C-terminal telopeptide differenti categorie di pazienti a rischio, già oggetto di numerosi studi in letteratura, che ha spesso trovato pareri discordanti. Il C-terminal telopeptide rappresenta il dosaggio sierico del telopeptide C-terminale del collagene di tipo 1, prodotto di degradazione della porzione carbossi-terminale (CTX) delle regioni non-elica del collagene di tipo I, per azione della catepsina K osteoclastica (Pagani et al., 2005). Il CTX sierico rappresenta un marker di riassorbimento osseo e i suoi valori normali dipendono dall'azione estrogenica sull'osso, presente durante l'età fertile della donna e assente in menopausa, e dal sesso: il livello di CTX sierico è quindi più basso nella donna in premenopausa (compreso fra 0,100 e 0,300 ng/ml) e più alto nella donna in

post-menopausa e nel maschio adulto (rispettivamente $> 0,300$ ng/ml e compreso fra $0,142$ e $0,522$ ng/ml).

La terapia con bifosfonati riduce il valore del CTX sierico riportandolo all'interno del fisiologico range della pre-menopausa mentre il denosumab, che possiede un'attività anti-riassorbitiva più potente, determina nella maggior parte dei pazienti una soppressione del CTX sierico ($< 0,100$ ng/ml). Si ritiene che il CTX sierico possa essere utile per valutare il grado di soppressione del turnover in corso di terapia anti-riassorbitiva nei pazienti candidati a chirurgia orale.

Nonostante i numerosi dati discordanti in letteratura, nel 2017 il Position Statement dell'Accademia Americana di Medicina Orale (AAOM, 2017) afferma che se da un lato non è inusuale nei pazienti in terapia anti-riassorbitiva il riscontro di un valore di CTX sierico $< 0,150$ ng/ml, dall'altro in questo setting di pazienti la comparsa di ONJ è comunque un evento molto raro ($< 1\%$); in relazione alla diatriba sul ruolo predittivo del CTX, conclude affermando che il dosaggio del CTX sierico come predittivo di ONJ non è ad oggi suffragato da evidenze significative della letteratura scientifica.

Nel 2009 viene inserito un update con l'introduzione dello Stadio 0 della patologia (Ruggiero et al., 2009) che però presentava delle criticità: imponeva l'attesa di 8 settimane per determinare una diagnosi e quindi il potenziale ritardo nell'esecuzione di atti diagnostici-terapeutici; non forniva criteri per la diagnosi radiologica né per l'estensione della malattia; non supportava la presenza di numerosi casi di ONJ non esposti (Fedele, 2010).

Nel 2012 SICMF e SIMPO propongono una nuova definizione della patologia: “La definizione di ONJ associata a BP, estensibile anche all’ONJ da altri farmaci, è di reazione avversa farmaco-correlata caratterizzata dalla progressiva distruzione e necrosi dell’osso mandibolare e/o mascellare di soggetti esposti al trattamento con aminobisfosfonati, in assenza di un precedente trattamento radiante (Bedogni et al., 2012)”.

Nel 2014, in seguito a sempre più frequenti casi di ONJ non associata a bifosfonati, viene emesso un nuovo update dall’AAOMS in cui il comitato speciale privilegiava il termine osteonecrosi della mascella correlata ai farmaci (MRONJ) per via del crescente numero di casi associati ad altri antiriassorbitivi come denosumab e terapie antiangiogeniche (Ruggiero et al., 2014).

Il crescente e rapido cambiamento sia tassonomico che di indicazioni diagnostiche e cliniche comporta la crescita di numerosi dubbi e critiche mossi in letteratura. Un’errata definizione comporta infatti un errato staging avente come conseguenze un incerto piano terapeutico della diagnosi e una molteplice contraddizione tra le indicazioni promosse dall’AAOMS e dal SIMPO (*Tabella 1 e 2*).

Table 2. STAGING AND TREATMENT STRATEGIES

Staging of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw*	Treatment Strategies†
At risk—no apparent necrotic bone in patients who have been treated with oral or intravenous bisphosphonates	no treatment indicated patient education
Stage 0—no clinical evidence of necrotic bone but nonspecific clinical findings, radiographic changes, and symptoms	systemic management, including use of pain medication and antibiotics
Stage 1—exposed and necrotic bone or <u>fistulas that probes</u> to bone in patients who are asymptomatic and have no evidence of infection	<u>antibacterial mouth rinse</u> clinical follow-up on a quarterly basis patient education and review of indications for continued bisphosphonate therapy
Stage 2—exposed and necrotic bone or <u>fistulas that probes</u> to bone associated with infection as evidenced by pain and erythema in the region of exposed bone with or without purulent drainage	symptomatic treatment with oral antibiotics oral antibacterial mouth rinse pain control debridement to relieve soft tissue irritation and infection control
Stage 3—exposed and necrotic bone or a fistula that probes to bone in patients with pain, infection, and ≥ 1 of the following: exposed and necrotic bone extending beyond the region of alveolar bone (ie, inferior border and ramus in mandible, maxillary sinus, and zygoma in maxilla) resulting in pathologic fracture, extraoral fistula, oral antral or oral nasal communication, or osteolysis extending to inferior border of the mandible or sinus floor	antibacterial mouth rinse antibiotic therapy and pain control surgical debridement or resection for longer-term palliation of infection and pain

Tab 1. Staging and Treatment Strategies

Fonte: Ruggiero SL et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. J Oral Maxillofac Surg. 2014 Oct;72(10):1938-56.

<p>Stadio 1</p>	<p>MRONJ FOCALE: in presenza di almeno 1 segno clinico minore e con un <i>addensamento osseo alla TC limitato al solo processo dento-alveolare*</i> della mandibola o del mascellare, con o senza altri segni radiologici precoci.</p> <p>Segni clinici minori e sintomi: ascesso odontogeno, asimmetria mandibolare, esposizione ossea, fistola mucosa, mobilità dentale a rapida insorgenza, mancata riparazione mucosa alveolare post-estrattiva, parestesia/disestesia delle labbra, trisma, tumefazione dei tessuti molli.</p> <p>Segni TC: <i>ispessimento trabecolare, osteosclerosi midollare focale</i>, con o senza ispessimento cresta alveolare e lamina dura, persistenza alveolo post-estrattivo, slargamento spazio parodontale.</p> <p>a. asintomatica b. sintomatica (presenza di dolore e suppurazione)</p>
<p>Stadio 2</p>	<p>MRONJ DIFFUSA: in presenza di almeno 1 segno clinico minore e con un <i>addensamento osseo alla TC esteso anche al processo basale</i> della mandibola o del mascellare, con o senza segni radiologici tardivi.</p> <p>Segni clinici minori e sintomi: come per stadio 1.</p> <p>Segni TC: <i>osteosclerosi diffusa</i>, con o senza fistola oro-antrale e oro-nasale, ispessimento del canale alveolare, reazione periostale, sequestro, sinusite.</p> <p>a. asintomatica b. sintomatica (presenza di dolore e suppurazione)</p>
<p>Stadio 3</p>	<p>MRONJ COMPLICATA: come in stadio 2, in presenza di uno o più dei seguenti:</p> <p>Segni clinici minori: fistola extraorale, fuoriuscita di liquidi dal naso, mobilità preternaturale della mandibola con o senza occlusione conservata.</p> <p>Segni TC: Frattura patologica, osteolisi estesa al seno mascellare, osteosclerosi di zigomo e/o palato duro</p>

Tab 2. Stadiazione clinico-radiologica ONJ

Mentre allo Stadio 0 le indicazioni dell'AAOMS sono di tipo farmacologico a base di somministrazione di antidolorifici e antibiotici, le linee guida di SICMF-SIMPO allo stadio 1 indicano l'intervento chirurgico.

Ad oggi l'attenzione nei confronti di pazienti a rischio di osteonecrosi da BF riscontra un'attenzione sempre più accurata, dovuta al gran numero di dati raccolti negli anni, i quali hanno permesso agli esperti in materia di affinare tecniche sempre più in accordo ed efficaci e immediate nella cura e soprattutto nella prevenzione di tale problematica, contrastando anche i numerosi dubbi e critiche mossi negli anni precedenti. Inoltre una maggiore sensibilità in materia ha promosso l'avvio di numerosi canali di divulgazione

e informazione accessibile a tutti al fine di promuovere e favorire il successo nelle tecniche e terapie relative all'ambito di interesse.

4.1. Epidemiologia

Gli studi epidemiologici hanno il fine di valutare l'associazione tra l'uso dei farmaci bifosfonati e l'osteonecrosi dei mascellari. La stima epidemiologica dell' ONJ si misura attraverso i dati in letteratura e per tale motivo non è in grado di fornire un dato univoco riguardo l'incidenza che può variare dallo 0,83% allo 11,9%, con netta tendenza all'aumento. È stata quindi riscontrata un'incidenza di 1 caso ogni 100.000 pazienti trattati con farmaci bifosfonati assunti per via orale e dello 0,83-11,9% per i farmaci bifosfonati somministrati per via endovenosa, i quali mostrano una maggiore efficacia terapeutica (Fresco et al., 2006; Lam et al., 2007). È stata riscontrata una maggiore incidenza nei soggetti femminili con rapporto 2:1, probabilmente dovuta all'assunzione di farmaci bifosfonati per trattare l'insorgenza dell'osteoporosi dopo il periodo di menopausa o il cancro alla mammella.

Generalmente l'insorgenza si aggira intorno ai 55 età, ma sono stati riscontrati anche dei casi di osteonecrosi in soggetti aventi 40 anni. Questo implica che l'insorgenza dell'osteonecrosi non è strettamente correlata con l'avanzare dell'età. Le patologie che più frequentemente si associano all'osteonecrosi sono: il cancro alla mammella, il mieloma multiplo e la malattia di Paget. Il cancro alla mammella e il mieloma multiplo

costituiscono la patologia pregressa di più dell'80% dei pazienti (41.7-52.1% per il mieloma e 39.4-42% per il cancro della mammella). Da una stima condotta in Australia, nel 2005-2006 la prevalenza di ONJ varia tra 1,1% e 7,8% nei pazienti oncologici, tra 0.26% e 2,1% per i pazienti affetti dal morbo di Paget, tra 0.02% e 0.25% per i pazienti osteoporotici (Grafico 1).

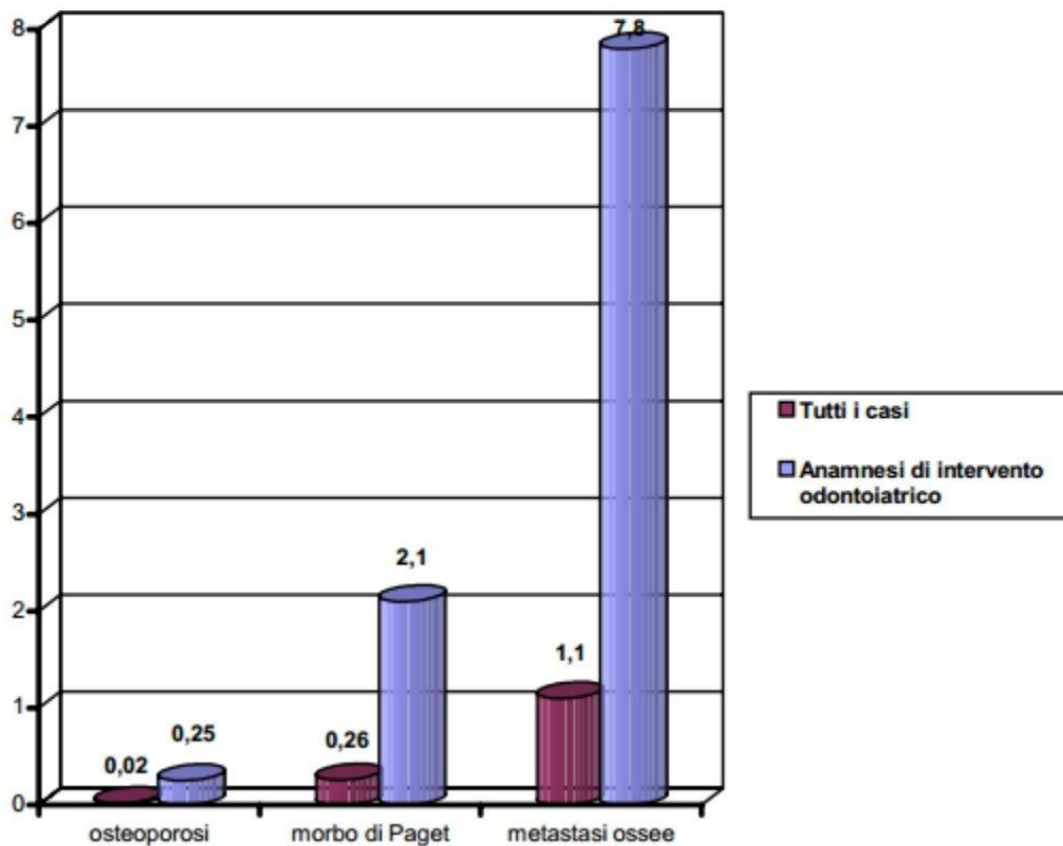


Grafico 1. Frequenza di MRONJ rilevata dall'Osservatorio di farmacovigilanza in Australia negli anni 2005-2006. E' riportata anche l'incidenza di MRONJ della

sottopopolazione in cui vi era associazione tra insorgenza di MRONJ e intervento odontoiatrico.

La correlazione tra cancro alla mammella e mieloma multiplo è strettamente connesso al tipo di trattamento farmacologico necessario alla patologia. Vengono infatti somministrati farmaci come il *pamidronato* e il *zoledronato* per via endovenosa che, oltre ad essere della famiglia dei bifosfonati, costituiscono l'associazione più frequente di ONJ (Tabella 1).

VARIABILE	PAZIENTI
Diagnosi primaria	
Mieloma multiplo	171 (46,5)
Carcinoma mammario metastatico	143 (38,8)
Carcinoma della prostata metastatico	23 (6,2)
Osteoporosi	15 (4,1)
Altre neoplasie metastatiche†	13 (3,5)
Morbo di Paget dell'osso	3 (0,8)
Totale	368 (100)
Tipo di bisfosfonati	
Acido zoledronico	124 (35)
Pamidronato	110 (31)
Pamidronato e acido zoledronico	100 (28)
Alendronato per via orale	15 (4,2)
Alendronato e acido zoledronico	2 (0,6)
Risedronato per via orale	1 (0,3)
Ibandronato per via orale	1 (0,3)
Ibandronato e acido zoledronico	1 (0,3)
Pamidronato, acido zoledronico e alendronato	1 (0,3)
Totale	355 (100)
Bisfosfonati per via endovenosa, non specificati	13
Pazienti con osteoporosi	15
In terapia con alendronato	13 (87)
In terapia con risedronato	1 (7)
In terapia con alendronato e acido zoledronico	1 (7)

Tab 1. Diagnosi primaria e tipo di BPs utilizzati in casi segnalati di osteonecrosi

In molti casi di MRONJ vi è stato il passaggio da un BPs a un altro più potente, come lo *zoledronato*, per cui l'associazione con un singolo farmaco è di difficile definizione. Nel complesso il 94% dei casi di MRONJ da BPs è risultato associato allo *zoledronato* ed al *pamidronato* o alla combinazione dei due (Weitzman, 2007).

Nel 2003 l'*aledronato* è stato il 19° farmaco maggiormente impiegato nel mondo e negli ultimi anni si sono probabilmente superati i 190 milioni di prescrizioni mondiali di BF orali. Nel 2005 2,8 milioni di pazienti oncologici sono stati trattati con BF ev e l'*acido zoledronico* viene somministrato annualmente in Italia a oltre 300.000 pazienti oncologici, con un aumento di prescrizione del 18% fra il 2003 e il 2005. Le marcate differenze nell'incidenza di MRONJ tra i pazienti oncologici e quelli che utilizzano i BPs per la terapia di altre patologie è dovuto fondamentalmente a differenti caratteristiche farmacologiche/farmacodinamiche in correlazione tra patologia di base e farmaco da assumere, il tipo di posologia prescritta (dose e via di somministrazione) e relative risposte individuali diverse

I farmaci assunti dai pazienti oncologici hanno differenti principi attivi e dosaggi rispetto a quelli che utilizzano BPs. Nei pazienti oncologici possono presentarsi ulteriori fattori di rischio rappresentati dalle concomitanti chemioterapie e da una aumentata suscettibilità alle infezioni. I pazienti con metastasi ossee sono

comunemente trattati con zoledronato o sono passati dal trattamento con pamidronato a quello con zoledronato. Lo zoledronato è somministrato 4mg/mese nei pazienti oncologici, mentre nei pazienti affetti da osteoporosi, è somministrato 4mg/anno. Ciò giustifica la bassa incidenza annua di BRONJ (1/100000) in questi ultimi. Inoltre il trattamento di prevenzione dell'osteoporosi viene effettuato mediante somministrazioni per via orale di BPs, mentre il rischio di sviluppare BRONJ è sicuramente superiore per i pazienti in trattamento con BPs per via endovenosa. Un'altra variabile ampiamente analizzata in letteratura è stata la durata del trattamento con BPs e la dose cumulativa di farmaco assunto. Il rischio di sviluppare MRONJ aumenta progressivamente con il numero di dosi assunte e ciò è determinato dalla lunga emivita del farmaco stesso. La media di insorgenza varia dai 9 ai 14 mesi, anche se è stata riportata la comparsa di lesioni dopo soli 4 mesi di trattamento con zoledronato. Il rischio cumulativo è pari all'1% nel primo anno e sale al 21% dopo tre anni per i pazienti trattati con zoledronato. Diversamente il rischio cumulativo nei pazienti trattati con pamidronato è 0% nel primo anno e 4% dopo tre anni (Bertoldo, 2007). La MRONJ presenta incidenza diversa in relazione alla patologia di base del paziente. Questa inoltre è fortemente condizionata dalle diverse prognosi di vita di ogni singola patologia, che porta alcuni pazienti ad essere esposti a maggiori dosi cumulative di farmaco. Per questa ragione analizzando i soggetti affetti da ONJ si ha una prevalenza maggiore (55.9%) nel mieloma multiplo, seguita da carcinoma mammario (33,4%), carcinoma prostatico (4,6%) e osteoporosi (2.5%). (Grafico 2)

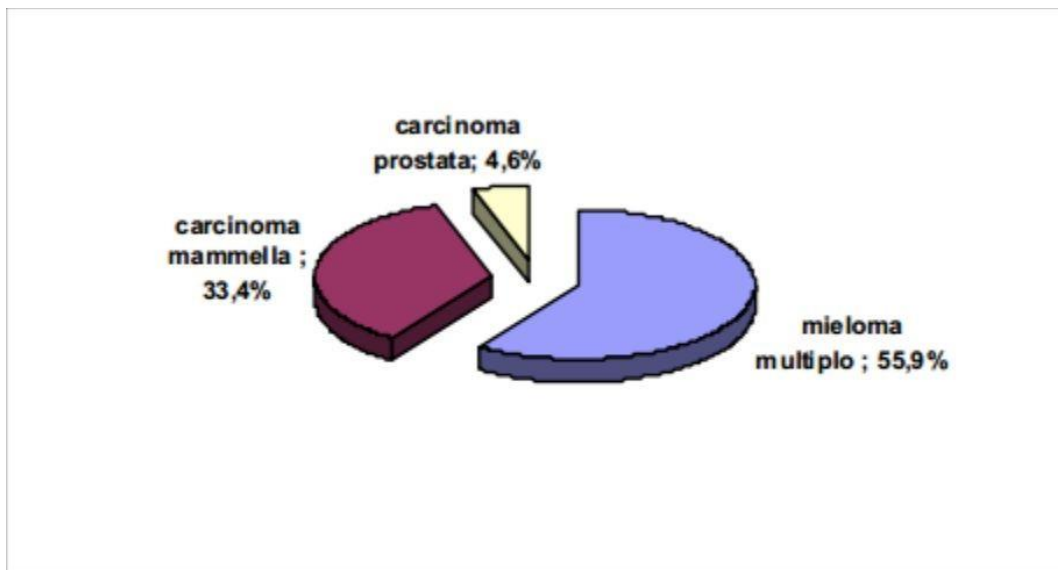


Grafico 2. Distribuzione per tipo di neoplasia dei casi di MRONJ riportati in letteratura. Fonte: Mavrokokki T et al J Oral Maxillofacial Surgery 2007; 415-423

Il paziente con mieloma, diversamente da altre patologie neoplastiche, è maggiormente a rischio di processi infettivi anche a livello dentario, per via di un ingente e frequente assunzione di steroidi, immunosoppressori e farmaci antiangiogenici, come la talidomide. Va tuttavia ricordato che la compresenza di alcuni fattori di rischio ben identificati, come per esempio il diabete o la terapia steroidea o una importante patologia endorale, può incidere sul rischio di MRONJ anche se il paziente non ha neoplasie. Le lesioni interessano prevalentemente la mandibola (65%); il mascellare superiore è interessato nel 26% dei casi ed in alcuni casi sono state descritte lesioni interessanti entrambi i mascellari (9%). Lesioni

multifocali o bilaterali sono più frequenti nel mascellare superiore rispetto alla mandibola

4.2 I fattori di rischio della MRONJ

I fattori di rischio dipendono da numerose variabili, sono molteplici, possono essere suddivisi in *sistemici* e *locali*. I fattori di rischio *sistemici* costituiscono quella serie di variabili legate al paziente: età, sesso, patologie, etnie, fattori genetici. Rientrano in questa categoria i fattori che non dipendono dalla volontà umana, e che non possono essere modificati. Come detto in precedenza, l'incidenza della malattia di base per la quale si rende necessaria la terapia con BF ha una frequenza maggiore nelle donne (3:2) ed è legata a malattie quali il carcinoma mammario e l'osteoporosi. L'età d'insorgenza descritta in letteratura è piuttosto variabile, dai 37 agli 85 anni, con un picco nella fase intorno ai 60/65 anni. Si può sicuramente supporre che in questa fase d'età subentrano altre patologie per cui il soggetto è costretto a ricorrere all'uso di diversi farmaci, peggiora lo stato della dentatura, aumenta l'incidenza di protesi amovibili, e vi è minore accesso alla prevenzione odontoiatrica (Ruggiero et al., 2006; Bertoldo et al., 2007; Magremanne et al., 2006).

Per quanto riguarda l'ambito patologico, nei pazienti oncologici i principali rischi di fattori sistemici sono legati alle chemioterapie antitumorali e dalla terapia corticosteroidica e dalla terapia con farmaci ad attività anti-neoangiogenetica. Lo stato

di immunodepressione e l'aumento della suscettibilità a mucositi batteriche e micotiche è una conseguenza che si riscontra spesso nelle terapie antitumorali. Il rischio di ONJ tra i pazienti di cancro arruolati negli studi clinici e assegnati ai gruppi placebo varia dallo 0% al 0,019 % (0-1,9 casi per 10.000 pazienti oncologici (Mauri et al., 2009; Qi et al., 2014). Tra i pazienti affetti da cancro esposti a zolendronato e a denosumab invece, il rischio varia tra 50-100 volte superiore rispetto ai pazienti con tumore trattati con placebo (Fizazi et al., 2011; Henry et al., 2011). Dall'elaborazione dei dati provenienti dall'*International Myeloma Foundation* effettuata su 1203 pazienti, di cui 904 con mieloma multiplo e 299 con carcinoma mammario, si evince che il 7% dei pazienti con mieloma e il 4% con metastasi ossee avevano sviluppato ONJ, e il 6% e l'8% avevano sviluppato solo lesioni iniziali o segni clinici potenzialmente compatibili con necrosi ossea (Kyle et al., 2007). Alcuni autori hanno ipotizzato la maggior incidenza di ONJ nei pazienti affetti da mieloma proprio nella patogenesi della malattia di base (Delibasi et al., 2006). A questi fattori vanno a sommarsi fattori propri legati all'età, malnutrizione, affezioni cardiovascolari, diabete (58% dei pazienti in terapia con BF mostrano osteonecrosi con maggiore incidenza rispetto ai non diabetici), abuso di alcool, tabagismo ed obesità. Il fumo di sigaretta evidenzia delle notevoli ripercussioni a livello sistemico, in particolar modo gli agenti tossici determinano un ritardo nel processo di guarigione delle ferite e delle mucose del cavo orale. La nicotina causa vasocostrizione a livello osseo ed è pertanto coinvolta nel meccanismo patogenetico.

Esistono inoltre numerose segnalazioni di ONJ insorte in pazienti con patologie vascolari e renali che, al pari del diabete, sono alla base di un'alterata circolazione dell'osso e dei tessuti molli di rivestimento. I fattori di rischio *locali* sono rappresentati da tutti i processi infettivi del cavo orale come: malattie orali (mucositi, gengiviti, parodontiti), interventi odontoiatrico-chirurgici invasivi e cofattori anatomici e generali. Nelle cosiddette "forme spontanee" si riscontrano parodontopatie nel 84% dei pazienti, carie dentarie nel 28,6%, ascessi dentari nel 13,4%, trattamenti endodontici incompleti nel 10,9%, esostosi (tori palatini e mandibolari) nel 9,2% dei casi. Mucositi, gengiviti e parodontiti sono frequentemente riscontrabili nei pazienti che assumono farmaci antitumorali a causa dello stato di immunodepressione e dell'alterata microflora batterica. Frequentemente questi pazienti presentano colonizzazione subgengivale da parte di patogeni responsabili della malattia parodontale. In particolare la progressione della malattia parodontale è stata associata a specifici batteri parodontopatogeni come: *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis* ed alcune forme di spirochete (Horz and Conrads, 2007).

Molte ONJ sono considerate conseguenza di estrazioni dentarie e la chirurgia dento-alveolare rappresenta un importante fattore di rischio. Alcuni studi dimostrano come l'estrazione dentaria, specie nei pazienti oncologici esposti a *zolendronato* (con un rischio maggiore di 16 volte), sia il fattore scatenante (Fehm et al., 2009; Vahtsevanos et al., 2009; Saad et al., 2012).

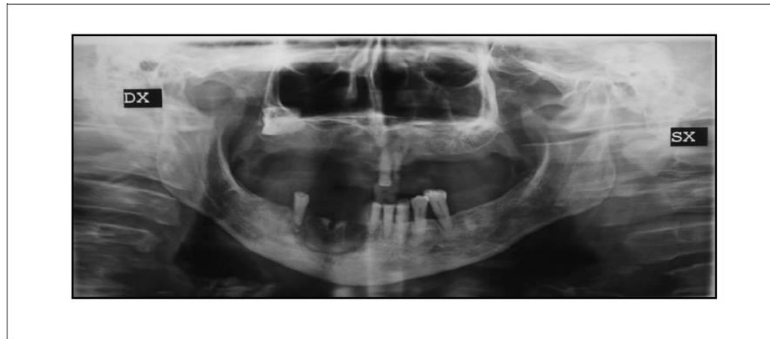
Il rischio di sviluppare ONJ tra i pazienti che sono stati esposti ai farmaci antiassorbimento per altre operazioni dento-alveolari, quali il posizionamento dell'impianto dentale e procedure endodontiche o parodontali è sconosciuto. In assenza di dati, il Comitato ritiene il rischio di ONJ dopo tali interventi che richiedono l'esposizione e la manipolazione delle ossa paragonabile al rischio associato all'estrazione dentale.

Per quanto riguarda i fattori genetici alcuni studi suggeriscono l'esistenza di una linea germinale sensibile ai BPs. Il position paper indica la presenza di alcuni rapporti che descrivono polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs) associati con lo sviluppo MRONJ. La maggior parte di questi SNP si trovavano all'interno delle regioni del gene associato al turnover osseo e alla formazione di collagene o di alcune malattie metaboliche dell'osso. Katz (Katz et al., 2011) ha riportato un tasso di eventi ONJ del 57 %, quando i SNP erano presenti in 5 geni dei candidati, responsabili per turnover dell'osso. Lo studio del 2011 di Marini (Marini et al., 2011) analizza come i polimorfismi legati alla attività di farnesil difosfato sintasi (un enzima specifico inibito dai BPs) abbiano una correlazione positiva stabilita con lo stato di portatore e ONJ.

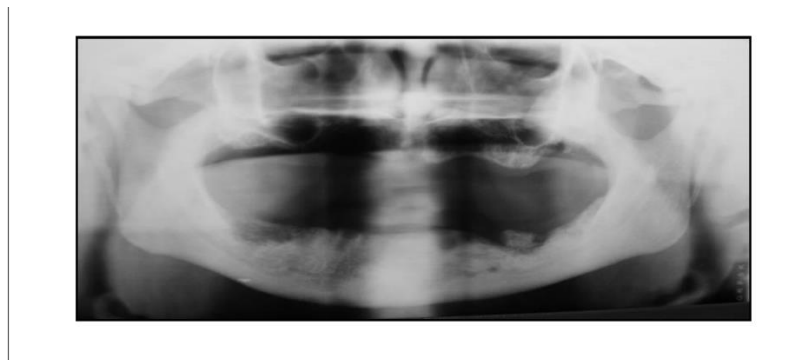
In ultimo, in un ampio studio sul genoma condotto nel 2012 da Nicoletti (Nicoletti et al., 2012), sono stati riportati pazienti con un SNP nel gene RBMS3 (associata con la densità ossea e la formazione di collagene) che avevano una probabilità di 5,8 volte maggiore di sviluppare ONJ.

4.3 Criteri radiologici e stadiazione della MRONJ

Nonostante la diagnosi di ONJ sia puramente clinica, si necessita dell'analisi radiologica per conferma del sospetto diagnostico. Le tecniche di imaging che oggi la medicina dispone permettono di analizzare al meglio gli aspetti morfologici e funzionali delle lesioni ossee. Le tecniche di analisi morfologica comprendono: OPT (ortopantomografia), TC (tomografia computerizzata), RM (risonanza magnetica); quelle di analisi metabolica-funzionale sono: scintigrafia e PET (tomografia ad emissione di positroni). Le tecniche utilizzate come screening iniziale sono l'ortopantomografia (OPT) e la scintigrafia, mentre la tomografia assiale computerizzata (TC) o la risonanza magnetico nucleare (RM) vengono impiegate per la pianificazione chirurgica avanzata e in casi complessi che richiedono ulteriori diagnosi differenziali. L'OPT è la tecnica attualmente più utilizzata in campo clinico per efficienza, rapidità e costi economici avente come limite la bidimensionalità dell'immagine. Permette di avere una visione globale del cavo orale, di effettuare diagnosi differenziale, di analizzare la struttura trabecolare della midollare ossea e la presenza di aree di fibrosi midollare, ed è estremamente utile nella fase preventiva permettendo di individuare dei foci osteonecrotici.



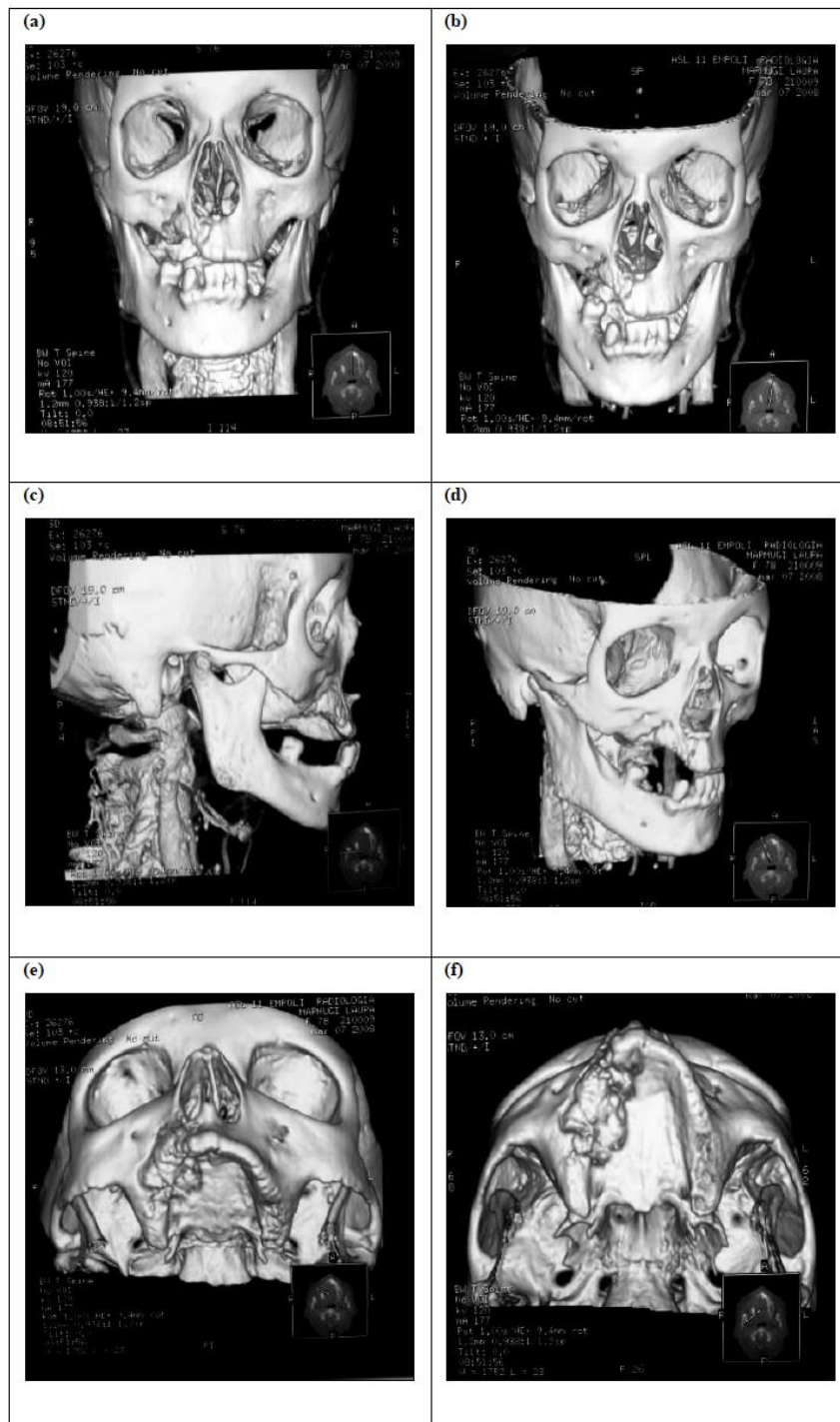
L'OPT evidenzia una estesa area di necrosi localizzata in sede post-estrattiva di 4.2 e 4.3, è evidente un orletto radiotrasparente che demarca i limiti della lesione



Paziente totalmente edentula con sequestro osseo localizzato in sede mandibolare sinistra

La TC è una tra le tecniche di indagine morfologica di livello più avanzato che permette di identificare con cura le alterazioni presenti all'interno del tessuto osseo dei mascellari. La TC è in grado di superare i limiti dell'OPT, di fornire eccellenti immagini anatomo-topografiche delle strutture, dei margini e l'estensione delle lesioni. Le lesioni osteonecrotiche possono apparire come aree di osteolisi o di osteosclerosi in relazione allo stadio della malattia. Le zone ad alta densità caratterizzano le aree di necrosi, quelle di osteolisi sono caratteristiche di lesioni infette con raccolte purulente ed edema. I nuovi programmi di rielaborazione tridimensionale dell'immagine permettono di effettuare un accurata pianificazione pre-operatoria e risultano estremamente utili per il chirurgo. Tuttavia la diagnosi differenziale tra osteolisi benigna o secondaria a metastasi

è difficile da condurre con l'utilizzo della TC.

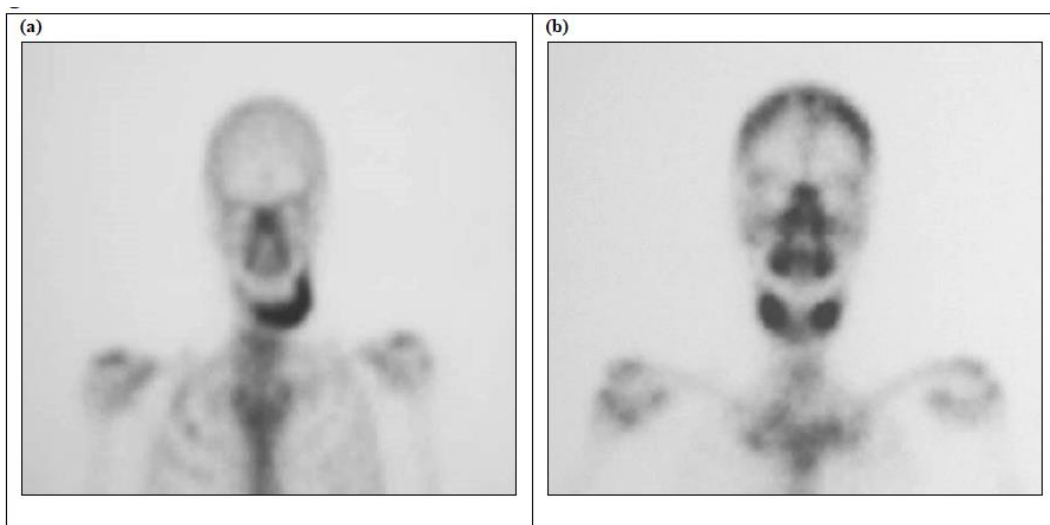


Immagini TC con ricostruzione tridimensionale di lesioni necrotica in zona mascellare sup dx:
(a-b) visioni frontali, la lesione si estende cranialmente fino ad interessare la porzione inferiore dell'apertura piriforme; **(c-d)** visione sagittale e laterale; **(e-f)** visioni coronali che evidenziano l'interessamento del palato duro da parte della lesione necrotica.

La RM è stata utilizzata in ambito odontoiatrico principalmente per la valutazione clinica delle articolazioni temporo-mandibolari e per lo studio dei tessuti molli. I sequestri ossei appaiono come aree ipointense a contorni ben definiti. I maggiori vantaggi della RM sono la possibilità di analizzare i tessuti limitrofi e la possibilità di diagnosticare l'osteomielite in fase precoce.

La scintigrafia ossea con tecnezio 99 (^{99}Tc) è altamente sensibile nell'individuare aree ad elevato rimodellamento osseo ma presenta il limite di avere una bassa specificità (Figura 4). Le tecniche di imaging funzionale che utilizzano radio farmaci oncotropici come il ^{99}Tc -sestamibi, sono in grado di differenziare l'osteonecrosi indotta da bifosfonati dalla infiltrazione tumorale associata al mieloma multiplo, evitando di ricorrere a biopsie ossee che possono determinare progressione delle lesioni in seguito al trauma chirurgico (Chiandussi et al., 2006; Rizzoli et al., 2008).

La PET è una tecnica altamente sensibile e in grado di individuare l'osteomielite (acuta e cronica) già in fase iniziale. Le cellule infiammatorie come i neutrofilii ed i macrofagi attivati, captano il radiofarmaco (^{18}F -fluorodesossiglucosio) in funzione del loro metabolismo, evidenziando le lesioni come zone di accumulo. Le tecniche ibride di sovrapposizione PET/TC integrano immagini funzionali con quelle morfologiche. Queste sono in grado di localizzare con maggiore precisione le lesioni osteonecrotiche, che appaiono intensamente ipercaptanti a causa dei processi infettivi e del tentativo di guarigione (Arce et al., 2009). Il *Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws* dell'AAOMS (*American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*) classifica le lesioni da osteonecrosi in quattro stadi (*Tabella 1*).



Immagini scintigrafiche con ^{99}Tc di lesioni osteonecrotiche:

(a) estesa area di ipercaptazione interessante l'emimandibola di sinistra; (b) lesione mandibolare bilaterale.

MRONJ STADI †	STRATEGIE DI TRATTAMENTO ‡
CATEGORIE A RISCHIO: Assenza di apparente osso necrotico in pazienti che sono stati trattati con BPs sia per via orale che ad infusione endovena	<ul style="list-style-type: none"> • Nessun trattamento indicato • Educazione del paziente
STADIO 0: Assente evidenza clinica di osso necrotico, ma ritrovi clinici, alterazioni radiografici e sintomi non- specifici	<ul style="list-style-type: none"> • Gestione sistemica, incluso l'uso di antidolorifici e antibiotici
STADIO I: Esposizione di osso necrotico, o sondaggio dell'osso tramite fistola, in pazienti asintomatici senza evidente infezione	<ul style="list-style-type: none"> • Sciacqui orali antibatterici • Follow –up clinico su base trimestrale • Educazione del paziente e rivisitazione delle indicazioni per continuare la terapia con i PBs
STADIO II: Esposizione di osso necrotico o sondaggio dell'osso tramite fistola, associato all'infezione evidenziato dal dolore ed eritema nella regione dell'osso esposto con o senza drenaggio purulento	<ul style="list-style-type: none"> • Trattamento sintomatico con antibiotici per os • Sciacqui antibatterici orali • Controllo del dolore • Debridement (sbrigliamento) per controllare l'infezione e alleviare l'irritazione del tessuto molle
STADIO III: Osso necrotico esposto o fistola con sondaggio fino all'osso in pz con dolore, e uno o più dei seguenti: osso necrotico esposto che si estende oltre la regione dell'osso alveolare (cioè, bordo inferiore e ramo della mandibola, seno mascellare e zigoma nel mascellare) con risultato di fratture patologiche, fistole extra-orali, comunicazione oro-antrali/oro-nasali, o osteolisi con estensione fino al bordo inferiore della mandibola o del pavimento del seno	<ul style="list-style-type: none"> • Sciacqui orali antibatterici • Terapia antibiotica e controllo del dolore • Sbrigliamento chirurgico/ resezione come terapia palliativa a lungo termine dell'infezione e del dolore

† Osso esposto o sondabile nella regione maxillo-facciale in assenza di risoluzione per più di 8 settimane in pazienti trattati con agenti anti-riassorbenti e anti-angiogenici, in assenza di terapie radiative alla mandibola/ mascella.

‡ Indipendentemente dallo stadio della malattia, sequestri ossei di segmenti mobili devono essere rimossi senza esporre l'osso non coinvolto. L'estrazione di denti sintomatici dentro l'esposizione, l'osso necrotico deve essere considerato visto che è molto probabile che l'estrazione esacerbi il processo necrotico stabilito.

Le lesioni allo stadio 0 sono caratterizzate dall'assenza di evidenza clinica di tessuto osseo necrotico, ma dalla presenza di sintomi aspecifici e reperti clinici o radiografici sospetti. Il danno subclinico della MRONJ è caratterizzato da ipocellularità e apoptosi osteoclastica, riduzione degli osteoblasti endostali e della loro produzione osteoide.

Diversi studi hanno riportato che fino al 50 % dei pazienti, dallo stadio 0 hanno progredito allo stadio I, II o III (O’Ryan et al., 2009; Fedele et al., 2010).

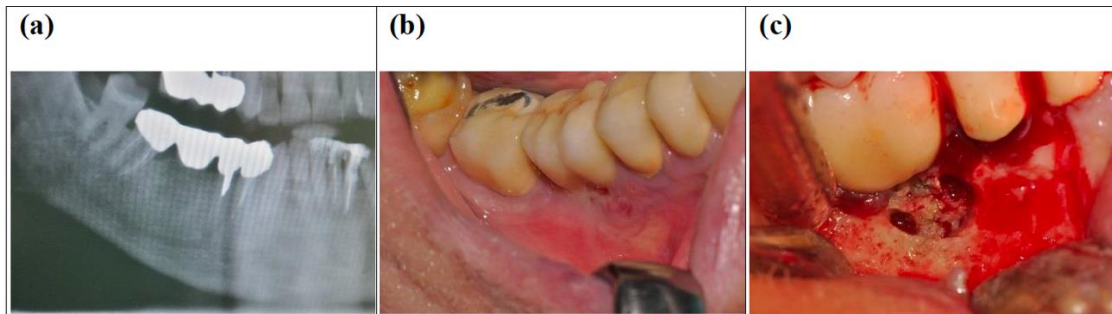
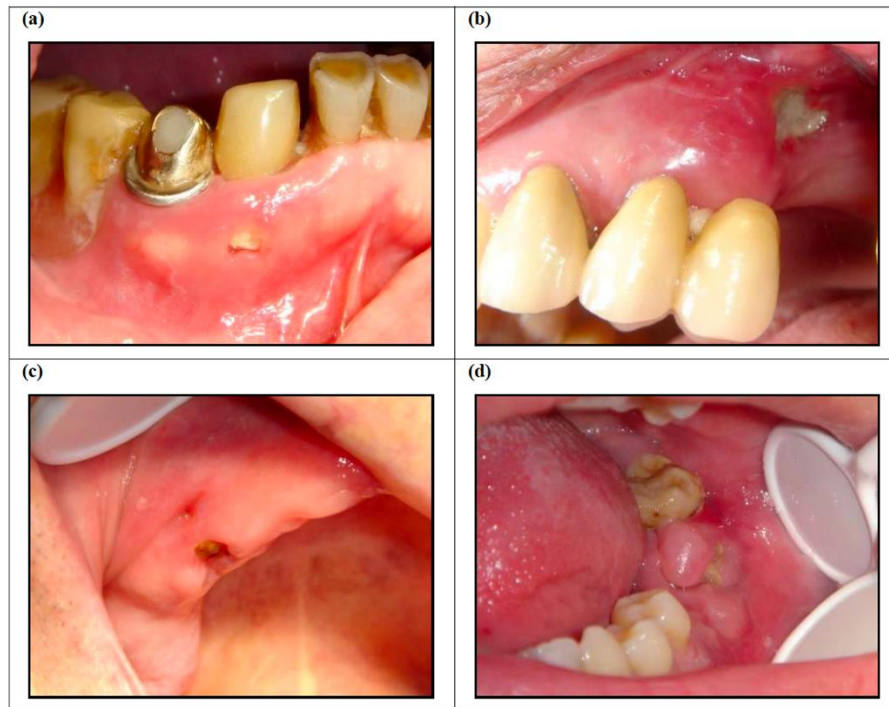


Immagine clinica di lesione osteonecrotica allo stadio 0

- (a) L'esame radiografico evidenzia area di radiotrasparenza al di sotto del manufatto protesico
- (b) Quadro clinico intraorale caratterizzato da leggero eritema della mucosa
- (c) Visione intraoperatoria dell'area di osteonecrosi.

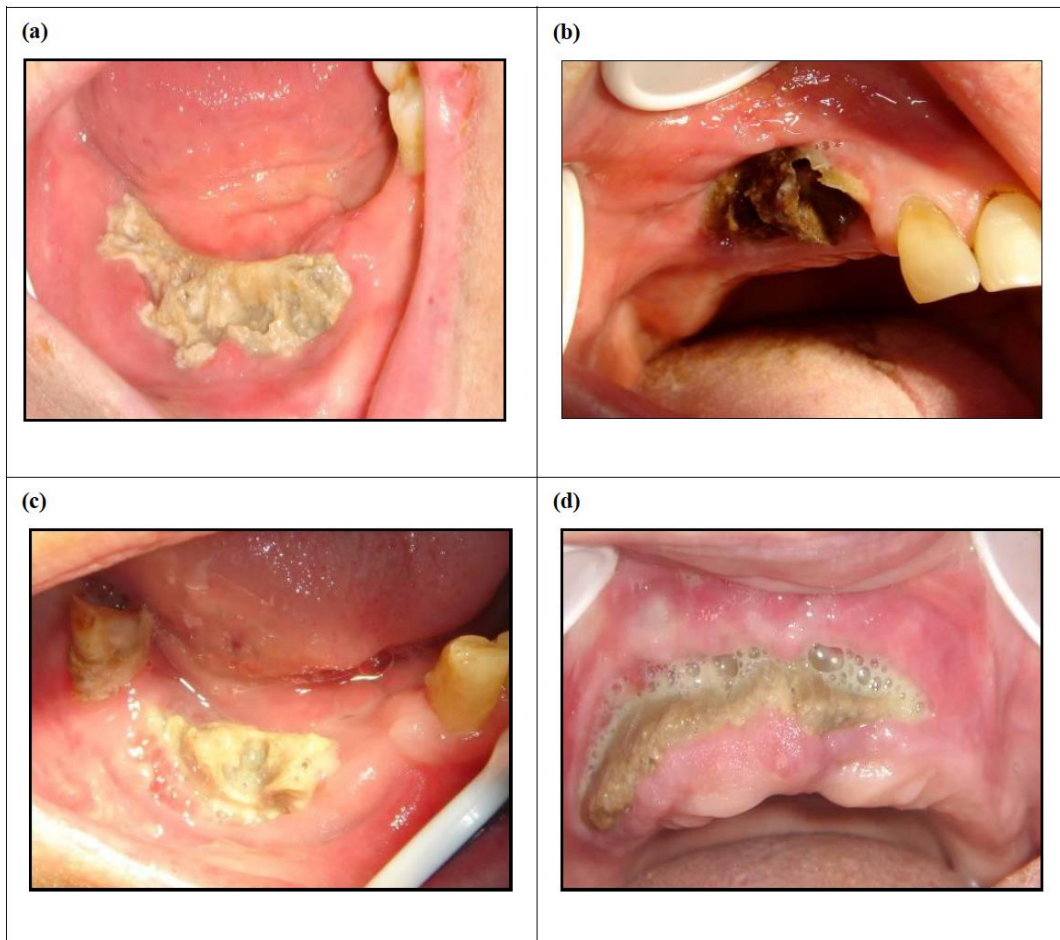
Lo stadio I è caratterizzato da lesioni osteonecrotiche con fistole che sondano all'osso e esposizione di tessuto osseo necrotico. I pazienti risultano asintomatici e privi di infezione, e possono anche mostrare reperti radiografici uguali allo stadio 0 localizzate alla regione dell'osso alveolare. Le lesioni diventano sintomatiche quando il processo flogistico aumenta ed interessa i tessuti molli vicini e la mucosa adiacente all'area di necrosi appare edematosa circondata da un orletto eritematoso.



Immagini cliniche di lesioni osteonecrotiche allo stadio I

(a-b) aree di esposizione ossea localizzata in sede vestibolare in pazienti parzialmente edentuli; (c) limitata area di esposizione ossea con fistola mucosa in paziente edentulo; (d) necrosi ossea post-estrattiva.

Nello stadio II il paziente è sintomatico. Le lesioni osteonecrotiche sono caratterizzate da esposizione di tessuto osseo necrotico o fistole che sondano all'osso con evidenti segni clinici di infezione. La superficie ossea si presenta irregolare e spesso con margini taglienti che facilmente traumatizzano i tessuti molli linguali creando delle ulcerazioni mucose estremamente dolorose. Ciò può compromettere notevolmente la capacità fonatoria e di alimentarsi di questi pazienti, compromettendo ulteriormente la loro qualità di vita. Inoltre a queste lesioni si associa molto frequentemente fetor ex-ore, che porta all'emarginazione di questi pazienti sia nelle strutture sanitarie che all'interno della famiglia stessa. L'evidenza del quadro clinico rende la diagnosi di queste lesioni semplice.



Immagini cliniche di grandi lesioni osteonecrotiche :(a) ampia area di esposizione interessante la sinfisi mandibolare e parte del corpo mandibolare di destra; (b) lesione post-estrattiva in zona 13-14, tipico aspetto bruno delle lesioni dovuto alla contaminazione micotica; (c) lesione localizzata in sede post-estrattiva di 43; (d) estesa area di necrosi ossea interessante il mascellare superiore di paziente edentula.

Le lesioni osteonecrotiche allo stadio III sono caratterizzate da esposizione di tessuto osseo necrotico, o fistole che sondano all'osso, in paziente sintomatico, con evidenti segni clinici di infezione e una delle seguenti condizioni:

- Tessuto osseo necrotico che si estende oltre l'osso alveolare vale a dire, bordo inferiore e ramo della mandibola, seno mascellare e zigomo della mascella
- Osteolisi che si estende fino al bordo inferiore della mandibola o al pavimento del seno mascellare
- Fistola extra-orale
- Comunicazione orale antrale / nasale orale
- Frattura patologica

Questo tipo di pazienti, data l'ingente entità della sintomatologia, possono presentare difficoltà nella deglutizione e nella fonazione, malessere e febbre. Il dolore è difficilmente attribuito con i comuni antidolorifici e talvolta rende necessario l'instaurazione di una terapia antalgica con farmaci ad azione centrale sul sistema nervoso.

Secondo i dati riportati in tabella l'intervento chirurgico sarebbe indicato solo in caso di osteonecrosi con stadio III, ossia osso necrotico, dolorante, con fistola. Tuttavia alcuni autori non concordano sulla classificazione proposta perchè ritenuta troppo rigida e non applicabile in maniera così sistematica a tutti i pazienti, così come basare l'indicazione al trattamento chirurgico sul solo dolore può risultare troppo riduttivo e soggettivo in quanto non si considera se in questi pazienti coesistono altre problematiche altrettanto importanti che giustificano lo stato di discomfort denunciato dal paziente. Oppure, un paziente anziano con gravi patologie di base sistemiche e un

soggetto giovane con un quadro oncologico ben stabilizzato non possono richiedere lo stesso piano di trattamento. Parimenti, a pari grado di ONJ, non si può considerare sullo stesso piano un paziente osteoporotico ed un paziente oncologico.



Lesioni osteonecrotiche con interessamento dei tessuti extra-oral

(a-b) raccolta ascessuale localizzata in regione latero-mandibolare di destra secondaria a lesione osteonecrotica in sede 43-45. **(c)** grande fistola sottomandibolare con fuoriuscita di materiale purulento; **(d)** fistole sottomandibolari; **(e)** ampia area di esposizione ossea con evidente l'interessamento del canale mandibolare; **(f)** caso b-c dopo un anno, si è creato un terzo tragitto fistoloso ed è presente abbondante essudato purulento.

5. Contributo sperimentale

Sebbene eventi come l'estrazione dentaria e la chirurgia orale siano stati considerati per un lungo periodo l'unico fattore scatenante per l'osteonecrosi delle ossa mascellari correlata a farmaci (MRONJ), riportato nel 45-61% dei casi, nel corso degli ultimi anni sono stati segnalati casi di osteonecrosi senza un apparente evento predisponente, infatti non è ancora chiaro se gli eventi scatenanti possano essere considerati fattori scatenanti che accelerano l'insorgenza della malattia che potrebbe comunque manifestarsi.

Questa ricerca, infatti, mira ad analizzare retrospettivamente i casi di MRONJ diagnosticati presso l'U.O.C. di Chirurgia Maxillo-Facciale del Policlinico "Gaetano Martino" diretta dal Prof. Francesco Saverio De Ponte (Università degli Studi di Messina) in un arco temporale pari a 14 anni (dal 2008 al 2021); concentrandosi sull'insorgenza della malattia, sui potenziali eventi scatenanti, e sulle contromisure.

Questa ricerca mira inoltre ad aggiornare le conoscenze sulla patogenesi della malattia, per la quale permangono ancora numerosi aspetti controversi. Le principali teorie hanno focalizzato la loro attenzione sugli effetti antiosteoclastici ed antiangiogenici, puntando verso l'interruzione del rimodellamento osseo e del ricambio osseo da parte dell'effetto di inibizione degli osteoclasti, o l'inibizione del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), dell'angiogenesi e della proliferazione endoteliale.

Anche l'infezione è stata a lungo considerata un fattore critico nella patogenesi dell'ONJ. Infezioni dentali o parodontali preesistenti in pazienti trattati con

antiriassorbitivi o antiangiogenici aumentano il rischio di MRONJ. Alcuni studi hanno dimostrato che le infezioni periapicali e parodontali, indipendentemente da eventuali estrazioni dentarie, possono aumentare il rischio di insorgenza della malattia perché l'infezione è responsabile della modifica del numero e della funzione degli osteoclasti. Inoltre, i reports hanno identificato effetti diretti dei farmaci antiriassorbimento sulla mucosa orale.

L'età, il sesso, l'uso di tabacco, l'uso di corticosteroidi, il cancro e la presenza di miniplacche in titanio sono considerati fattori di rischio per MRONJ. Malattie sistemiche, come l'artrite reumatoide, possono anche aumentare il rischio di MRONJ probabilmente a causa dell'uso di metotrexato. I fattori di rischio odontoiatrici includono impianti dentali, malattie parodontali e periapicali, protesi mobili con decubito inappropriato sulla mucosa orale e traumi intraorali. Anche se in letteratura manca una chiara incidenza o prevalenza di questi fattori. Questi eventi scatenanti possono essere fattori scatenanti che accelerano l'insorgenza della malattia che si sarebbe probabilmente verificata comunque.

5.1 Materiali e metodi

Un audit di pazienti con diagnosi di MRONJ che hanno frequentato il reparto di Chirurgia Maxillo-Facciale del Policlinico "G. Martino, Università degli Studi di Messina, dal 2008 al 2021, è stato condotto in conformità con le principi guida della Dichiarazione di Helsinki e conforme con le linee guida per descrivere gli studi osservazionali (STROBE). Le cartelle cliniche riguardanti la condizione oggetto di studio sono state recuperate dal database dell'ospedale. Per ogni paziente sono stati estrapolati i seguenti dati: età, sesso, sede specifica della lesione, condizione

clinica e farmaco antiriassorbimento utilizzato, e possibile evento scatenante per l'insorgenza della malattia.

5.2 Criteri di inclusione ed esclusione

Tutti i pazienti reclutati per questo studio hanno soddisfatto i seguenti criteri di ricerca: pazienti di entrambi i sessi, di tutte le età e razze, con presenza di risultati clinici coerenti con MRONJ; diagnosi istopatologica. I pazienti sono stati esclusi se i dati specifici, vale a dire la posizione della lesione o il farmaco antiriassorbimento utilizzato, non erano specificati o impossibili da recuperare dal database.

5.3 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. (IBM Corp., Armonk, New York). Le statistiche descrittive delle caratteristiche demografiche dell'intera coorte sono state espresse come media, percentuale e deviazione standard (SD); è stata eseguita anche l'analisi dei sottogruppi suddivisa per comorbidità. Il "Test del Chi Quadrato (χ^2 test)" ed il "Test Esatto di Fisher" sono stati impiegati per valutare la relazione tra i farmaci utilizzati e gli eventi scatenanti considerando sia il farmaco specifico che la sua classe (azotato/non azotato), la classe di anticorpi monoclonali non è stata inclusa nell'analisi a causa delle ridotte dimensioni del campione. χ^2 test è stato utilizzato anche per valutare qualsiasi relazione tra localizzazione di MRONJ, espressa come

localizzazione generale o sito secondario, e farmaco, classe di farmaci, trigger, o tipo di trigger.

5.4 Risultati

Sono state identificate le cartelle cliniche di 76 pazienti; 24 casi sono stati esclusi in base ai criteri di selezione. Sono stati selezionati 52 pazienti, 42 femmine e 10 maschi, con età minima di 33 ed età massima di 90 anni (media $71,8 \pm 12,5$). Questi pazienti presentavano una diagnosi di base di neoplasia metastatica maligna in 26 casi (50%) e osteoporosi in 25 casi (48,1%). E' stato riscontrato un singolo caso di osteogenesi imperfetta (1,9 %).

Per quanto riguarda il farmaco somministrato, 41 pazienti (78,8%) hanno ricevuto bifosfonati azotati, 10 pazienti (19,2%) bifosfonati non azotati ed 1 paziente (1,9%) anticorpi monoclonali. Nel dettaglio, 16 pazienti hanno ricevuto Zoledronato (30,8%), 14 pazienti Alendronato (26,9%), 10 pazienti Clodronato (19,2%), 8 pazienti Ibandronato (15,4%), 2 pazienti risedronato (3,8%), 1 paziente Neridronato (1,9%) ed 1 paziente Denosumab (1,9%).

La localizzazione mandibolare di MRONJ è risultata essere la più frequente con 35 casi (67,3%), mentre 16 casi erano localizzati nel mascellare superiore (30,8%), ed in 1 caso la malattia è stata identificata in entrambe le aree (1,9%). Il sito secondario specifico viene descritto nella *Figura 1*.

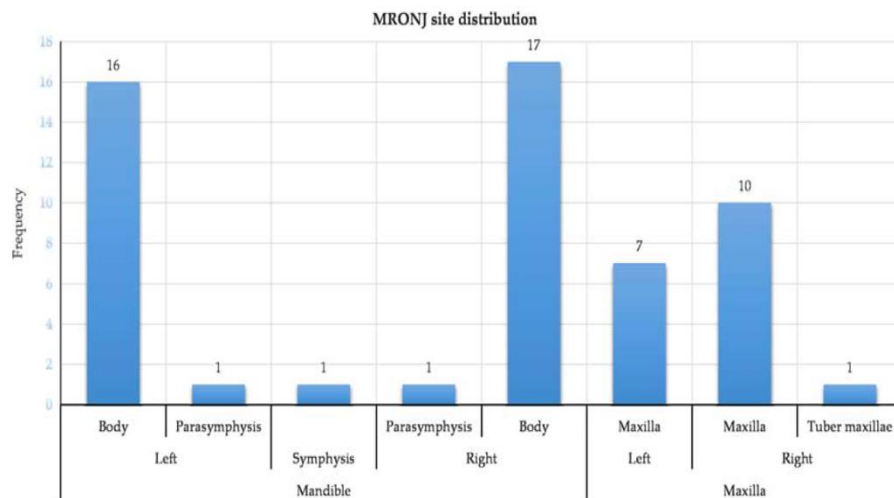


FIGURE 1. Specific localization chart of MRONJ at diagnosis. MRONJ indicates Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw.

Gli eventi trigger per l'insorgenza della malattia sono stati identificati in 35 casi (67,3%). In particolare le estrazioni dentarie in 29 casi (55,8%), ascessi dentali in 2 casi (3,8%), rimozione di impianti dentali in 2 casi ed inserimento di impianti dentali in 1 caso (rispettivamente 3,8% ed 1,9%); ed 1 caso è stato innescato da trauma mandibolare (1,9%).

L'analisi dei sottogruppi per comorbilità è stata eseguita dividendo i pazienti in 2 gruppi principali: neoplasia (26 casi) ed osteoporosi (25 casi); nell'analisi è stato escluso il singolo caso di osteogenesi imperfetta. Nel gruppo delle neoplasie, i bifosfonati azotati sono stati utilizzati in 25 casi (96,2%), mentre nel gruppo dell'osteoporosi 15 casi (60%) sono stati trattati con bifosfonati azotati e 10 casi (40%) sono stati trattati con bifosfonati non azotati (Fig. 2). Gli eventi trigger sono stati identificati in 20 casi (76,9%) nel gruppo neoplasie rispetto ai 15 casi (60%) nel gruppo osteoporosi.

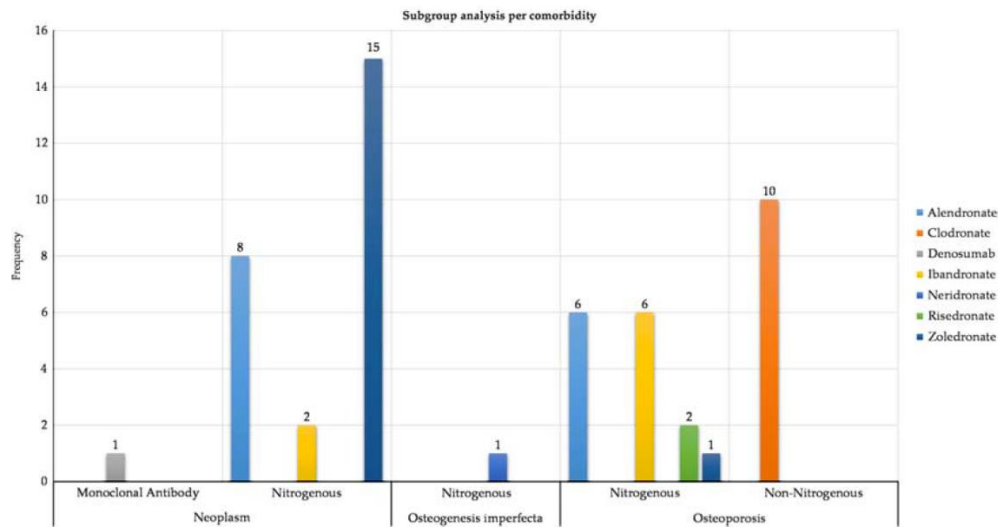


FIGURE 2. Subgroup analysis per comorbidity of the used drug.

χ^2 test ha mostrato una correlazione tra il farmaco utilizzato ed il verificarsi dell'evento scatenante ($P=0,045$) confermato dal Test Esatto di Fisher ($P=0,34$). In particolare, l'analisi dell'istogramma visivo ha mostrato una correlazione positiva quando Alendronate (12 casi, 85,7%), Zoledronate (12 casi, 75%) e Risedronate (2 casi, 100%) sono stati somministrati. Al contrario, nessun chiaro evento scatenante è stato mostrato se sono stati somministrati Ibandronate (6 casi, 75%) o Neridronate (1 caso, 100%). Per quanto riguarda il Clodronate, i risultati hanno riportato 6 casi (60%) correlati contro 4 casi (40%) non correlati a eventi scatenanti (Fig.3).

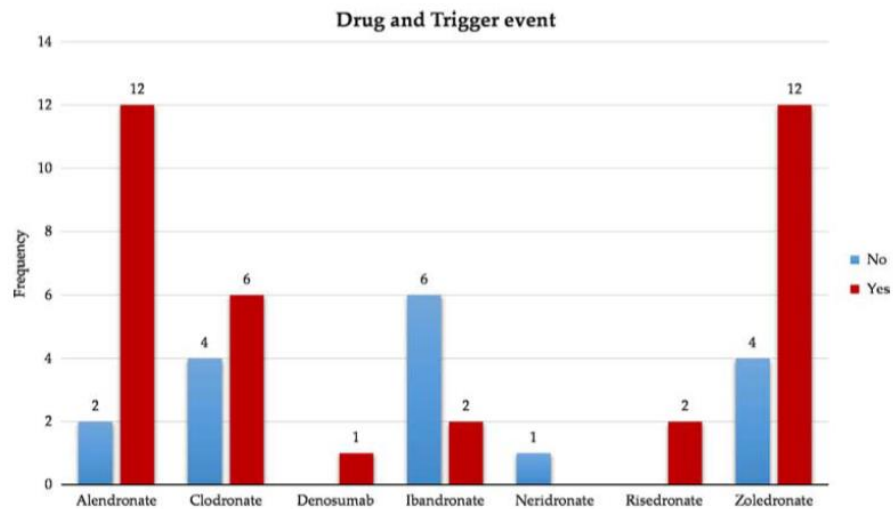


FIGURE 3. Global drug and trigger event relationship histogram.

Nessuna correlazione è stata trovata utilizzando χ^2 test tra entrambe le classi di farmaci utilizzati ($P=0,688$). Inoltre, non è stata trovata alcuna correlazione tra localizzazione di MRONJ e farmaco, classe di farmaci e trigger o tipo di trigger ($P>0,05$).

L'analisi dei sottogruppi per malattia di base, ha mostrato una correlazione significativa tra il farmaco utilizzato ed il verificarsi dell'evento scatenante nel gruppo osteoporosi (χ^2 test, $P=0,021$; Test Esatto di Fisher, $P=0,009$), mentre non è stata trovata alcuna correlazione nel gruppo delle Neoplasie (χ^2 test, $P=0,750$; Test Esatto di Fisher, $P=0,834$). Le frequenze sono dettagliate nelle figure 4 e 5.

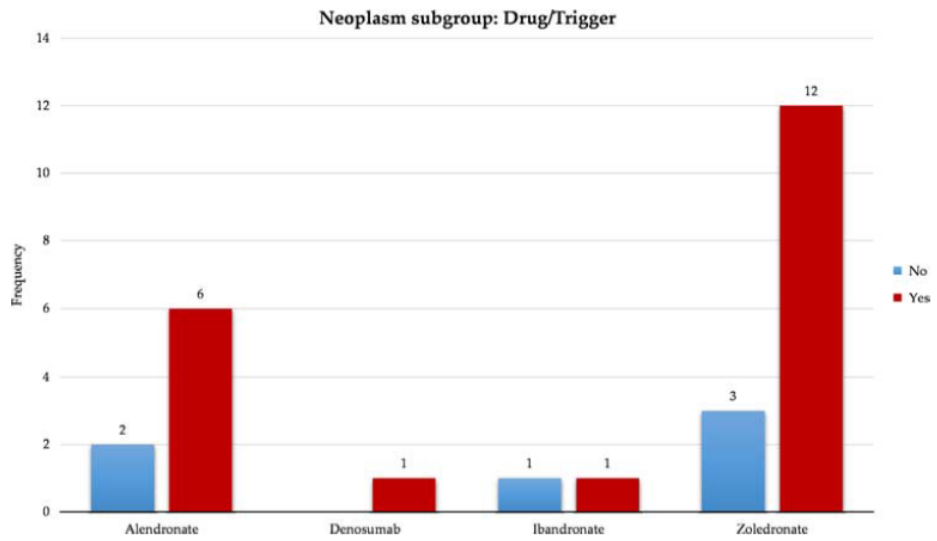


FIGURE 4. Drug and trigger event relationship histogram of the neoplasm subgroup.

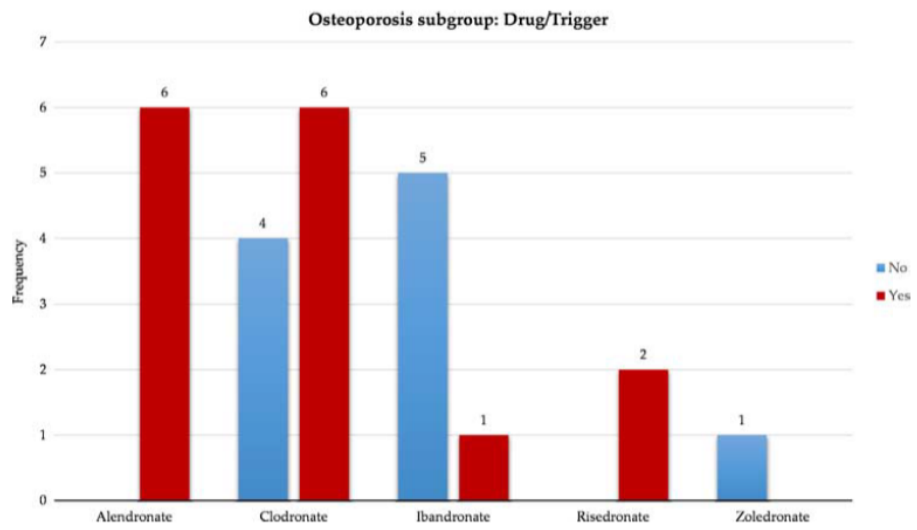


FIGURE 5. Drug and trigger event relationship histogram of the osteoporosis subgroup.

5.5 Discussioni

I risultati di questa ricerca retrospettiva mostrano come più della metà dei rapporti analizzati presso la nostra struttura riportassero una sorta di evento scatenante che ha portato il paziente a sviluppare MRONJ. Inoltre, è stata trovata una correlazione statisticamente significativa tra il farmaco utilizzato ed il verificarsi dell'evento scatenante nel gruppo osteoporosi. Questo risultato può essere spiegato dalla differenza di classe, potenza e somministrazione tra i bifosfonati. Un totale del 78,8% dei pazienti riferibili alla nostra ricerca ha ricevuto bifosfonati contenenti azoto. E' noto che questa classe di farmaci altera le capacità di difesa dei neutrofili, inibendone la vitalità e la capacità di differenziazione e compromettendone la normale guarigione delle ferite. Le implicazioni immunologiche sono state riportate anche durante la somministrazione di Rituximab, un anticorpo monoclonale anti-CD20 utilizzato per il trattamento dell'artrite reumatoide. Gli autori hanno suggerito che il Rituximab come immunosoppressore potrebbe essere la causa diretta o un altro fattore di accelerazione verso lo sviluppo di MRONJ. I bifosfonati sono anche noti per aumentare l'apoptosi e diminuire la proliferazione in numerosi tipi di cellule in vitro. E' stato riscontrato che la somministrazione di acido zoledronico ai fibroblasti gengivali orali in vitro riduce l'espressione delle proteine della matrice extracellulare, compresi i collagene I, II e III.

Per quanto riguarda gli eventi scatenanti, 29 casi su 35 erano correlati ad estrazione dentaria. Nei pazienti sottoposti a terapia con bifosfonati l'estrazione dentaria è considerata un grave fattore precipitante, pertanto è stata raccomandata una stretta limitazione di questa procedura. La patogenesi può derivare da variazioni locali del pH causate da infezione dento-alveolare o intervento chirurgico, essendo

un'ulteriore concausa responsabile dello sviluppo di MRONJ. La citochina pro-infiammatoria interleuchina 36 (IL-36) è stata trovata nel fluido crevicolare gengivale nelle malattie parodontali. In particolare IL-36 α è altamente sovraregolato nelle lesioni di MRONJ ed ha un ruolo eziologico nello sviluppo di MRONJ. E' importante sottolineare che è stato dimostrato che esiste un crosstalk tra IL-36 α e le vie di segnalazione del fattore di crescita trasformante beta (TGF- β), suggerendo che l'infezione o l'infiammazione sono fattori chiave nella patogenesi di MRONJ, almeno in parte attraverso le vie di segnalazione del fattore di crescita trasformante beta (TGF- β). L'aumento dell'espressione di TGF- β 1 e Smad 2/3 è correlato a disturbi relativi alla guarigione delle ferite dei tessuti fibroconnettivali, quindi le alterazioni delle vie di segnalazione di TGF- β 1 dopo il trattamento antiriassorbitivo potrebbero spiegare i cambiamenti associati nei tessuti della mucosa orale dei pazienti affetti da MRONJ. Pertanto, le malattie parodontali e dentali possono essere una fonte di infezione e aumentare il rischio di MRONJ, dovrebbero essere adottati protocolli terapeutici efficaci anche durante la terapia in corso. In letteratura vengono descritti diversi protocolli operativi, tra cui lembi mucoperiosteici a tutto spessore, tecniche di estrazione minimamente traumatica e profilassi antibiotica preoperatoria specifica. Nonostante sia un importante fattore prognostico anche nel trattamento post operatorio di MRONJ, l'effetto sulla guarigione della ferita dei bifosfonati, in particolare quelli azotati, non è ancora chiaro. Gli studi hanno suggerito come i lembi a tutto spessore potrebbero costituire uno stimolo infiammatorio aggiuntivo ed essere un fattore prognostico negativo, aumentando il rischio di insorgenza di MRONJ, e che la condizione infettiva sottostante, anziché l'estrazione del dente di per sé, potrebbe

essere l'evento scatenante. Pertanto, persistono preoccupazioni sulle procedure odontoiatriche invasive.

Un altro fattore scatenante emerso dai risultati è la chirurgia orale correlata agli impianti dentali registrata in 3 casi. La letteratura è carente di prove di alta qualità per quanto riguarda i profili di sicurezza del posizionamento e della gestione degli impianti nei pazienti sottoposti a terapia con farmaci antiriassorbimento o antiangiogenici. Rapporti recenti mostrano come il trattamento con bifosfonati e denosumab per l'osteoporosi non aumenti il rischio di fallimento implantare. Tuttavia il rischio di MRONJ causato dalla chirurgia implantare è ancora presente, indipendentemente dalla modalità di somministrazione o dalla condizione di base, e si deve prestare particolare attenzione durante la pianificazione dell'intervento.

Alla luce delle evidenze spesso contraddittorie presenti in letteratura, esistono chiare contromisure relative all'effetto degli eventi scatenanti? Una risposta è stata l'interruzione temporanea della terapia antiriassorbimento, cioè la sospensione del farmaco. La logica alla base di questo protocollo deriva dalla farmacocinetica dei bifosfonati e del denosumab, il primo mantiene un'emivita di 10-12 anni, mentre il secondo di 25,4 giorni. Tuttavia ad oggi non è stato raggiunto alcun consenso, poiché le linee guida e i documenti pubblicati si basano sull'opinione di esperti piuttosto che su studi prospettici; ed una revisione sistematica eseguita da Campisi e colleghi non è riuscita a fornire prove chiare sul corretto protocollo da eseguire. Uno studio randomizzato eseguito da Ottesen et al. indica che la sospensione del farmaco non previene lo sviluppo di MRONJ dopo l'estrazione chirurgica del dente e porta al declino dello stato di salute generale rispetto alla continuazione del trattamento, e che la sospensione del trattamento con denosumab non ha alcun

effetto sugli esiti di guarigione. Inoltre, a causa dei risultati della sperimentazione, gli autori hanno sollevato una questione importante per quanto riguarda le preoccupazioni etiche sui futuri studi prospettici sull'argomento.

Il VEGF è considerato un fattore critico nella patogenesi di MRONJ. Lo Zoledronato ha infatti effetti inibitori diretti sull'angiogenesi, possibilmente contribuendo allo sviluppo di MRONJ compromettendo la guarigione post operatoria. Inoltre, gli anticorpi monoclonali diretti contro i recettori VEGF, come farmaci antiangiogenici, vengono prescritti in pazienti affetti da cancro metastatico, con conseguente ischemia ed infine MRONJ. E' stato dimostrato che l'espressione del TGF- β e le vie di segnalazione correlate all'angiogenesi sono possibili vie di segnalazione compromesse in MRONJ. L'espressione alterata del VEGF è stata osservata dopo il trattamento con bifosfonati, probabilmente correlata all'espressione del TGF- β . Per affrontare questa problematica, una nuova ricerca di Sharma et al. ha valutato l'uso di un idrogel di gelatina ed acido ialuronico legato al VEGF, per sostenere la vascolarizzazione dopo l'estrazione del dente in un modello animale sottoposto a trattamento con acido Zoledronico. I risultati hanno dimostrato che l'osteonecrosi totale e l'infiltrato infiammatorio erano significativamente ridotti in presenza di VEGF e la neovascolarizzazione era significativamente migliorata prevenendo la MRONJ attraverso un meccanismo pro-angiogenico ed immunomodulatore.

Bibliografia

1. Amizuka N., Bone quality in the respect of bone matrix. Clin Calcium 2004, 14:589-93.
2. Arce, K., Assael, L.A., Weissman, J.L., Markiewicz, M.R., Imaging findings in bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws. Journal of oral and maxillofacial surgery 67, 2009, 75-84.
3. Ashcroft A.J., Davies F.E., Morgan G.J., 2003. Aetiology of bone disease and the role of bisphosphonates in multiple myeloma. The Lancet. Oncology 4, 284-292.
4. Bedogni A, Fusco V, Agrillo A, Campisi G. Learning from experience. Proposal of a refined definition and staging system for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). Oral Dis. 2012 Sep;18(6):621-3.
5. Bertoldo F., Santini, D., Lo Cascio, V., 2007. Bisphosphonates and osteomyelitis of the jaw: a pathogenic puzzle. Nature clinical practice. Oncology 4, 711-721.
6. Black G.V.: A work on special dental pathology (ed 2). Chicago: Medico-Dental publishing Co; 1915.
7. Body J.J.: Breast cancer: bisphosphonates therapy for metastatic bone disease. Clin cancer Res 2006; 12 (20 Suppl): 6258-63.
8. Body, J.J., Diel, I.J., Lichinitzer, M., Lazarev, A., Pecherstorfer, M., Bell, R., Tripathy,

- D., Bergstrom, B., 2004. Oral ibandronate reduces the risk of skeletal complications in breast cancer patients with metastatic bone disease: results from two randomised, placebo-controlled phase III studies. *British journal of cancer* 90, 1133-1137.
9. Bone H.G., Bolognese M.A., Yuen C.K., et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2149-57.
 10. Boyle, W.J., Simonet, W.S., Lacey, D.L., Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 423, 2003,337-342.
 11. Brandi M.L., Denosumab: a new therapeutic approach in the treatment of osteoporosis, *G.I.O.T*, 2010,36:268-277.
 12. Bukowski, J.F., Dascher, C.C., Das, H., Alternative bisphosphonate targets and mechanisms of action. *Biochem Biophys Res Commun* 328, 2005, 746-750.
 13. Campisi G., Bedogni A., Di Fede O., Vescovi P., Fusco V., Lo Muzio L., Osteonecrosis of the jaw related to bisphosphonates, denosumab and anti-angiogenics in cancer and osteoporotic patients: diagnosis and management, *Patologia e Medicina orale*, 2013, 81(9):566-589.
 14. Campisi G., Fedele S., Fusco V., Pizzo G., Di Fede O., and Bedogni A, Epidemiology, clinical manifestations, risk reduction and treatment strategies of jaw osteonecrosis in cancer patients exposed to antiresorptive agents, *Future Oncology*, vol. 10, no. 2, pp. 257–275, 2014.
 15. Caraglia M., D'Alessandro A.M., Marra M., Giuberti G., Vitale G., Viscomi C., Colao A., Prete S.D., Tagliaferri P., Tassone P., Budillon A., Venuta S., Abbruzzese A., The farnesyl transferase inhibitor R115777 (Zarnestra) synergistically enhances growth inhibition and apoptosis induced on epidermoid cancer cells by Zoledronic acid

(Zometa) and Pamidronate. *Oncogene* 23, 2004, 6900-6913.

16. Carter, G.D., Goss, A.N., Bisphosphonates and avascular necrosis of the jaws. *Australian dental journal* 48, 2003, 268.
17. Catterall, J.B., Cawston, T.E., Drugs in development: bisphosphonates and metalloproteinase inhibitors. *Arthritis research & therapy* 5, 2003, 12-24.
18. Chaplet M, Detry C, Deroanne C, Fisher LW, Castronovo V, Bellahcène A. Zoledronic acid up-regulates bone sialoprotein expression in osteoblastic cells through Rho GTPase inhibition. *Biochem J.* 2004 Dec 15;384(Pt 3):591-8.
19. Chiandussi S., Biasotto M., Dore F., Cavalli F., Cova M.A., Di Lenarda R., Clinical and diagnostic imaging of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws. *Dento maxillo facial radiology* 35, 2006, 236-243.
20. Coxon F.P., Benford H.L., Russell R.G., Rogers M.J., Protein synthesis is required for caspase activation and induction of apoptosis by bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol* 54, 1998, 631-638.
21. Coxon F.P., Benford H.L., Russell R.G., Rogers M.J., Recent advances in understanding the mechanism of action of bisphosphonates. *Current opinion in pharmacology* 6, 2006, 307-312.
22. Cummings S.R, San Martin J., McClung M.R., et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009;361:756-65.
23. Dannemann C., Zwahlen R., Gratz K.W., Clinical experiences with bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaws. *Swiss medical weekly* 136, 2006, 504-509.
24. Dearden W.F., Fragilitas ossium amongst workers in Lucifer match factories. *BMJ* 1899; 2:70.

25. Delibasi T, Altundag M, Kanlioglu Y, Why osteonecrosis of the jaw after bisphosphonates treatment is more frequent in multiple myeloma than in solid tumors? (letters to editor) *JOMS* 2006; 10:995-6.
26. Di Fede O., Panzarella V., Mauceri R., Fusco V., Bedogni A., Lo Muzio L., Sipmo Onj Board, Campisi G., The Dental Management of Patients at Risk of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: New Paradigm of Primary Prevention, *Biomed Res Int*, 2018
27. Dimopoulos M.A., Kastiris E., Bamia C. et al., Reduction of osteonecrosis of the jaw (ONJ) after implementation of preventive measures in patients with multiple myeloma treated with zoledronic acid, *Annals of Oncology*, vol. 20, no. 1, pp. 117-120, 2009.
28. Fedele S., Porter S.R., D'aiuto F., Aljohani S., Vescovi P., Manfredi M., Arduino P.G., Broccoletti R., Musciotto A. et al., Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *AMJ MED*, Nov 2010; 123:(11)-1060:4.
29. Fehm T., Beck V., Banys M., Lipp H.P., Hairass M., Reinert S., Solomayer E.F., Wallwiener D., Krimmel M., 2009. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw (ONJ): Incidence and risk factors in patients with breast cancer and gynecological malignancies. *Gynecologic oncology* 112, 605-609.
30. Ficarra G., Beninati F., Rubino I., Vannucchi A., Longo G., Tonelli P., Pini Prato G., Osteonecrosis of the jaws in periodontal patients with a history of bisphosphonates treatment. *Journal of clinical periodontology* 32, 2005, 1123-1128.
31. Fizazi K., Carducci M., Smith, M., Damiao R., Brown J., Karsh L., Milecki P., Shore, N., Rader, M., Wang, H., Jiang, Q., Tadros, S., Dansey, R., Goessl C., Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men withcastration-resistant

- prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet* 377, 2011, 813- 822.
32. Fleisch H. Russel R.G.G., Bisaz S., Muhlbauer R.C., Williams D.A., The inhibitory effects of phosphonates on the formation of calcium phosphates crystal in vitro and aortic a kidney calcification in vivo. *Eur j Clin Invest* 1970; 1:12-18.
 33. Fleisch H., 1998. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocr Rev* 19, 80-100.
 34. Fournier P., Boissier S., Filleur S., Guglielmi J., Cabon F., Colombel M., Clezardin P. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer Res* 62, 2002 6538-6544.
 35. Fresco R.E., Fernandez N.P. and Urizar J.M.A., Bisphosphonates and Oral Pathology II. Osteonecrosis of the jaws: Review of the literature before 2005. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2006, Vol. 11 pag. E456-E461.
 36. Gambacciani M., Levancini M., Management of postmenopausal osteoporosis and the prevention of fractures. *Panminerva Med* 2014;56;115-31.
 37. Hamrick I., Schragger S., Nye A.M., Treatment of osteoporosis: current state of the art. *Wien Med Wochenschr* 2015;165:54-64.
 38. Hellestein J.W., Marek C.L., Bisphosphonate Osteochemonecrosis (Bis-Phossy Jaw): is this Phossy Jaw of the 21st century? *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63:682-9.
 39. Hofbauer, L.C., Khosla, S., Dunstan, C.R., Lacey, D.L., Boyle, W.J., Riggs, B.L., 2000. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 15, 2-12.
 40. Horz, H.P., Conrads, G., 2007. Diagnosis and anti-infective therapy of periodontitis. *Expert Rev Anti Infect Ther* 5, 703-715.
 41. Iolascon G., Moretti A., Toro G., Osteoporosis today: diagnosis and treatment, *Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia*, 2018, 44:102-110.

42. Iolascon G., Napolano R., Gioia M., et al. The contribution of cortical and trabecular tissues to bone strength: insights from denosumab studies. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2013;10:47-51.
43. Katz, J., Gong, Y., Salmasinia, D., Hou, W., Burkley, B., Ferreira, P., Casanova, O., Langae, T.Y., Moreb, J.S., 2011. Genetic polymorphisms and other risk factors associated with bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaw. *International journal of oral and maxillofacial surgery* 40, 605-611.
44. Kendler DL, McClung MR, Freemantle N, et al. Adherence, preference, and satisfaction of postmenopausal women taking denosumab or alendronate. *Osteoporos Int* DOI 10.1007/s00198-010-1378-z Published online: 09 September 2010.
45. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in post-menopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 2009;25:72-81
46. Khan A, Morrison A, Ruggiero S. et al., "Response to Comments on "Diagnosis and Management of Osteoporosis of the Jaw: A Systematic Review and International Consensus",," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 30, no. 6, pp. 1116-1117, 2015.
47. Kyle RA, Yee G, Somerfield MR et al, American Society of Clinical Oncology 2007 Clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol* 2007; 25.
48. Lam K.D., Sando G.K.B., Holmes H.I., Evans A.W. and Clokie C. M. L. A review of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the Jaws and its management. *Jcda*, 2007, Vol. 73.
49. Landis, B.N., Dojcinovic, I., Richter, M., Hugentobler, M., Osteonecrosis of the jaws:

maxillofacial recommendations for bisphosphonate prescribers. *Journal of internal medicine* 261, 2007, 101-102.

50. Lewiecki E, et al “Continued fracture risk reduction after 12 months of romosozumab followed by denosumab through 36 months in the phase 3 FRAME (FRActure study in postmenopausal woMen with ostEoporosis) extension” ASBMR 2017; Abstract 1071. Saag K, et al “A randomized alendronate-controlled trial of romosozumab: results of the phase 3 ARCH study (Active-contRolled fraCture study in postmenopausal women with osteoporosis at High risk)” ASBMR 2017; Abstract LB-1162.
51. Lin, J.H., Chen, I.W., deLuna, F.A., 1994. On the absorption of alendronate in rats. *J Pharm Sci* 83, 1741-1746.
52. Magremanne M., Vervaeet C., Dufranse L., Declercq et al, Bisphosphonates et ostheochimionecrose maxillo-mandibulaire. *Rev Chir Maxillofac* 2006; 107:417-22
53. Marini F., Tonelli P., Cavalli L., Cavalli T., Masi L., Falchetti A., Brandi M.L., Pharmacogenetics of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw. *Frontiers in bioscience (Elite edition)* 3, 2011. 364-370.
54. Markiewicz, M.R., Margarone, J.E., 3rd, Campbell, J.H., Aguirre, A., 2005. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: a review of current knowledge. *Journal of the American Dental Association* (1939) 136, 1669-1674.
55. Marks SC, Jr. Hervey DC. The structure and development of bone; in: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA. Eds. *Principles of Bone Biology*. Academic Press, San Diego, 2001; 3-14.
56. Marx, R.E., 2003. Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 61, 1115-1117.

57. Mauri, D., Valachis, A., Polyzos, I.P., Polyzos, N.P., Kamposioras, K., Pesce, L.L., 2009. Osteonecrosis of the jaw and use of bisphosphonates in adjuvant breast cancer treatment: a meta-analysis. *Breast cancer research and treatment* 116, 433-439.
58. McLeod, N.M., Brennan, P.A., Ruggiero, S.L., 2012. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw: a historical and contemporary review. *The surgeon : journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland* 10, 36- 42.
59. Meunier PJ, et al. Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal vertebral osteoporosis: a 2-year randomized placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2060-66.
60. Meunier PJ, et al. The effects of Strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004; 350: 459-68.
61. Meunier, P.J., Vignot, E., Therapeutic strategy in Paget's disease of bone. *Bone* 17, 1995, 489S-491S.
62. Migliorati, C.A., Bisphosphonates and oral cavity avascular bone necrosis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 21, 2003, 4253-4254
63. Miles A.E. Phosphorus necrosis of the jaw: "Phossy Jaw". *Br Dent J*, 1972, 133: 203.
64. Mundy GR, Raisz LG, Cooper RA, Schechter GP, Salmon SE: Evidence for the secretion of an osteoclast stimulating factor in myeloma. *N Engl J Med* 1974; 291: 1041-6.
65. Nicoletti, P., Cartsos, V.M., Palaska, P.K., Shen, Y., Floratos, A., Zavras, A.I., Genomewide pharmacogenetics of bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: the role of RBMS3. *The oncologist* 17,2012, 279-287.
66. O'Ryan, F.S., Khoury, S., Liao, W., Han, M.M., Hui, R.L., Baer, D., Martin, D., Liberty, D., Lo, J.C., Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: bone

- scintigraphy as an early indicator. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 67, 2009, 1363-1372.
67. Pagani F, Francucci CM, Moro L. Markers of bone turnover: biochemical and clinical perspectives. *J Endocrinol Invest* 2005;28(10 Suppl):8-13.
 68. Pan, B., Farrugia, A.N., To, L.B., Findlay, D.M., Green, J., Lynch, K., Zannettino, A.C., 2004. The nitrogen- containing bisphosphonate, zoledronic acid, influences RANKL expression in human osteoblast-like cells by activating TNF-alpha converting enzyme (TACE). *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 19, 147-154.
 69. Polizzotto, M.N., Cousins, V., Schwarzer, A.P., 2006. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the auditory canal. *British journal of haematology* 132, 114.
 70. Qi, W.X., Tang, L.N., He, A.N., Yao, Y., Shen, Z., 2014. Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: a meta-analysis of seven randomized controlled trials. *International journal of clinical oncology* 19, 403-410.
 71. R. Bonacina, U. Mariani, F. Villa, and A. Villa, "Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of 282 patients.," *Journal of the Canadian Dental Association*, vol. 77, p. b147, 2011.
 72. Reginster JY et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2816-22.
 73. Reginster JY, et al. Prevention of early postmenopausal bone loss by Strontium ranelate: the randomized, two year, double-masked, dose-ranging, placebo-controlled PREVOS trial. *Osteoporos Int* 2002;13: 925-31.

74. Rizzoli, R., Burlet, N., Cahall, D., Delmas, P.D., Eriksen, E.F., Felsenberg, D., Grbic, J., Jontell, M., Landesberg, R., Laslop, A., Wollenhaupt, M., Papapoulos, S., Sezer, O., Sprafka, M., Reginster, J.Y., 2008. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment for osteoporosis. *Bone* 42, 841-847.
75. Rosenberg, T.J., Ruggiero, S., 2003. Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 61, 60.
76. Ross, J.R., Saunders, Y., Edmonds, P.M., Patel, S., Broadley, K.E., Johnston, S.R., 2003. Systematic review of role of bisphosphonates on skeletal morbidity in metastatic cancer. *BMJ (Clinical research ed.)* 327, 469.
77. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg L, Marx RE, Mehrotra B, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaws, May 2009; 67(5Suppl):2-12.
78. Ruggiero S, Gralow J, Marx RE, Hoff AO et al, Practical Guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with cancer. *Journal of oncology Practice* 2006; Vol 2 Issue 1:7-13.
79. Ruggiero S.L., Dodson T. B., and Fantasia J., American association of oral and maxillofacial surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw, *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, vol. 72, no. 10, pp. 1938–1956, 2014.
80. Ruggiero SL et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014 Oct;72(10):1938-56.
81. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosemberg TJ, Engroff SL: Osteonecrosis of the jaws

associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004 May; 61(5): 527-34.

82. Russell, R.G., Rogers, M.J., 1999. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 25, 97-106.
83. Russo L. L. ,Ciavarella D., Buccelli C. et al., Legal liability in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw, *British Dental Journal*, vol. 217, no. 6, pp. 273–278, 2014.
84. Saad, F., Brown, J.E., Van Poznak, C., Ibrahim, T., Stemmer, S.M., Stopeck, A.T., Diel, I.J., Takahashi, S., Shore, N., Henry, D.H., Barrios, C.H., Facon, T., Senecal, F., Fizazi, K., Zhou, L., Daniels, A., Carriere, P., Dansey, R., 2012. Incidence, riskfactors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 23, 1341-1347.
85. Saag KG, Petersen J, Brandi ML, et al. Romosozumab or alendronate for fracture prevention in women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2017, 377: 1417-27.
86. Santini, D., Vincenzi, B., Avvisati, G., Dicuonzo, G., Battistoni, F., Gavasci, M., Salerno, A., Denaro, V., Tonini, G., 2002. Pamidronate induces modifications of circulating angiogenetic factors in cancer patients. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 8, 1080-1084.
87. Sawatari Y, Marx RE: Bisphosphonates and bisphosphonate induced osteonecrosis. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2007 Nov; 19(4): 487-98.
88. Simpson E.L., Marrassa Martyn-St James, Jean Hamilton, Ruth Wong, Neil Gittoes, Peter Selby, Sarah Davis, Clinical effectiveness of denosumab, raloxifene, romosozumab, and teriparatide for the prevention of osteoporotic fragility fractures: A systematic review and network meta-analysis, Volume 130, January 2020, 115081.
89. Starck, W.J., Epker, B.N., 1995. Failure of osseointegrated dental implants after

diphosphonate therapy for osteoporosis: a case report. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 10, 74-78.

90. Tarassoff, P., Csermak, K., 2003. Avascular necrosis of the jaws: risk factors in metastatic cancer patients. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 61, 1238-1239.
91. Tsao, C., Darby, I., Ebeling, P.R., Walsh, K., O'Brien-Simpson, N., Reynolds, E., Borromeo, G., 2013. Oral health risk factors for bisphosphonate-associated jaw osteonecrosis. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* 71, 1360-1366.
92. Vescovi, P., Merigo, E., Meleti, M., Manfredi, M., 2006. Bisphosphonate-associated osteonecrosis (BON) of the jaws: a possible treatment? *Journal of oral and maxillofacial surgery*: 64, 1460-1462.
93. Wang J, Goodger NM, Pogrel MA. Osteonecrosis of the jaws associated with cancer chemotherapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61(9): 1104-7.
94. Woo, S.B., Hellstein, J.W., Kalmar, J.R., 2006. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Annals of internal medicine* 144,753-761.
95. Yoneda t., Hagino H., Sugimoto T. et al., “Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw: Position Paper 2017 of the Japanese Allied Committee on Osteonecrosis of the Jaw,” *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, vol. 35, no. 1, pp. 6– 19, 2017.
96. Nastro E, Musolino C, Allegra A, et al. “Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma and breast cancer”. *Acta Haematol.* 2007; 117:181-187.
97. Sacco R, Wolley J, Yates J, et al. “A systematic review of metastatic cancer presenting

in osteonecrosis of the jaws (MC-ONJ) in patients undergoing antiresorptive and/or antiangiogenic therapy for skeletal-related adverse events. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2021;131:650–659.

98. Ferretti G, Fabi A, Carlini P, et al. Zoledronic-acid-induced circulating level modifications of angiogenic factors, metalloproteinases and proinflammatory cytokines in metastatic breast cancer patients. *Oncology* 2005;69:35–43.
99. Lo Giudice G, Troiano A, Lo Faro C, et al. Is the mandibular condyle involved in medication-related osteonecrosis of the jaw? Audit of a single tertiary referral center and literature review. *Open Dent J* 2021;15:769–777.
100. Li CL, Lu WW, Seneviratne CJ, et al. Role of periodontal disease in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in ovariectomized rats. *Clin Oral Implants Res* 2016;27:1–6.
101. Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? *Bone* 2007;41:318–320.
102. De Ponte FS, Favalaro A, Siniscalchi EN, et al. Sarcoglycans and integrins in bisphosphonate treatment: immunohistochemical and scanning electron microscopy study. *Oncol Rep* 2013;30: 2639–2646
103. Nastro Siniscalchi E, Cutroneo G, Catalfamo L, et al. Immuno-histochemical evaluation of sarcoglycans and integrins in gingival epithelium of multiple myeloma patients with bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *Oncol Rep* 2010;24:129–134.
104. Nastro E, Allegra A, Oteri G, et al. Avascular necrosis of bone in leukemia and osteonecrosis of jaw by bisphosphonates. *J Oral Maxillofac Surg* 2009;67:2701–2703.

105. Qi WX, Zhao S, Chen J. Risk factors for developing osteonecrosis of jaw in advanced cancer patients underwent zoledronic acid treatment. *Future Oncol* 2019;15:3503–3511.
106. Siniscalchi EN, Catalfamo L, Allegra A, et al. Titanium miniplates: a new risk factor for the development of the bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Craniofac Surg* 2013;24:e1–e2.
107. Watanabe R. High incidence of antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw in patients with rheumatoid arthritis. *J Bone Miner Metab* 2020;38:737–738.
108. Mathai PC, Andrade NN, Aggarwal N, et al. Low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis: a potential risk factor for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *Oral Maxillofac Surg* 2018;22:235–240.
109. McGowan K, McGowan T, Ivanovski S. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaws: a systematic review. *Oral Dis* 2018;24:527–536.
110. Khominsky A, Lim M. “Spontaneous” medication-related osteonecrosis of the jaw; two case reports and a systematic review. *Aust Dent J* 2018;63:441–454.
111. Hagelauer N, Pabst AM, Ziebart T, et al. In vitro effects of bisphosphonates on chemotaxis, phagocytosis, and oxidative burst of neutrophil granulocytes. *Clin Oral Investig* 2015;19: 139–148.
112. Javelot MJ, Sergheraert J, Agbo-Godeau S, et al. Rituximab as a trigger factor of medication-related osteonecrosis of the jaw. A case report. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2020;121:300–304.
113. Simon MJ, Niehoff P, Kimmig B, et al. Expression profile and synthesis of different collagen types I, II, III, and V of human gingival fibroblasts, osteoblasts, and SaOS-2 cells after bisphosphonate treatment. *Clin Oral Investig* 2010;14:51–58.

114. Khan AA, Morrison A, Hanley DA, et al. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and inter-national consensus. *J Bone Miner Res* 2015;30:3–23.
115. Otto S, Hafner S, Mast G, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: is pH the missing part in the pathogenesis puzzle? *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68:1158–1161.
116. Kim S, Williams DW, Lee C, et al. IL-36 induces bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like lesions in mice by inhibiting TGF-beta-mediated collagen expression. *J Bone Miner Res* 2017;32:309–318.
117. Border WA, Noble NA, Yamamoto T, et al. Natural inhibitor of transforming growth factor-beta protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 1992;360:361–364.
118. Soutome S, Otsuru M, Hayashida S, et al. Relationship between tooth extraction and development of medication-related osteonecrosis of the jaw in cancer patients. *Sci Rep* 2021;11:17226.
119. Mozzati M, Arata V, Gallezio G. Tooth extraction in osteoporotic patients taking oral bisphosphonates. *Osteoporos Int* 2013;24: 1707–1712.
120. Pick E, Leuenberger N, Kuster I, et al. Evaluation of preventive treatment protocols for patients under antiresorptive therapy undergoing tooth extraction at a Swiss University Clinic. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:18.
121. Hasegawa T, Kawakita A, Ueda N, et al. A multicenter retrospective study of the risk factors associated with medication-related osteonecrosis of the jaw after tooth extraction in patients receiving oral bisphosphonate therapy: can primary wound

closure and a drug holiday really prevent MRONJ? *Osteoporos Int* 2017;28:2465–2473.

122. Shudo A, Kishimoto H, Takaoka K, et al. Long-term oral bisphosphonates delay healing after tooth extraction: a single institutional prospective study. *Osteoporos Int* 2018;29:2315–2321.

123. Heufelder MJ, Hendricks J, Remmerbach T, et al. Principles of oral surgery for prevention of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014;117:e429–e435.

124. Otto S, Troltsch M, Jambrovic V, et al. Tooth extraction in patients receiving oral or intravenous bisphosphonate administration: a trigger for BRONJ development? *J Craniomaxillofac Surg* 2015;43: 847–854.

125. Owen B, Bradley H. Is it safe to place implants in patients at risk of MRONJ? *Evid Based Dent* 2021;22:108–109.

126. Sher J, Kirkham-Ali K, Luo JD, et al. Dental implant placement in patients with a history of medications related to osteonecrosis of the jaws: a systematic review. *J Oral Implantol* 2021;47:249–268.

127. Damm DD, Jones DM. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a potential alternative to drug holidays. *Gen Dent* 2013;61:33–38.

128. Ottesen C, Schiodt M, Gotfredsen K. Efficacy of a high-dose antiresorptive drug holiday to reduce the risk of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): a systematic review. *Heliyon* 2020;6:e03795.

129. D’Amato S, Troiano A, Lo Giudice G, et al. Resective surgery versus debridement in

- stage 2 medication-related osteonecrosis of the jaw. *Appli Sci* 2021;11:8553.
130. Ottesen C, Schiodt M, Jensen SS, et al. Tooth extractions in patients with cancer receiving high-dose antiresorptive medication: a randomized clinical feasibility trial of drug holiday versus drug continuation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2022;133:165–173.
 131. Vincenzi B, Napolitano A, Zoccoli A, et al. Serum VEGF levels as predictive marker of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Hematol Oncol* 2012;5:56.
 132. Fantasia JE. The role of antiangiogenic therapy in the development of osteonecrosis of the jaw. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2015;27:547–553.
 133. Lee KH, Kim SH, Kim CH, et al. Identifying genetic variants underlying medication-induced osteonecrosis of the jaw in cancer and osteoporosis: a case control study. *J Transl Med* 2019;17:381.
 134. Ishtiaq S, Edwards S, Sankaralingam A, et al. The effect of nitrogen containing bisphosphonates, zoledronate and alendronate, on the production of pro-angiogenic factors by osteoblastic cells. *Cytokine* 2015;71:154–160.
 135. Sharma D, Hamlet S, Vaquette C, et al. Local delivery of hydrogel encapsulated vascular endothelial growth factor for the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Sci Rep* 2021;11:23371.