

Alessandria, 19 Novembre 2011



**COINVOLGIMENTO DELLA MUCOSA E DEL PROCESSO
INFIAMMATORIO NELL'OSTEONECROSI MASCELLARE
IN PAZIENTI TRATTATI CON BIFOSFONATI EV**

Dr.ssa Marta Zambelli

TEORIE PATOGENETICHE DELLA BRONJ: OSSO o TESSUTI MOLLI?

PATOGENESI OSSEA

Inibizione diretta della funzione osteoclastica

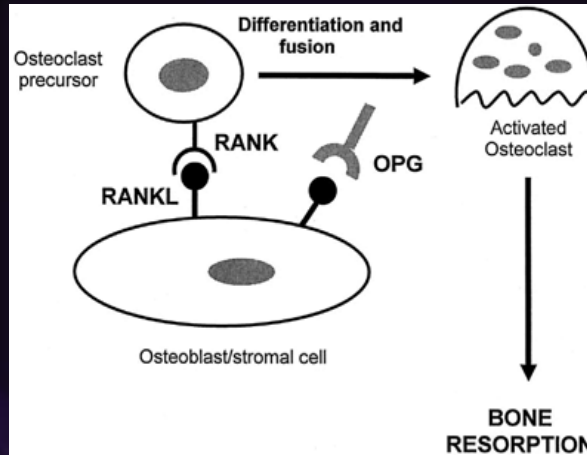


Riduzione del normale turnover osseo

Inibizione della proliferazione delle cellule endoteliali VEGF-mediata



Riduzione della neoangiogenesi

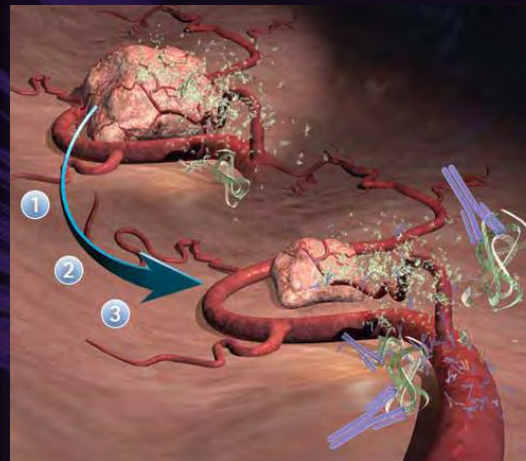


Woo S-B, Hellstein J, Kalmar J, 2006

Hewitt C, Farah Cs. 2007

Diel IJ, Fogelman I, et al. 2007

Van Peck E, et al S. 1999



Alonci A, Allegra A, et al. 2007

Arduino PG, Melegatti E, et al. 2011

Ferretti G, Fabi A, Carlini P, et al. 2005

TEORIE PATOGENETICHE DELLA BRONJ: OSSO o TESSUTI MOLLI?

PATOGENESI MUCOSA

Reid IR, Bolland MJ, Grey AB. Is bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw caused by soft tissue toxicity? Bone . 2007;41:318-20.



Allen MR, Burr DB. The Pathogenesis of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: So Many Hypotheses, So Few Data. J Oral and Maxillofac Surg. 2009;67:61-70.

Lesclos P, Abi Najm S, Carrel JP, Baroukh B, Lombardi T, Willi JP, Rizzoli R, Saffar JL, Samson J. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: A key role on inflammation? Bone. 2009;45(5):843-52.

EFFETTI SULLE CELLULE

- < proliferazione
- < guarigione
- < migrazione
- Apoptosi

Scheper MA, Chaisuparat R, Cullen KJ, Meiller TF. A novel soft-tissue *in vitro* model for bisphosphonate-associated osteonecrosis. Fibrogenesis Tissue Repair. 2010;3:6.

Walter C, Klein MO, Pabst A, Al-Nawas B, Duschner H, Ziebart T. Influence of bisphosphonates on endothelial cells, fibroblasts, and osteogenic cells. Clin Oral Invest. 2010;14(1):35-41.

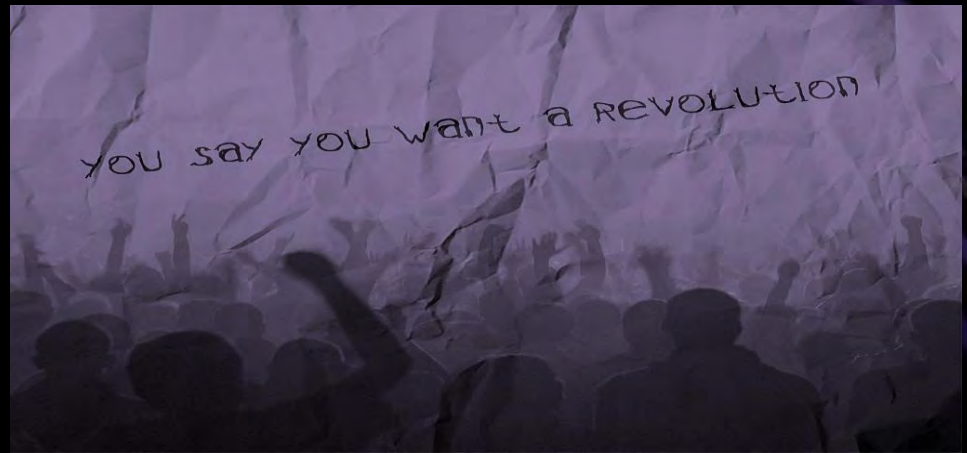
Correia VdeF, Caldeira CL, Marques MM. Cytotoxicity evaluation of sodium alendronate on cultured human periodontal ligament fibroblasts. Dent Traumatol. 2006;22:12-317.

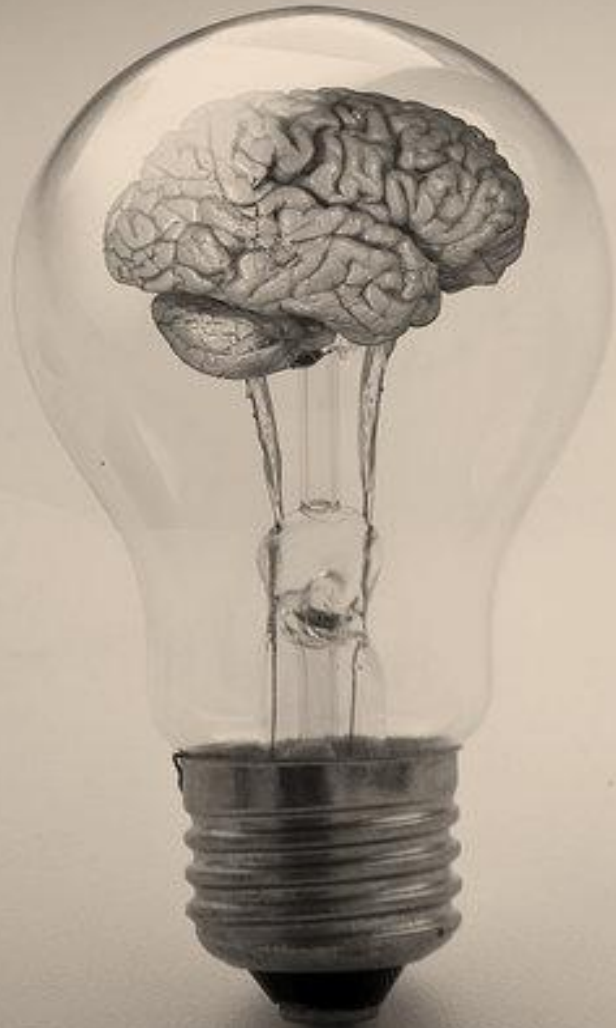
Scheper MA, Badros A, Chaisuparat R, Cullen K, Meiller TF. Effect of zolndronic acid on oral fibroblast and epithelial cells: a potential mechanism of bisphosphonate-associated osteonecrosis. British Journal of Haematology. 2008;144:667-676.

Agis H, Blei J, Watzek G, Gruber R. Is Zolendronate Toxic to Human Periodontal Fibroblasts? J Dent Res. 2010;89(1):40-45.

EFFETTI SULLA PRODUZIONE DELLE CITOCHINE

Tipton DA, Seshul BA, Dabbous M. Effect of bisphosphonates on human gingival fibroblast production of mediators of osteoclastogenesis: RANKL, osteoprotegerin and interleukin-6. J Periodont Res. 2011;46(1):39-47.





STUDIARE IL POSSIBILE
COINVOLGIMENTO DEI
TESSUTI MOLLI NELLA
PATOGENESI DELLA BRONJ
ATTRAVERSO L'ANALISI
DELL'ESPRESSIONE
DI 8 IMPORTANTI PARAMETRI
BIOMOLECOLARI COINVOLTI
NEL PROCESSO DI
GUARIGIONE A LIVELLO DI
UN CAMPIONE DI MUCOSA

- 42 pazienti
- Reparto di Chirurgia Orale della Dental School
- Settembre 2009 – Settembre 2011

Gruppo A Onj-

- 17 pazienti
- BF EV > 6 mesi
- **NO** segni o sintomi di **BRONJ**
- **Estrazione** di elementi
 - Non recuperabili
 - Rischio/beneficio sfavorevole

Gruppo B Onj+

- 14 pazienti
- Diagnosi di **BRONJ**
- Intervento chirurgico

Gruppo C Doppio prelievo pre-post bf

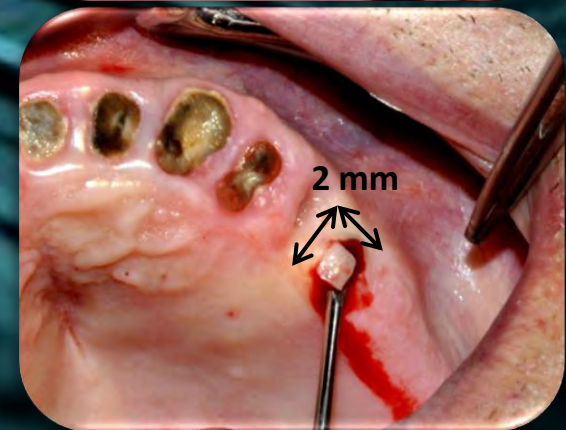
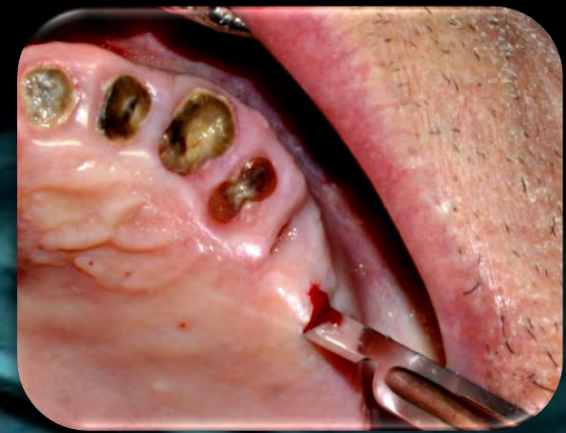
- 11 pazienti
- 2 prelievi

1°
pre-BF EV

2°
Dopo 6
somministrazioni
BF EV

PRELIEVO DI MUCOSA

- Consenso informato & anestesia locale
- Bisturi lama 15
- 2x2 mm
- Tuberosità mascellare
- Mezzo spessore



- Provetta sterile contenente RNA later
- Conservazione a 4°C
- Congelate a -89°C entro 48 h



ANALISI DI LABORATORIO

Dipartimento di Medicina e Oncologia Sperimentale
di Torino
Prof.ssa Canuto



Estrazione & Quantificazione
RNA

Retrotrascrizione:
DNA

Amplificazione
DNA: PCR

FATTORI ANALIZZATI:

1. Interleuchina-1 β (IL-1 β)
2. Interleuchina-6 (IL-6)
3. Interleuchina-8 (IL-8)
4. Tumor Necrosis Factor α (TNF α)

5. RANK-L
6. Osteoprotegerina (OPG)

7. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

8. 3-idrossi-3-metil-glutaril CoA riduttasi (HMGR)

CITOCHINE
PRO-INFIAMMATORIE

MODULATORI DELL'ATTIVITA'
OSTEOCLASTICA

FATTORE DI CRESCITA
- NEOANGIOGENESI

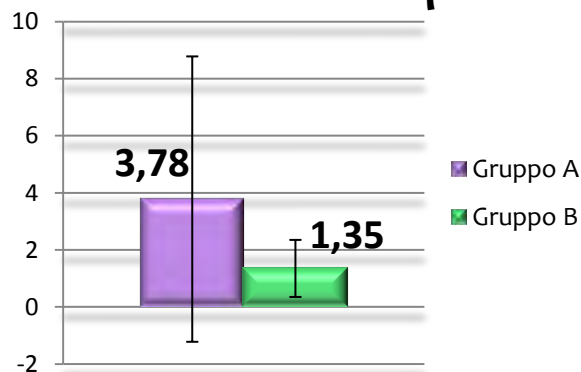
PROLIFERAZIONE
CELLULARE

I risultati sono stati messi in relazione con l'espressione dei parametri presi in considerazione in un prelievo di mucosa effettuato in un paziente sano, posto arbitrariamente uguale a 1.

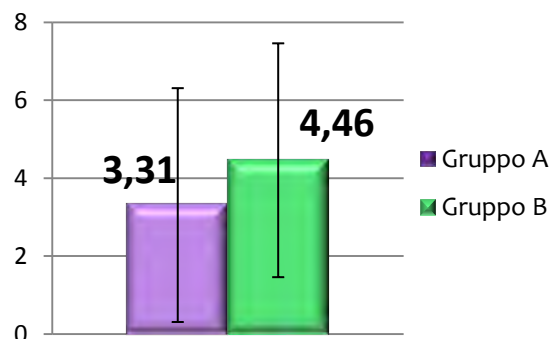
RISULTATI

GRUPPO A ONJ \ominus vs GRUPPO B ONJ \oplus

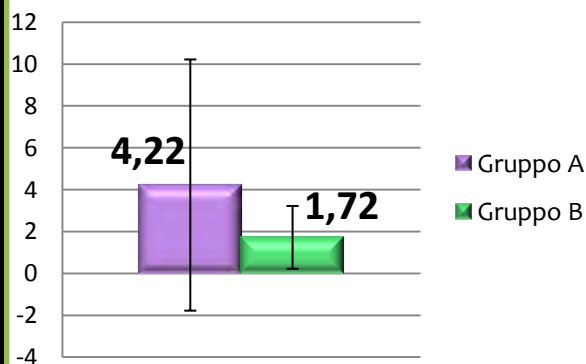
Interleuchina-1 β



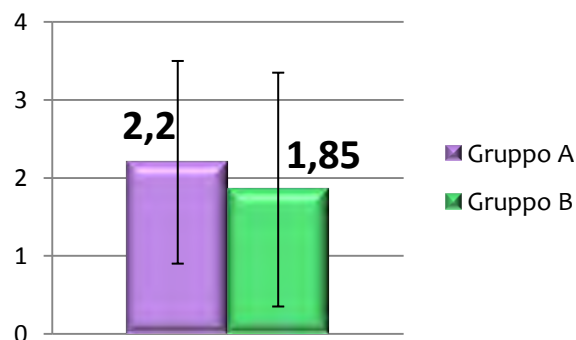
Interleuchina-6



Interleuchina-8



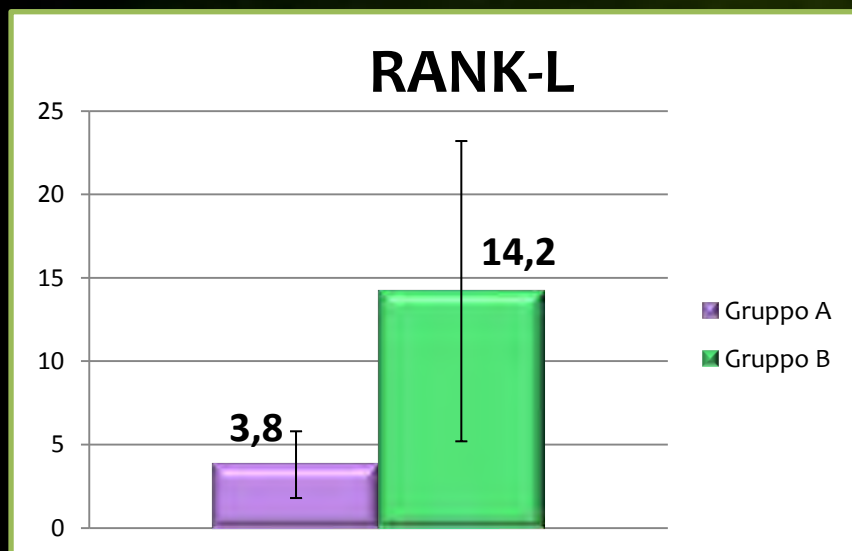
TNF α



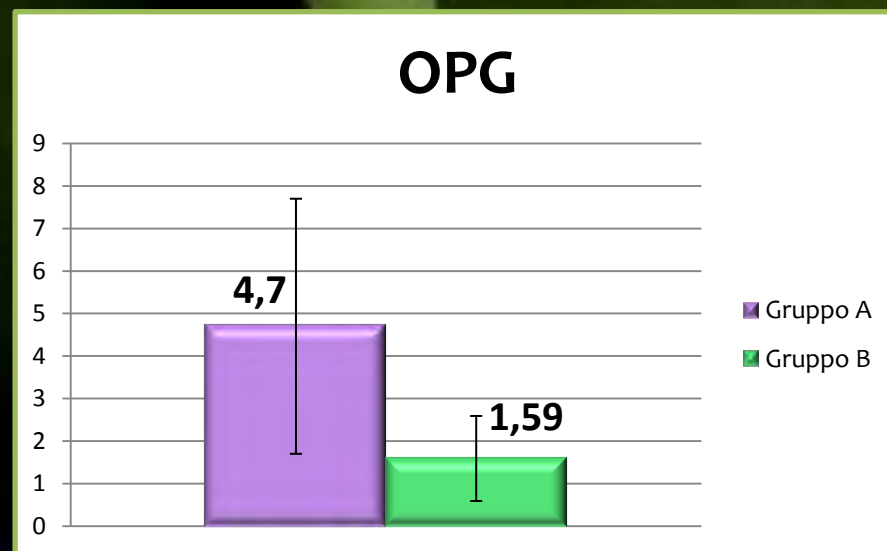
Dall'analisi statistica dei dati ottenuti la differenza nell'espressione genica delle citochine nei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ($p > 0,05$)

I risultati sono stati messi in relazione con l'espressione dei parametri presi in considerazione in un prelievo di mucosa effettuato in un paziente sano, posto arbitrariamente uguale a 1.

GRUPPO A **ONJ**⊖ vs GRUPPO B **ONJ**⊕



p value=0,021



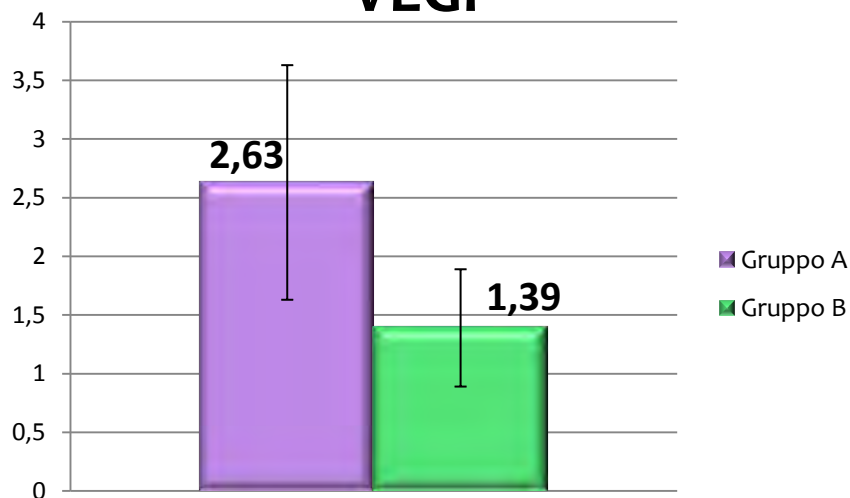
p value=0,038

Dall'analisi statistica dei dati ottenuti, nei pazienti del gruppo B è risultato significativo il l'incremento dell'espressione del RANKL e il decremento dell'espressione dell'Osteoprotegerina rispetto ai pazienti del gruppo A.

I risultati sono stati messi in relazione con l'espressione dei parametri presi in considerazione in un prelievo di mucosa effettuato in un paziente sano, posto arbitrariamente uguale a 1.

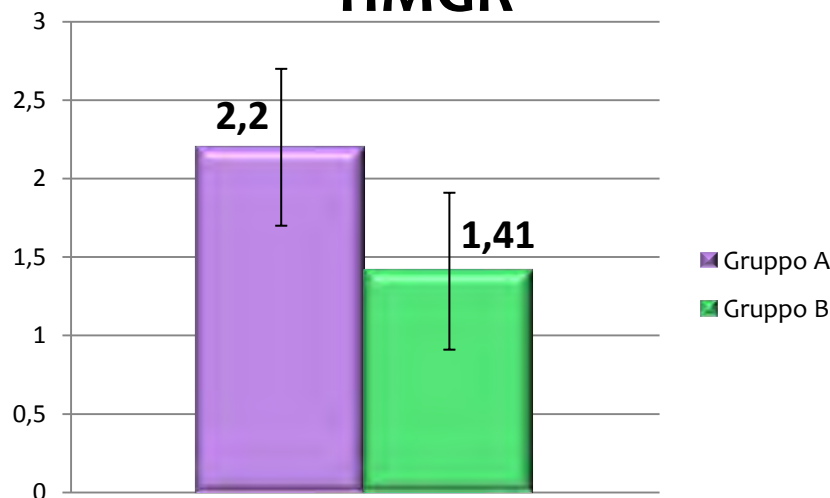
GRUPPO A ONJ⁻ vs GRUPPO B ONJ⁺

VEGF



p value=0,003

HMGR



p value = 0,008

Dall'analisi statistica dei dati ottenuti, nei pazienti del gruppo B è risultato significativo il decremento dell'espressione di VEGF e HMGR rispetto ai pazienti del gruppo A.

Nel GRUPPO B ONJ+

SIGNIFICATIVO
> **RANK-L / OPG**

SIGNIFICATIVO
< **VEGF & HMGR**

**INCREMENTO
DELL'ATTIVITÀ DELLA
LINEA OSTEOCLASTICA,**
correlato ad un ritardo di
guarigione ossea in seguito ad
insulto traumatico

**DIMINUITO POTENZIALE
NEOANGIOGENETICO** e una
**RIDOTTA CAPACITÀ
PROLIFERATIVA** delle cellule
in seguito ad insulto traumatico

In vivo, per la prima volta

**RITARDO NELLA
GUARIGIONE DELLE
FERITE
OSSEE & MUCOSE**



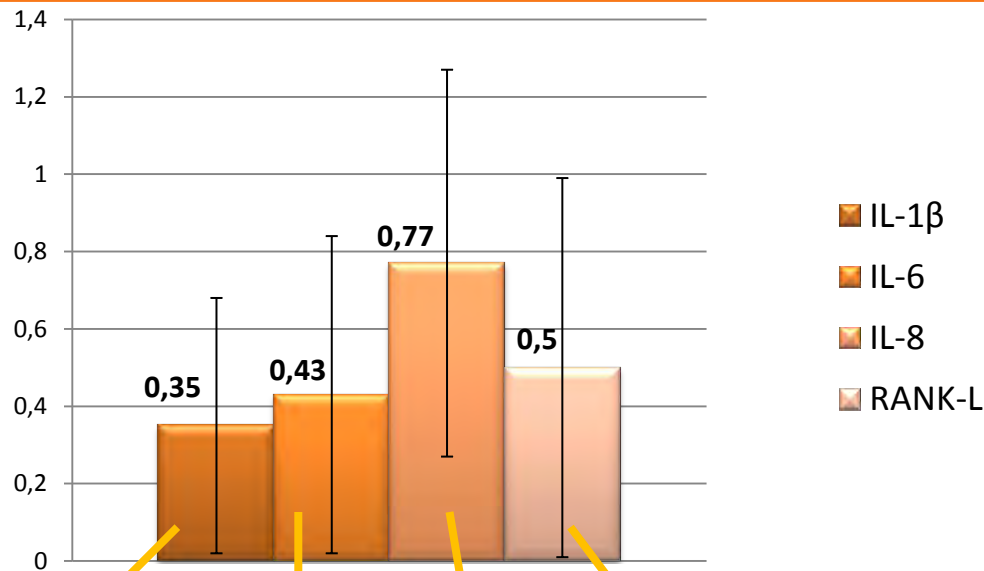
BRONJ

CONCLUSIONI



GRUPPO DOPPIO PRELIEVO

Secondo prelievo normalizzato verso il primo



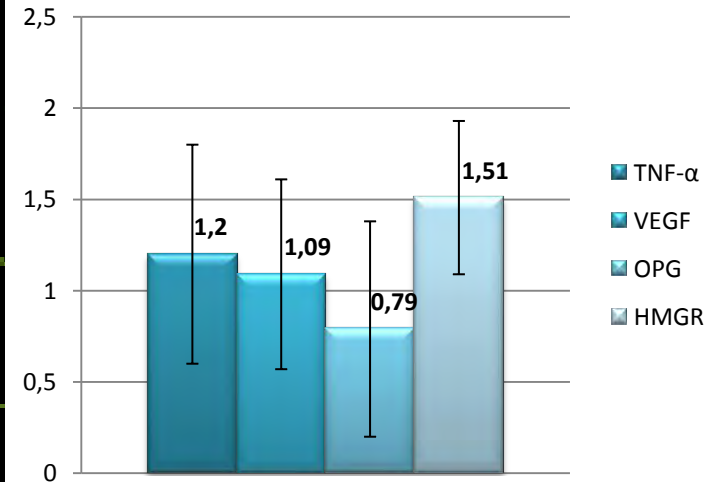
$p=0,002$

$p=0,002$

$p=0,01$

Dall'analisi statistica dei dati ottenuti la differenza nell'espressione genica di TNF α , VEGF, OPG & HMGR nei due gruppi non è risultata statisticamente significativa ($p>0,05$)

Dall'analisi statistica dei dati ottenuti, nel secondo prelievo è risultato significativo il DECREMENTO dell'espressione delle interleuchine e del RANK-L rispetto al primo prelievo



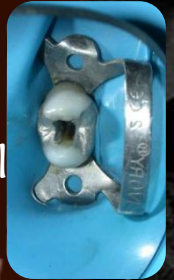
< DEI PARAMENTRI INFIAMMATORI NEI PAZIENTI SOTTOPOSTI A BONIFICA PREVENTIVA:

IL-1 β

IL-6

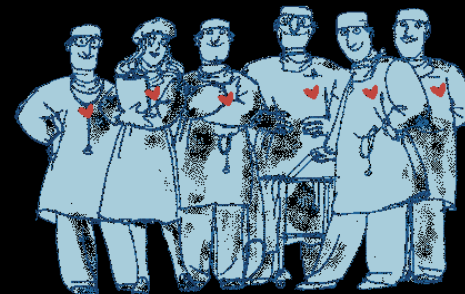
IL-8

- Estrazione degli elementi compromessi o che non garantiscono una buona prognosi a breve termine.
- Inserimento in lista d'attesa nel Reparto di Endodonzia e Conservativa per le eventuali cure.
- Igiene professionale



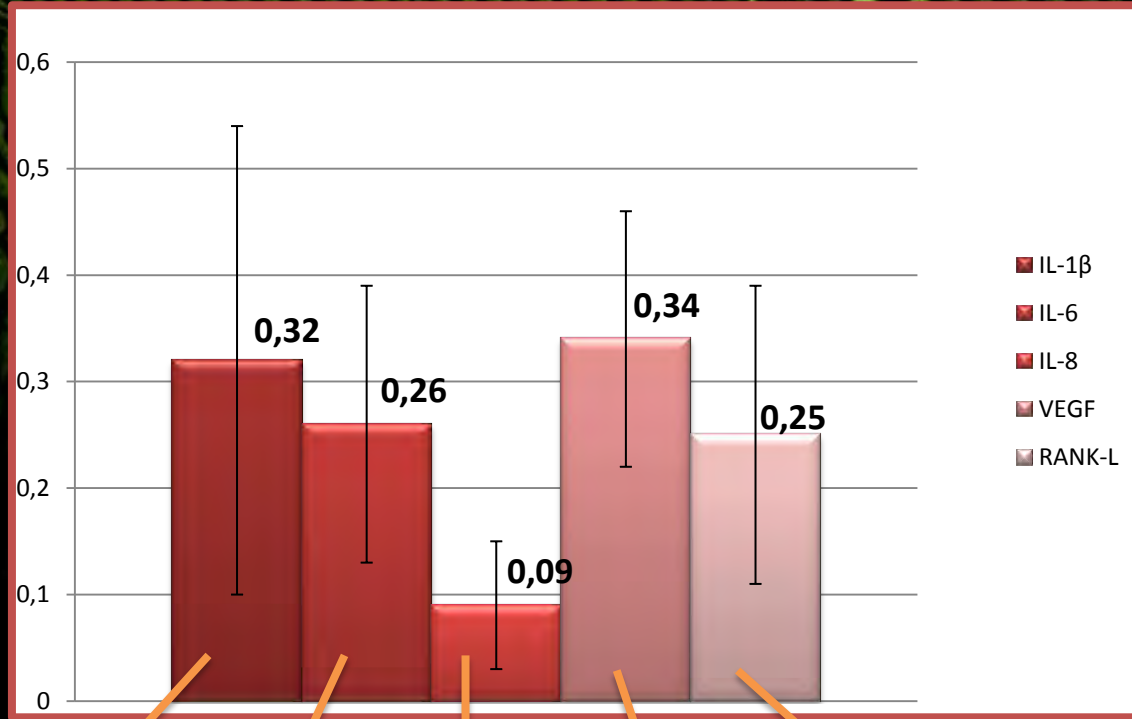
IMPORTANZA DELLA PREVENZIONE PRIMARIA

COLLABORAZIONE DIRETTA TRA
L'ODONTOIATRA E L'ONCOLOGO



SECONDO PRELIEVO normalizzato
verso GRUPPO ONJ-

2° PRELIEVO GRUPPO C vs GRUPPO A ONJ ⊖



p=0,003

p=0,0005

p=0,005

p=0,005

p=0,001

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

