

## **OSTEONECROSI DA BIFOSFONATI**

Approccio terapeutico con Ossigenoterapia Iperbarica e diagnostica mediante DCE-MRI.

Renato Moroni – \*Claudia Manenti

Servizio di Ossigenoterapia Iperbarica- Istituto Clinico Città di Brescia , Bs.

U.O. di Chirurgia Maxillo Facciale – Spedali Civili di Brescia, Bs.

### **DEFINIZIONE**

L'osteonecrosi da bifosfonati è una condizione clinica descritta per la prima volta nel 2002 (1) e caratterizzata dall'esposizione di osso a livello di mascellare superiore ed inferiore persistente da più di 8 settimane in pazienti che hanno fatto uso o fanno uso di bifosfonati e che non hanno storia clinica di radioterapia del capo-collo.

L'esposizione ossea si presenta spontaneamente o, più spesso, diventa manifesta in seguito a procedure chirurgiche invasive quali l'estrazione di radici dentali, chirurgia periodontale, apicectomia o posizionamento di impianti dentari. La necrosi origina sempre a livello dell'osso alveolare e solo secondariamente si estende al corpo e rami mandibolari. Raramente segni radiografici subclinici quali la sclerosi della lamina dura, la perdita della lamina dura e l'allargamento dello spazio periodontale soprattutto a livello del terzo molare possono precedere la manifestazione clinica della malattia. La necrosi interessa solo le ossa dei mascellari e non sono state riportate in letteratura altre localizzazioni scheletriche.

I bifosfonati sono una classe di farmaci a cui appartengono numerose molecole usate prevalentemente in campo oncologico per il controllo delle metastasi ossee da cancro della mammella e mieloma multiplo o, meno frequentemente, da neoplasie maligne prostatiche, renali e polmonari.

Tutte le molecole presentano una grande affinità per l'osso, tendono ad accumularsi nella matrice ossea ed hanno una lunga emivita (10 anno e piu' per lo Zometa). La presenza di una molecola di azoto all'interno della formula chimica dei vari tipi di bifosfonati aumenta la loro potenza e verosimilmente la loro tossicità. Pare infatti che solo quelle molecole contenenti azoto siano implicate nella osteonecrosi da bifosfonati.

BIFOSFONATO (NOME COMMERCIALE)	INDICAZIONE	CONTIENE AZOTO	DOSE	MODALITA' SOMMINISTRAZ.	POTENZA RELATIVA
ETIDRONATO (DIDRONEL)	MALATTIA DI PAGET	NO	300-750 MG/DIE PER 6 MESI	ORALE	1
TILUDRONATO (SANOFI)	MALATTIA DI PAGET	NO	400 MG/DIE PER 3 MESI	ORALE	50

ALENDRONATO (FOSAMAX)	OSTEOPOROSI	SI	10 MG/DIE 70 MG/SETT.	ORALE	1 000
RESIDRONATO (ACTONEL)	OSTEOPOROSI	SI	5 MG/DIE 35 MG/SETT	ORALE	1 000
IBANDRONATE (BONIVA)	OSTEOPOROSI	SI	2,5 MG/DIE 150 MG/MESE	ORALE	1 000
PAMIDRONATO (AREZIA)	METASTASI OSSEE	SI	90 MG/ 3 SETT	E.V.	1 000- 5 000
ZOLEDRONATO (ZOMETA)	METASTASI OSSEE	SI	4 MG/3 SETT	E.V.	10 000+

### **RUOLO DEGLI OSTEOCLASTI NEL NORMALE TURNOVER OSSEO**

Gli osteoclasti derivano da cellule precursori che originano nel midollo osseo, i precursori degli osteoclasti sono cellule staminali mesenchimali. Le cellule progenitrici degli osteoclasti lasciano il midollo osseo come cellule circolanti differenziate e mononucleate in seguito a risposta a fattori di trascrizione per poi trasformarsi in cellule giganti plurinucleate, gli osteoclasti maturi (8).

Durante il normale rinnovamento osseo gli osteoclasti iniziano il riassorbimento osseo in risposta all'ormone paratiroideo sviluppando un bordo increspato a livello dell'interfaccia con la superficie ossea e secernendo acido cloridrico a pH 1 in un'area sigillata chiamata Howship lacuna. L'ambiente acido favorisce la demineralizzazione della matrice minerale ossea innescando la rottura della componente organica della matrice ossea stessa (costituita per il 90% da collagene) ad opera di enzimi collagenasi. Questa serie di eventi precipita il rilascio di proteine morfogenetiche dell'osso (BMP) e di insulin growth factor 1 e 2 (ILG1 e ILG2), proteine insolubili nell'ambiente acido e che promuovono la differenziazione di cellule mesenchimali locali e circolanti in osteoblasti: inizia la formazione di nuovo osso. Questi nuovi osteoblasti differenziati secernono tessuto osteoide all'interno del quale essi rimangono intrappolati. Con il passare del tempo questi osteoblasti diventano osteociti maturi i quali promuovono la mineralizzazione della matrice osteoide in osso maturo.

Senza il riassorbimento osseo mediato dagli osteoclasti, la rimozione di tessuto osseo maturo e la formazione di nuovo tessuto osseo, più elastico, non possono avvenire.

### **INDICAZIONI MEDICHE ALL'USO DI BIFOSFONATI**

I bifosfonati e.v. quali pamidronato (Aredia) e zoledronato (Zometa) trovano indicazione nella stabilizzazione di osteolisi di metastasi ossee documentate di varia origine (4,5) e nel ridurre l'ipercalcemia maligna (6). I bifosfonati orali alendronato

(Fosamax), residronato (Actonel) e ibandronato (Boniva) sono invece i più usati per il trattamento dell'osteopenia e dell'osteoporosi (7).

### **BIFOSFONATI E.V. E METASTASI OSSEE**

La maggior parte dei tumori non è in grado di riassorbire direttamente l'osso ma reclutano gli osteoclasti affinché facciano il lavoro per loro. Studi recenti hanno dimostrato che le cellule cancerogene possono sia reclutare le cellule progenitrici degli osteoclasti dal midollo osseo sia stimolarle ed indurle al riassorbimento osseo creando strade all'interno delle quali le cellule tumorali possono proliferare. Il probabile meccanismo attraverso cui il tumore può riassorbire l'osso è da ricercare nella secrezione di fattori stimolanti gli osteoclasti. Le cellule dell'osso non riconoscono di essere state attivate da un processo patologico piuttosto che da una risposta fisiologica. Altro meccanismo tumorale legato al riassorbimento osseo è la cosiddetta sindrome paraneoplastica, un meccanismo sistemico dovuto alla capacità di alcune cellule cancerogene di secernere peptidi simili all'ormone paratiroideo.

In risposta a questi segnali provenienti da tumore i bifosfonati e.v. riducono la popolazione degli osteoclasti in modo tale che solo poche cellule siano in grado di rispondere ai fattori secreti dalle cellule tumorali. Se non c'è riassorbimento osseo il tumore non può progredire ed è limitato nella sua crescita. Queste molecole non sono dunque dei veri e propri farmaci anticancro (9), ma Aredia e Zometa allungano la sopravvivenza e la qualità di vita dei pazienti con metastasi ossee.

### **BIFOSFONATI ORALI ED OSTEOPOROSI**

Osteoporosi è una malattia che colpisce gli individui adulti sopra i 45 anni, più comune e severa nelle donne in età post-menopausale. Probabilmente questo succede in seguito alla perdita dello stimolo estrogenico nella differenziazione delle cellule staminali con conseguente formazione di adipociti invece che differenziazione in osteoblasti. L'effetto dell'osteoporosi è l'aumento del midollo fibro-adiposo a discapito di osso trabecolare. L'osso diventa progressivamente portico in seguito all'assottigliarsi della struttura trabecolare ed alla perdita delle connessioni ossee. Il meccanismo fisiopatologico primario dell'osteoporosi è da ricercare nel turnover e rinnovamento osseo.

### **MECCANISMO DI AZIONE DEI BIFOSFONATI**

I bifosfonati inibiscono la formazione di nuovo osso, il loro meccanismo di azione ha il fine di preservare ed irrobustire l'osso esistente aumentandone il grado di mineralizzazione.

L'azione biologica fondamentale di tutti i bifosfonati è quella di inibire il riassorbimento osseo e quindi il turnover ed il rinnovamento osseo. Questi effetti sono ottenuti attraverso l'inibizione e/o la morte cellulare irreversibile per apoptosi degli osteoclasti.

Indipendentemente dalla modalità di somministrazione le molecole di bifosfonati si legano prontamente ai cristalli minerali presenti su ogni superficie ossea. Durante il normale rimodellamento osseo gli osteoclasti riassorbono l'osso ed ingeriscono bifosfonati che fungono da analoghi dei lipidi isoprenoidi bifosfonati. Questi lipidi sono essenziali per la farnesilazione e la geranylgeranilazione degli enzimi guanosin trifosfati (GTPasi), enzimi che prevengono l'apoptosi degli osteoclasti (2). Microscopicamente degli osteoclasti perdono il bordo frastagliato dal lato del riassorbimento, la cellula si retrae dalla superficie ossea e muore. Senza il

riassorbimento osseo ed il concomitante rilascio di proteine osso inducenti come le proteine morfogeniche dell'osso (BMP), e l'insulin like growth factor 1 e 2 (ILG1-2), l'osso maturo non viene rimosso e non si forma nuovo osso osteoide. Gli osteociti, che agiscono come meccanoettori per mantenere la matrice minerale dell'osso esistente, mantengono invece la loro funzione. In associazione con la tossicità da bifosfonati si può infatti osservare una ipermineralizzazione ossea i cui segni radiologici sono la sclerosi della lamina dura seguita da una osteosclerosi generalizzata del processo alveolare.

Ripetute dosi di bifosfonati si accumulano nella matrice ossea e possono essere rimosse solo dal riassorbimento mediato dagli osteoclasti come parte del normale turnover osseo. Siccome i bifosfonati sono tossici per gli osteoclasti e prevengono il turnover osseo ci troviamo di fronte ad una "trappola" biologica: non importa quello che fai, comunque perdi. L'accumulo di bifosfonati nell'osso, in particolare a livello mandibolare, non può essere rimosso in modo sicuro a causa del suo effetto tossico sugli osteoclasti stessi ed aumenta con ogni dose. L'effetto tossico dei bifosfonati è sia dose che tempo dipendente.

Perché la necrosi ossea è stata osservata solo a livello dei mascellari? La risposta a questa domanda richiede un'attenta osservazione per individuare dove, nei mascellari, l'esposizione ossea si presenta prima: a livello del processo alveolare. Dixon e al (3) hanno documentato il tasso di rimodellamento osseo in vari siti corporei ed hanno verificato che la cresta alveolare ha una velocità di rimodellamento 10 volte superiore rispetto alla tibia, 5 volte superiore rispetto alla mandibola a livello del canale mandibolare e 3,5 volte rispetto al bordo inferiore della mandibola stessa. Ne consegue che l'uptake di bifosfonati a livello del processo alveolare è maggiore e maggiore a questo livello è la loro concentrazione accumulata. Questo studio dimostra anche che il processo alveolare è fisiologicamente sottoposto ad un maggior grado di rimodellamento-riassorbimento osteoclasti mediato rispetto a qualsiasi altro osso dello scheletro adulto. Infatti le forze applicate da una normale occlusione producono forze di compressione all'apice delle radici dei denti e la normale risposta a questi continui assestamenti è un continuo rimodellamento della lamina dura. Se i bifosfonati si accumulano nell'osso alveolare e la richiesta di rimodellamento continua, oppure se si verifica un trauma come un'estrazione dentaria, il processo alveolare non può rispondere a lungo con la formazione di nuovo osso e va incontro a necrosi. La mucosa sovrastante di conseguenza, privata del suo rifornimento nutrizivo, si ulcera fino all'esposizione ossea manifesta.

## **MANIFESTAZIONI CLINICHE**

La diagnosi di osteonecrosi da bifosfonati è una diagnosi esclusivamente clinica e non radiologica o istopatologica. Radiologicamente infatti questa condizione si manifesta con segni di normalità oppure con segni identici a quelli che si riscontrano nell'osteomielite o nella osteoradionecrosi. Microscopicamente ci troviamo di fronte ad una necrosi ossea aspecifica con eventuale colonizzazione batterica simile a quella ritrovata nelle osteomieliti o nelle osteoradionecrosi. Solo l'anamnesi e la descrizione clinica ci permettono di distinguere la necrosi indotta dai bifosfonati dalle altre condizioni patologiche interessanti l'osso.

Il tempo intercorrente tra somministrazione e manifestazione clinica dell'osteonecrosi è strettamente legato alla potenza ed all'emivita di ogni specifica molecola di bifosfonati. Il più potente, lo Zometa, quando somministrato alla dose raccomandata

di 4 mg/mese, può indurre esposizione ossea in 6-12 mesi. I bifosfonati orali quali il Fosamax, in seguito al loro minore assorbimento ed alla loro minore emivita, quando somministrati alla dose raccomandata di 70 mg/settimana, possono causare esposizione ossea in 3 anni. Tutti i pazienti che assumono bifosfonati immagazzinano un certo grado di tossicità ossea.

L'incidenza di osteonecrosi per i bifosfonati e.v. è sicuramente sottostimata e varia dal 0,8% al 12% (10).

L'esposizione ossea indotta da questi farmaci riconosce differenti quadri di gravità clinica. Marx (11) ha proposto una stadiazione clinica delle osteonecrosi da bifosfonati.

**Stadio 0:** danno subclinico, microscopicamente rappresentato da iniziale ipocellularità ed apoptosi degli osteoclasti, riduzione degli osteoblasti endostali e riduzione della loro produzione di tessuto osteoide.

**Stadio 1:** esposizione ossea non dolente. Stadio 1a se l'esposizione è inferiore ad 1 cm, 1b se l'area esposta misura più di 1 cm.

**Stadio 2:** singola esposizione ossea accompagnata da dolore e/o segni clinici di infezione. Stadio 2a se l'esposizione è inferiore ai 2 cm, 2b se superiore.

**Stadio 3a:** aree di esposizione ossea multiple senza segni clinici di osteolisi, fistole orocutanee o fratture patologiche.

**Stadio 3b:** area di esposizione ossea superiore ai 3 cm o con segni clinici di osteolisi o di fistola orocutanea o frattura patologica.

In letteratura circa il 31% dei casi di osteonecrosi da bifosfonati presenta esposizione ossea asintomatica, mentre il restante 69% dei casi accusa dolore (12).

Una volta esposto l'osso può rimanere tale permanentemente anche se la somministrazione di bifosfonati viene interrotta e si esegue uno sbrigliamento chirurgico locale. Un curettage chirurgico può anzi spesso indurre una maggiore esposizione ossea ed un peggioramento dei sintomi. Peggioramento locale può anche essere indotto da bonifica dentaria in osso con danno subclinico Stadio 0 interessato da bonifica dentaria.

## **MATERIALI E METODI**

Dalla oggettiva difficoltà di trovare un approccio terapeutico valido qualora si verifici malattia necrotica con esposizione di osso soprattutto quando si instaura in rapida successione infezione ed osteomielite, con un quadro altamente invalidante la qualità di vita dei pazienti, è nata la necessità da parte degli operatori che per primi venivano a contatto con questa patologia di avvalersi di strumenti utili al fine contrastare l'invasione necrotica ed infettiva ed individuare i pazienti con segni subclinici di osteonecrosi (stadio 0) e che necessitano di cure odontoiatriche.

A tal scopo dal marzo 2006 i pazienti che fanno uso di bifosfonati giunti all'osservazione della Divisione di Chirurgia Maxillo Facciale e della Clinica Universitaria Odontoiatrica degli Spedali Civili di Brescia e che necessitano di cure odontoiatriche invasive o toilette chirurgica di foci osteiti o comunque presentano osteonecrosi sintomatica vengono sottoposti ad Ossigenoterapia iperbarica presso il Centro di Medicina Iperbarica dell'Istituto Clinico Città di Brescia e studiati con

risonanza magnetica dinamica (DCE-MRI) presso la seconda Divisione di Radiologia dello stesso ospedale.

### **PRINCIPALI EFFETTI DELL'OSSIGENO IN AMBIENTE IPERBARICO:**

L'Ossigenoterapia Iperbarica viene usata negli stati morbosi in cui esiste e persiste uno squilibrio locale fra necessità, apporto e capacità di utilizzazione dell'ossigeno: insufficienze vascolari acute e croniche, patologie dell'osso, infezioni acute e croniche dell'osso e dei tessuti molli.

L'aumento dell'Ossigeno disciolto in forma fisica nel plasma, comporta la possibilità di ripristinare l'ossigenazione in aree dove i vasi sanguigni sono carenti o danneggiati (aree ipossiche o ipoperfuse) permettendo la ripresa di funzioni tissutali ossigeno-dipendenti e la possibilità di contrastare effetti tossici che abbiano implicato una ipossia tissutale. La maggiore disponibilità di ossigeno aumenta la deformabilità dei globuli rossi e, quindi la possibilità di questi ultimi di spostarsi con più facilità all'interno dei vasi sanguigni, capillari compresi (13). Comporta inoltre la redistribuzione del sangue verso i tessuti ipossici a seguito di vasocostrizione nei tessuti sani.

Oltre a questi effetti l'Ossigeno Iperbarico esplica anche un'azione antibatterica diretta ed indiretta, ha un'azione di vasocostrizione con riduzione dell'edema post-traumatico e/o post-chirurgico, protegge i tessuti dai danni del fenomeno di Ischemia/Riperfusione mantenendo normali i livelli di Atpasi, di Fosfocreatinkinasi e basso quelli dei lattati, protegge le membrane dalla lipoperossidazione radicalica, inibisce la produzione di beta2-integrine che favoriscono l'adesività dei Leucociti sulla parete capillare, con conseguente danno endoteliale (14). Promuove i processi riparativi con l'aumento del metabolismo cellulare, la riattivazione di fibroblasti, osteoblasti, della collagenosintesi, incrementa la sintesi di matrice extracellulare, ha un effetto di stimolo sulla neoformazione vascolare (15-19).

Influenza dell'ossigenazione sui processi riparativi:

La sintesi del collagene a partire dai fibroblasti è parte fondamentale del processo cicatriziale.

Il collagene è una proteina atipica; la sua sequenza aminoacida è una tripletta che contiene la glicina in prima posizione e, spesso, prolina e lisina sono idrossilate, il substrato per tale fondamentale reazione è l'ossigeno molecolare.

L'ipossia rallenta l'idrossilazione della prolina, mentre l'iperossia la stimola; tutto il processo è inoltre totalmente inibito in condizioni di anaerobiosi.

L'O<sub>2</sub> come stimolo osteogenico:

Lavori sperimentali su fratture di tibia di ratto hanno dimostrato come lo sviluppo del callo osseo sia accelerato da applicazioni periodiche di ossigeno iperbarico. Esposizioni a 2,5 Bar per 2 ore, 2 volte al giorno, determinano un accumulo di minerali (calcio, fosforo, magnesio, potassio e zinco) ed accelerano la stabilizzazione del collagene e di altre proteine del tessuto di riparazione (20).

Dati recenti dimostrano inoltre che l'esposizione degli osteoblasti ad ossigeno iperbarico aumenta il tasso di differenziazione verso il fenotipo osteogenico, fornendo un'evidenza cellulare al ruolo dell'HBO nella riparazione di fratture e nella rigenerazione ossea (21).

Thom conclude inoltre che HBO mobilita cellule totipotenti dal midollo osseo attraverso un meccanismo NO dipendente (22).

Attività battericida e/o batteriostatica:

- Attività battericida O<sub>2</sub>-dipendente.

Una parte importante di tale attività è il ciclo respiratorio dei fagociti.

La sua funzione è di produrre un gruppo di sostanze antimicrobiche a partire dalla riduzione dell' O<sub>2</sub>.

Una parte dell' O<sub>2</sub>, non utilizzato per le sintesi energetiche, è ridotto ad H<sub>2</sub>O e i prodotti intermedi di questa reazione sono agenti battericidi.

Il meccanismo d'azione può essere costituito dalla perdita di integrità della membrana cellulare alogenata, o dalla degradazione della parete cellulare nei suoi costituenti aminoacidici.

- Attività battericida O<sub>2</sub>-indipendente.

L'esposizione dei leucociti ad un ambiente ricco di azoto riduce significativamente l'attività antibatterica, il fatto però che tale azione non sia completamente inibita, indica che esiste anche un'attività antimicrobica non legata all' O<sub>2</sub>.

Il PH dei vacuoli fagocitari è acido e può essere letale per alcuni microrganismi, la liberazione di lisozima e lactoferrina, inoltre, inibisce la loro crescita.

- Ossigeno iperbarico e infezione.

In base alla loro risposta all' O<sub>2</sub> possiamo dividere i microrganismi in 2 categorie: aerobi ed anaerobi.

L'O<sub>2</sub> è tossico per gli anaerobi obbligati e agisce in modo indiretto anche su altri ceppi.

L'O<sub>2</sub> ha effetto batteriostatico quando supera i 900mmHg ed è attivo sugli aerobi in quanto stimola l'attività macrofagica depressa dall'ipossia.

Come risultato indiretto l'OTI inibisce l'adesione dei leucociti neutrofili all'endotelio (23), interrompendo il danno ossidativo endoteliale, stimola la produzione di mRNA per la sintesi del recettore del platelet-derived growth factor (24) e sinergizza l'azione di alcuni antibiotici (25). L'OTI sinergizza potenzia l'antibiotico modificandone la struttura chimica o inducendo un danno diretto della parete cellulare del batterio, promuovendo la fagocitosi cellulare mediando altri meccanismi ancora sconosciuti

Attività dell' O<sub>2</sub> sul circolo arterioso e venoso:

Tanto più grande è la quantità di O<sub>2</sub> a disposizione, tanto maggiore sarà l' O<sub>2</sub> sciolto fisicamente (a parità di pressione). Nel tessuto si verrà a creare una "via di flusso" in diretto rapporto con il gradiente di concentrazione.

Se una parte del tessuto è vascolarizzato ed una parte non lo è affatto (o lo è molto poco), l'O<sub>2</sub> migrerà dal tessuto più vascolarizzato al meno vascolarizzato, coprendo una distanza direttamente proporzionale al gradiente di concentrazione, mantenendo nella norma i processi vitali e favorendo le attività metaboliche.

A questo meccanismo si aggiunge la vasocostrizione, sempre associata a presenza di alte concentrazioni e pressioni di O<sub>2</sub>; ciò potrebbe sembrare un controsenso in quanto la vasocostrizione riduce l'apporto ematico e quindi la quantità di O<sub>2</sub> disponibile in un tessuto, ma in effetti ciò vale per i vasi arteriosi non danneggiati, inoltre in iperbarismo i tessuti non soffrono per la vasocostrizione proprio a causa della differente "Driving Force" dell' O<sub>2</sub>.

La vasocostrizione nel contempo è necessaria per ridurre l'edema locale e favorire il drenaggio linfatico.

Per quanto concerne il circolo refluo, il suo impegno è direttamente proporzionale all'entità dell'ipossia locale.

L'ipossia causa una vasodilatazione di tipo compensatorio nella zona circostante il tessuto sofferente. E' noto che l'aumento di flusso in un microcircolo sofferente porta ad un edema (secondario all'alterata permeabilità di membrana), inoltre i tessuti edematosi comprimono i capillari e ne compromettono la pervietà.

L'OTI svolge il suo ruolo nel distretto venoso, in quanto la vasocostrizione arteriosa riduce l'apporto di sangue e quindi limita il sanguinamento e la diapedesi, inoltre favorisce il drenaggio che incrementa il ritorno venoso a livello del microcircolo.

E' stato sperimentalmente dimostrato che tale terapia porta alla neoformazione, nella zona lesa, di vasi capillari in un tempo variabile tra le 2 e le 3 settimane(26).

La sopravvivenza cellulare stessa è, ovviamente, ossigeno-dipendente, ma, nell'ambito del range in cui la vita cellulare è consentita, ceppi cellulari diversi possono avere esigenze di ossigeno diverse per la loro funzione e quest'ultima è spesso modulata dal variare della PO<sub>2</sub> locale.

Funzioni dipendenti dalla disponibilità di O<sub>2</sub>:

- Funzione antibatterica leucocitaria.
- Preteolisi del tessuto necrotico ad opera dei PMN e dei macrofagi.
- Trombolisi dei microtrombi capillari nelle zone di tessuto lese.
- Rimodellamento osseo ad opera di osteoclasti ed osteoblasti.
- Stabilizzazione del collagene.
- Riepitelizzazione di ferite granuleggianti.

L'azione dell'ossigeno iperbarico per potersi esplicare ha bisogno di un certo tempo e di un certo numero di sedute, che variano a seconda della patologia, acuta o cronica, da trattare, del tessuto interessato dalla patologia (il tessuto osseo, ad esempio, necessita di un maggior numero di trattamenti rispetto ad altri tessuti) e dall'associazione nella stessa patologia di più cause invalidanti.

Il ripristino di funzioni vitali come la respirazione cellulare, con conseguente riattivazione dei compiti a cui la cellula è preposta, la neoformazione vascolare, ecc. sono tutti effetti che l'ossigeno iperbarico esplica nel corso di cicli più o meno lunghi e tali effetti si protraggono nel tempo anche dopo la fine della terapia.

Le linee guida SIAARI SIMSI ANCIP del 2007 sulle indicazioni alla ossigenoterapia iperbarica prevedono il trattamento di patologia quali: infezione acuta e cronica dei tessuti molli a varia eziologia, osteomielite cronica refrattaria, ulcere cutanee da insufficienza arteriosa, venosa e post-traumatica, osteonecrosi asettica, paradontopatia.

Sulla base di tali linee guida il protocollo proposto per i pazienti con osteonecrosi da bifosfonati prevede:

- Ossigeno iperbarico alla posologia di 2,4 ATA di pressione per 70' di O<sub>2</sub> totali in quota per 2 cicli di 24 trattamenti, tra il primo ed il secondo ciclo 30 giorni.
- Cicli con modalità sandwich (pre e post chirurgico) laddove prevista bonifica dentaria o courettage..
- DCE-MRI pretrattamento,
- DCE-MRI di controllo ad un mese dal trattamento,
- Rivalutazione clinica.
-

## **DCE-MRI: DYNAMIC CONTRAST ENHANCED-MAGNETIC RESONANCE IMAGING**

I miglioramenti tecnologici delle apparecchiature RM e la possibilità di acquisire immagini ultraveloci hanno permesso di approntare tecniche dinamiche che considerano le variazioni temporo-spaziali dell'enhancement di differenti tessuti (curve di impregnazione).

I diversi pattern di enhancement sono influenzati dalla densità vascolare, dal flusso ematico regionale, dalla permeabilità endoteliale e dal volume dello spazio extravascolare extracellulare dove prevalentemente si distribuiscono i M.d.C.

Poiché l'imaging dinamico riflette la fisiopatologia del microcircolo, differenti tessuti con modelli di vascolarizzazione diversi si differenziano sia nel livello di perfusione (gradiente di enhancement) che nella velocità con la quale si impregnano di M.d.C. (time to peak).

Le sequenze dinamiche consentono di valutare l'enhancement dapprima in una fase precoce e successivamente in fasi più tardive, attraverso acquisizioni consecutive.

Nelle sequenze RM standard, invece, l'impregnazione tissutale viene esaminata con sequenze comprese tra 80 secondi e 3 minuti dall'inizio dell'iniezione del mezzo di contrasto.

Questa tecnica è pertanto frequentemente impiegata in onco-radiologia nella differenziazione tra lesioni benigne e maligne, nella caratterizzazione dei tessuti neoplastici e nel follow-up post-radioterapia (neoplasie del distretto capo-collo, neoplasie della mammella, della prostata, dell'apparato muscolo-scheletrico). La DCE-MRI in oncologia è un valido strumento di stadiazione poiché valuta la vascolarizzazione tumorale, fattore strettamente correlato con la stadiazione clinica e con la prognosi del paziente.

In considerazione della duplice eziopatogenesi, ischemica ed osteomielitica dell'osteonecrosi da bifosfonati è stato possibile applicare la DCE-MRI al protocollo di studio della mandibola nei pazienti a rischio.

La DCE-MRI prevede la somministrazione del M.d.C. a bolo attraverso un accesso venoso antecubitale: 0,1 mmol/kg di chelato di gadolinio (Gd-DTPA) a 4 ml/s seguiti da un bolo di 20-30 ml di soluzione fisiologica.

I mezzi di contrasto maggiormente impiegati sono quelli "non selettivi", anche noti come "agenti extravascolari", molecole di piccole dimensioni in grado di determinare accorciamento sia dei tempi T1 che T2.

Il M.d.C. si trasferisce dallo spazio intravascolare allo spazio extravascolare extracellulare (EES) in base al flusso ematico regionale, alla permeabilità vascolare e alla superficie dei vasi che perfondono il tessuto stesso. Il M.d.C. non attraversa le membrane cellulari, quindi il suo volume di distribuzione corrisponde al EES. L'accumulo dinamico di M.d.C. nel tempo, nel tessuto in esame, si valuta attraverso il susseguirsi delle immagini.

In un tempo successivo all'esecuzione dell'esame RM, si può effettuare con software dedicato un'analisi parametrica di questo processo dinamico valutando quindi la microvascolarizzazione tissutale in modo non invasivo. Attraverso il posizionamento e l'analisi di un numero variabile di ROI (region of interest), poste in regioni anatomiche predefinite e confrontabili da paziente a paziente, è possibile determinare il livello di enhancement tissutale.

## DATI

Da marzo 2006 ad marzo 2009 21 pazienti con un età compresa tra i 42 e gli 89 anni (media 66 anni) sono stati sottoposti a ossigenoterapia iperbarica ed a valutazione radiologica mediante DCE-MRI pre trattamento e 4 DCE-MRI anche post trattamento. Tutti i pazienti hanno assunto bifosfonati per una durata variabile tra i 3-120 mesi (media 31 mesi). Nei 21 pazienti la somministrazione di bifosfonati era stata per via endovenosa. Tutti i pazienti hanno sospeso la terapia farmacologica al momento dell'entrata nel protocollo.

La DCE-MRI ha permesso diagnosi radiologica di necrosi ossea in 13 pazienti (60%), 9 delle quali hanno avuto conferma istologica, 20 pazienti presentavano storia clinica di recenti avulsioni dentarie o di curettage di foci osteitici.

16 pazienti hanno effettuato DCE-MRI pre trattamento e 4 pre e post trattamento con ossigeno iperbarico.

Tre pazienti hanno sospeso le sedute : il primo per aggravamento di cardiopatia pregressa dopo 14 sedute, il secondo per concomitante ripresa della malattia di base dopo 8 sedute di un ciclo pre chirurgico, il terzo per elevati valori pressori dopo 3 sedute di terapia iperbarica.

## RISULTATI

I pazienti presentavano differenti quadri di gravità clinica secondo la stadi azione di Marx (11).

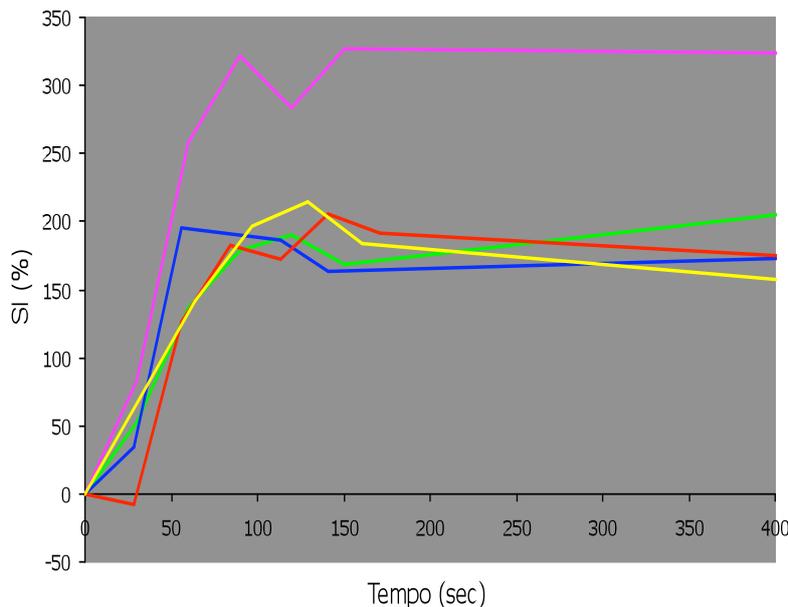
**9 pazienti con Stadio all'ingresso pari a 2 hanno presentato al termine Stadio pari ad 1.**

**8 pazienti con Stadio all'ingresso pari a 3 hanno presentato al termine Stadio pari ad 1.**

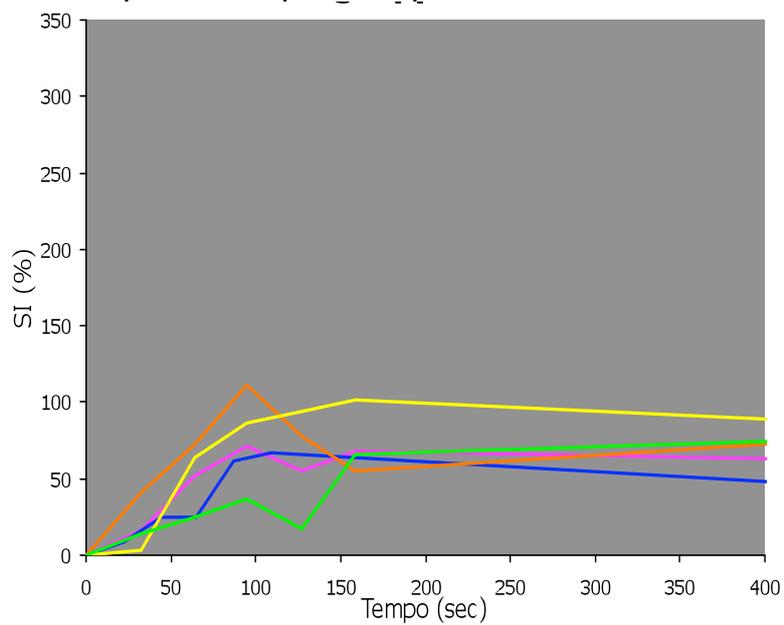
Questi 17 pazienti hanno tutti presentato risoluzione della infezione e del dolore persistendo aspetti osteonecrotici con esposizione ridotta di estensione e asintomatica.

**1 paziente con Stadio all'ingresso pari 3 ha presentato al termine Stadio pari a 3** (ha eseguito solo 1 ciclo di terapia iperbarica in preparazione pre chirurgica e dopo l'intervento lo stadio è risultato pari a 2)

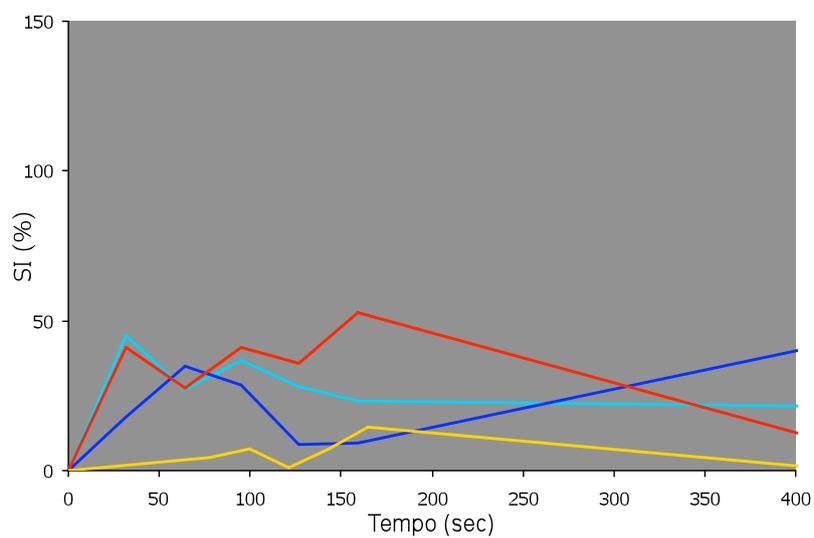
Curve di perfusione del gruppo di controllo.



Curve di perfusione paz sottoposti a Bifosfonati



Curve di per fusione osso necrotico con picco di enhancement più basso.



L'analisi parametrica del processo dinamico di diffusione del mezzo di contrasto ha permesso di valutare il livello di enhancement tissutale per ogni gruppo di pazienti. Il confronto tra le curve di enhancement mostra una differente impregnazione tissutale tra mandibole dei pazienti trattati con bifosfonati e mandibole dei pazienti non trattati. I pazienti appartenenti al gruppo di controllo e quelli aventi fatto uso di bifosfonati presentano un andamento simile delle curve di perfusione, ma i secondi mostrano valori massimi di enhancement inferiore. Queste alterazioni sono correlate alle caratteristiche del microcircolo.

Nei pazienti con necrosi ossea l'andamento delle curve di perfusione ha morfologia diversa rispetto ai gruppi precedenti e picco di enhancement più basso.

## **FOLLOW-UP**

Solo un numero esiguo di pazienti ha portato a termine il protocollo di studio.

Sono state eseguite DCE-MRI a distanza di un mese dal termine della terapia iperbarica in 4 pazienti che hanno eseguito terapia iperbarica- Due pazienti hanno mostrato miglioramento della perfusione e scomparsa dei segni di flogosi precedentemente evidenziati. In un paziente la situazione è risultata sovrapponibile alla situazione di partenza, presentando una necrosi ossea più estesa ed una mandibola meno perfusa anche se i segni clinici intraorali testimoniavano stazionarietà per quanto riguarda secrezione, mucosite e dolore.

Le DCE-MRI un paziente che non ha completato i cicli di terapia iperbarica mostra: necrosi e flogosi più estese in un paziente, mandibola meno perfusa nell'altro.

Tutti i pazienti con osteomielite riacutizzata in trattamento iperbarico (anche quelli che ancora non hanno portato a termine il protocollo) hanno un miglioramento clinico significativo con riduzione delle secrezioni purulente, migliore detersione dei tessuti molli adiacenti e riduzione significativa della sintomatologia dolorosa, 3 pazienti hanno evidenziato espulsione di sequestri durante la terapia con successiva miglioramento clinico.

## **CONCLUSIONI**

Il 17 pazienti sui 18 che hanno eseguito terapia iperbarica hanno evidenziato miglioramento clinico con regressione nello score della stadiazione secondo Marx.

I mascellari dei pazienti che hanno fatto uso di bifosfonati (anche se clinicamente/morfologicamente simili ai normali) hanno valori di enhancement inferiori rispetto al gruppo di controllo.

La Risonanza Magnetica standard con sequenze morfologiche descrive:

- aree necrotiche focali (localizzazione ed estensione);
- osso e tessuti molli adiacenti (alterazioni del midollo osseo, flogosi, sclerosi).

DCE-MRI con sequenze dinamiche identifica:

- differenze statisticamente significative tra pazienti dei gruppi bifosfonato e controllo;
- asimmetrie nella microvascolarizzazione mandibolare;
- aree necrotiche come lesioni avascolarizzate.

Esiste una diversa impregnazione tessutale tra mandibole dei pazienti trattati con bifosfonati e quelle dei pazienti non trattati, legata alle caratteristiche del microcircolo

Le aree focali di necrosi hanno una ridotta perfusione rispetto all'osso sano ed esistono aree più o meno estese di ipoperfusione

I pazienti trattati con OTI mostrano persistenza di osso necrotico ma con aree di migliore perfusione

L'ipoperfusione è una condizione preclinica rispetto alla necrosi, o comunque il segno di una iniziale alterazione dell'osso?

Questa metodica è potenzialmente in grado di individuare alterazioni di perfusione precliniche utili al fine della prevenzione, dello screening e follow-up dei pazienti che fanno uso di bifosfonati, è da investigare se l'utilizzo della Ossigenoterapia iperbarica in fase preclinica ove si sveli ipoperfusione sia di utilità per prevenire la estensione della necrosi.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Marx RE, Stern DS. Biopsy principles and techniques. Oral and Maxillofacial Pathology: A Rationale for Diagnosis and Treatment. Chicago: Quintessence, 2002:36-38.
2. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Graham R, Russel RG, Rogers MJ. Nitrogen-containing biphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding proteins, including Ras. J Bone Miner Res 1998; 13:581-589.
3. Dixon RB, Tricker ND, Garetto LP, Bone turnover in elderly canine mandible and tibia (abstract 2579). J Dent Res 1997;76:336.
4. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. N Eng J Med 1996;334:488-493.
5. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastasis. N Eng J Med 1996;335:1785-1791.
6. Mayor P. The use of zoledronic acid, a novel, highly potent biphosphonate, for the treatment of hypercalcemia of malignancy. The Oncologist 2002;7:481.
7. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. N Eng J Med 1995;333:1437-1443.
8. Jameson JL, Kasper DL, Fauci AS, Braunwald E, Longo DL, Hauser SL. Harrison's Endocrinology. New York: McGraw Hill Medical, 2006:411-414.
9. Berenson JR, Rosen LS, Howell A, et al. Zoledronic acid reduces skeletal-related events in patients with osteolytic metastasis. Cancer 2001;91:1191-1200.
10. Hoff AO, Toth AB, Hortobagyi GN, Gagel RF, Luna MA. Retrospective chart review to collect information on the frequency of osteonecrosis in patients treated with intravenous bisphosphonate therapy (study). Houston, TX: University of Texas, M.D. Anderson Cancer Center, 2005.

11. Marx RE. Oral and intravenous bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. Chicago: Quintessence, 2007.
12. Marx RE, Sawatary Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaw: risk factors, recognition, prevention and treatment. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63:1567-1575.
13. Mathieu D, Coget JM, Vinckier L, Saulnier F, Durocher A, Wattel F. Filtrabilité érythrocytaire et oxygénothérapie hyperbare. *Med Sub Hyp* 1984; 3:100-4.
14. Thom SR. Effects of hyperoxia on neutrophil adhesion. *Undersea Hyperb Med* 2004;31:123-31.
15. Niinikoski J. Effect of oxygen supply on wound healing and formation of experimental granulation tissue. *Acta Physiol Scand Suppl* 1969; 334:1-72.
16. Niinikoski J. Viability of ischemic skin in hyperbaric oxygen. An experimental study with rats. *Acta Chir Scand* 1970; 136:567-8.
17. Niinikoski J, Hunt TK. Oxygen and healing wounds: tissue-bone repair enhancement. In: Wattel F, ed. *Handbook of Hyperbaric Medicine*. Milan: Springer-Verlag, 1996:485-597.
18. Niinikoski J. Current concepts of the role of oxygen in wound healing. *Ann Chir Gynaecol* 2001; 90 Suppl 215:9-11.
19. Hunt TK, Niinikoski J, Zederfeldt B. Role of oxygen in repair processes. *Acta Chir Scand* 1972; 138:109-10.
  
20. Nilsson LP. Effects of hyperbaric oxygen treatment on bone healing. An experimental study in the rat mandible and the rabbit tibia. *Swed Dent J Suppl*. 1989;64:1-33.
21. Wu D, Malda J, Crawford R, Xiao Y. Effects of hyperbaric oxygen on proliferation and differentiation of osteoblasts from human alveolar bone. *Connect Tissue Res*. 2007;48(4):206-13.
22. Thom SR, Bhopale VM, Velazquez OC, Goldstein LJ, Thom LH, Buerk DG. Stem cell mobilization by hyperbaric oxygen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Apr;290(4):H1378-86. Epub 2005 Nov 18.
23. Thom SR et al., Inhibition of human neutrophil beta-2-integrin-dependent adherence by hyperbaric oxygen, *Am J Physiol* 1997, 272 (Cell Physiol 41): C770-C777.
24. Reenstra WR et al., Hyperbaric oxygen increases human dermal fibroblast proliferation, growth factor receptor number and in vitro wound closure, *Undersea and Hyperb Med*, abstract, 1998a, 25:53.
25. Mordacci M et al., OTI ed Antibiotici, XIV Congresso Nazionale SIMSI, Napoli 29.9-1.10.00.
26. Gibson JJ et al., Increased oxygen tension potentiates angiogenesis, *Surg Forum*, 1997, 48:696.