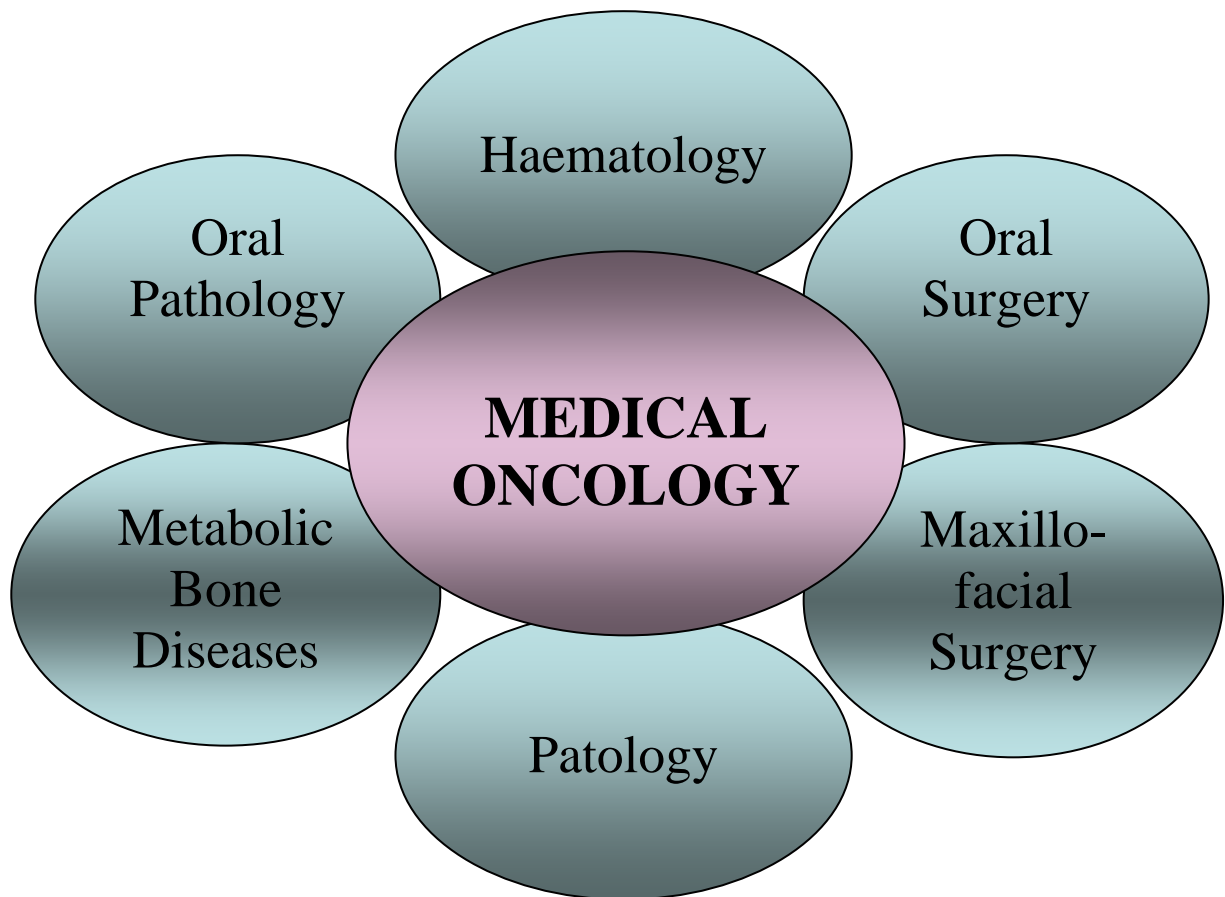


# Multidisciplinary **BRON –J GROUP**



## **PARTECIPANTI AL GRUPPO DI STUDIO:**

Francesco Di Costanzo, U.O. Oncologia Medica; e-mail: [oncmed02@aou-careggi.toscana.it](mailto:oncmed02@aou-careggi.toscana.it)

Virginia Rotella, U.O. Oncologia Medica; e-mail: [virginia\\_rotella@yahoo.it](mailto:virginia_rotella@yahoo.it)

Giuseppe Spinelli, U.O. Chirurgia Maxillo-Facciale; e-mail: [beppe\\_spinelli@libero.it](mailto:beppe_spinelli@libero.it)

Paolo Tonelli, U.O. Odontostomatologia; e-mail: [p.tonelli@odonto.unifi.it](mailto:p.tonelli@odonto.unifi.it)

Marco Divina, U.O. Odontostomatologia; e-mail: [marcoduvina@hotmail.com](mailto:marcoduvina@hotmail.com)

Alberto Borgioli, U.O. Odontostomatologia; e-mail: [alberto.borgioli@libero.it](mailto:alberto.borgioli@libero.it)

Maria Luisa Brandi, U.O. Malattie Metaboliche dell'Osso; e-mail: [m.brandi@dm.unifi.it](mailto:m.brandi@dm.unifi.it)

Silvia Carbonella, Lab. Malattie Metaboliche dell'Osso ; e-mail: [s.carbonell@dm.unifi.it](mailto:s.carbonell@dm.unifi.it)

Alberto Bosi, U.O. Ematologia; e-mail: [a.bosi@dac.unifi.it](mailto:a.bosi@dac.unifi.it)

Elisabetta Antonioli, U.O. Ematologia , e-mail: [elisabettaantonioli@libero.it](mailto:elisabettaantonioli@libero.it)

Alessandro Franchi, U.O. Anatomia e Istologia Patologica; e-mail: [alessandro.franchi@unifi.it](mailto:alessandro.franchi@unifi.it)

Giuseppe Ficarra, U.O. Patologia Orale; e-mail: [gificarr@tin.it](mailto:gificarr@tin.it)

Francesco Bennati, U.O. Patologia Orale; e-mail: [frabenit@yahoo.it](mailto:frabenit@yahoo.it)

Riccardo Pruneti, U.O. Patologia Orale;

Ida Rubino, U.O. Patologia Orale; e-mail: [i.rubino@odonto.unifi.it](mailto:i.rubino@odonto.unifi.it)

## **OBIETTIVI DEL GRUPPO**

- Valutare l'epidemiologia dell'incidenza dell'osteonecrosi della mandibola in pazienti neoplastici trattati con difosfonati.
- Identificare i fattori predittivi e di rischio correlati all'insorgenza dell'osteonecrosi della mandibola.
- Definire possibili linee guida per l'utilizzo dei difosfonati e la selezione dei pazienti.
- Definire uno studio clinico prospettico per la valutazione dell'incidenza, dei fattori di rischio e delle terapie correlate.
- Studiare i possibili fattori genetici (genomica) predittivi di una maggiore incidenza dell'osteonecrosi.

## **INDICE**

- Background .....pag. 5
- Epidemiologia..... pag. 5
- Fattori di Rischio..... pag. 7
- Stadiazione e trattamento di BRONJ.....pag. 9
- Percorso terapeutico.....pag. 11
- Studio quantitativo del microcircolo del tessuto osseo mandibolare in pazienti con osteonecrosi da bifosfonati..... pag. 12
- Analisi farmacogenetica.....pag. 13

## **BACKGROUND ED EPIDEMIOLOGIA**

I difosfonati sono correntemente utilizzati in oncologia per la gestione a breve termine dell'ipercalemia neoplastica e per il trattamento delle lesioni ossee metastatiche, allo scopo di ridurre il rischio di fratture patologiche e di controllare la sintomatologia dolorosa.

I tipi di molecole più utilizzati in campo oncologico sono lo zoledronato (Zometa), il pamidronato (Aredia) e l'ibandronato (Bondronat). Altri farmaci come il risedronato e l'alendronato sono principalmente utilizzati nel trattamento dell'osteoporosi.

Recentemente si è assistito ad un crescente numero di segnalazioni di osteonecrosi dei mascellari BRONJ (Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw).

Fino al 2003, i dati disponibili in letteratura erano limitati all'osteoradionecrosi della mandibola, associata a radioterapia per le neoplasie del distretto cervico-facciale. La prima segnalazione dell'evento risale alla fine del 2002.

Una ricerca nel data-base "adverse event report" aveva individuato nel 2003, 139 casi di osteonecrosi della mandibola di cui 47 con pamidronato, 33 con zoledronato e 59 in pazienti che ricevono entrambi i farmaci. In 12 casi era coinvolto l'alendronato ed in 1 caso il risedronato.

Attualmente questa complicanza è descritta quasi esclusivamente in corso di trattamento con aminodifosfonati, in particolare zoledronato, pamidronato ed ibandronato, probabilmente per la maggior potenza di questa categoria di farmaci.

I risultati di un progetto di farmacovigilanza, che ha incluso non solo i rapporti della FDA statunitense, ma anche una revisione dei casi della letteratura e dei dati forniti direttamente dalle case farmaceutiche, hanno consentito di identificare, nell'arco di 6 anni (a partire dal 1998) 561 casi di malattia.

I meccanismi patogenetici che portano allo sviluppo di questa complicanza non sono ancora del tutto noti. E' tuttavia possibile che sia implicata la riduzione dell'attività osteoclastica indotta dai difosfonati, in un'area in cui il rimodellamento osseo è particolarmente attivo. A tale riduzione dell'attività cellulare si assocerebbe una compromissione dell'apporto vascolare, con conseguente ischemia e necrosi del tessuto osseo.

Clinicamente tale condizione si caratterizza per la presenza di tessuto osseo esposto all'interno della cavità orale che può interessare nella maggioranza dei casi la mandibola (65%), ed in minor misura le ossa mascellari (26%) o altre sedi (9%). L'osteonecrosi della mandibola può rimanere asintomatica per molto tempo e generalmente il paziente inizia ad avvertire sintomi quando si realizza una sovrainfezione microbica; a questo punto si possono manifestare mobilità, caduta di denti ed ascessualizzazione. Il sintomo più spesso riportato dai pazienti è il dolore, mentre nei casi più gravi possono inoltre verificarsi sanguinamenti e parestesie. La diagnosi si avvale di esami radiologici semplici e della TC, che però soprattutto negli stadi iniziali, possono essere assolutamente normali.

I dati attualmente disponibili non consentono di stabilire con precisione l'incidenza reale di tale evento, tuttavia recenti lavori in letteratura indicano che nella maggior parte dei casi documentati (94%), tale evento è correlato con la somministrazione endovenosa di acido zoledronico e di acido

pamidronico secondaria al trattamento delle metastasi ossee, con un'incidenza nella popolazione neoplastica che si aggira intorno al 6-10% ed una prevalenza lievemente superiore per il sesso femminile (F:M=3:2).

Nell'ambito della popolazione neoplastica, il mieloma ed il carcinoma mammario metastatico rappresentano le forme tumorali che più frequentemente (85% dei casi) appaiono correlate all'insorgenza di osteonecrosi della mandibola nel corso della somministrazione parenterale di tale classe di farmaci.

Questa associazione tra alcuni tipi di neoplasia e l'osteonecrosi della mandibola può dipendere dal fatto che questi tumori hanno un'alta incidenza di metastasi ossee e richiedono l'utilizzo di difosfonati, che al momento sembrano essere la principale causa dell'osteonecrosi.

I principali fattori predisponenti l'insorgenza di tale complicanza sono rappresentati dalla dose, dal tipo di bifosfonato utilizzato e dalla durata del trattamento, dai traumi legati alle procedure dentarie e alle manipolazioni chirurgiche, dalle infezioni e dalla scarsa igiene del cavo orale.

Le dosi di difosfonati utilizzate in campo oncologico sono da quattro a dodici volte superiori rispetto a quelle che vengono impiegate per la prevenzione ed il trattamento dell'osteoporosi. Come dimostrato dai recenti dati della letteratura infatti, l'incidenza di osteonecrosi della mandibola nei pazienti che ricevono amino-difosfonati per via orale per la prevenzione ed il trattamento dell'osteoporosi e per la malattia di Paget dell'osso è molto più bassa (meno di 1 caso su 60.000 pazienti/anno) rispetto a quella correlata all'utilizzo di tali farmaci in ambito tumorale.

In considerazione da un lato delle difficoltà di porre una diagnosi sufficientemente precoce, tale da influire sul decorso della malattia e dall'altro, del grave impatto delle complicanze scheletriche in questi pazienti, appare fondamentale individuare delle strategie idonee per affrontare questo tipo di complicanza. A tal fine, secondo l'orientamento attuale, l'attenzione deve essere soprattutto rivolta all'incremento di misure di prevenzione.

Il trattamento dell'osteonecrosi della mandibola non è al momento codificato e con i diversi approcci terapeutici risulta molto difficile ottenere una remissione completa. La tendenza diffusa è quella di sospendere la terapia con difosfonati.

Alla luce di questi dati e dal momento che i difosfonati rappresentano attualmente uno strumento importante nel trattamento della malattia ossea metastatica, riteniamo fondamentale affrontare il problema adoperandoci attraverso la costituzione di un gruppo di lavoro di tipo multidisciplinare che possa cercare di garantire l'implementazione di interventi di prevenzione e di terapia dei pazienti in trattamento con tale classe di farmaci. E' nostra comune intenzione estendere il gruppo di lavoro ai principali centri (Oncologia, Ematologia, Reumatologia) della Regione Toscana attraverso l'invio di una scheda di valutazione per il censimento dei pazienti con osteonecrosi della mandibola secondaria a trattamento con difosfonati.

## **FATTORI DI RISCHIO**

Secondo l'American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) i fattori di rischio possono essere raggruppati nelle seguenti categorie:

### **I. Fattori di rischio collegati ai farmaci includono:**

- Efficacia del farmaco: Zoledronato (Cometa) è più efficace del pamidronato (Aredia) e quest'ultimo è più potente rispetto ai bifosfonati orali.
- Via di somministrazione: la via endovenosa ha un maggior rischio di esposizione ai fattori di rischio rispetto alla via orale
- Durata della terapia

### **II. Fattori di rischio locali:**

- chirurgia orale di base e avanzata con danno osseo:
  - a. estrazioni dentarie e implantologia
  - b. chirurgia periapicale
  - c. chirurgia parodontale
- ridotta igiene del cavo orale
- fumo; alcol
- anatomia locale: tori linguali e palatini
- protesi incongrue
- concomitanti patologie orali: parodontopatie, ascessi ecc.
- fattori predisponenti le infezioni e/o l'ischemia, quali diabete, trattamento con steroidi ad alte dosi, trattamento radiante, anemia, coagulopatie ecc.

### **III. Fattori demografici e sistemici.**

- Età, razza
- Diagnosi di patologia neoplastica. I pazienti con mieloma multiplo hanno un più alto rischio delle pazienti con carcinoma della mammella; allo stesso modo i pazienti con carcinoma della mammella hanno un più elevato rischio rispetto ai pazienti con altri tipi di cancro.
- Diagnosi di osteoporosi
- Chemioterapia associata
- Corticosteroidi
- Diabete
- Insufficienza renale
- Ipoproteinemia

## **FATTORI DI RISCHIO METABOLICO**

E' intuitivo che un tessuto osseo il cui metabolismo (con particolare riguardo alla componente osteoformativa) sia alterato sarà più sensibile all'azione di bisfosfonati potenti, quali gli aminobisfosfonati. I bisfosfonati infatti sono inibitori del processo di riassorbimento osseo ( ed in tal senso riequilibratori del processo di rimodellamento osseo nelle condizioni di alto turnover), ma inevitabilmente andranno a inibire il processo di formazione ossea, essendo i due processi "accoppiati".

Condizioni di basso anabolismo osseo, come riscontrabile nel trattamento con cortisonici, con chemioterapici oppure nell'anziano, sono pertanto spie di maggiore sensibilità.

Sarà pertanto necessario monitorare i marcatori di metabolismo osseo (fosfatasi alcalina ossea, CTX serico, calcemia, fosforemia, calciuria delle 24 ore, fosfaturia delle 24 ore, PTH) prima di decidere come orientare la terapia in pazienti con metastasi ossee. C'è un'altra condizione, la carenza ed inadeguatezza dell'ormone Vitamina D<sub>3</sub>, che può fortemente influenzare la risposta ai bisfosfonati. Pertanto i valori circolanti di 25 (OH) Vitamina D<sub>3</sub> potranno risultare utili per intervenire in maniera preventiva con somministrazioni di Vitamina D<sub>3</sub> e di calcio

## **STADIAZIONE E TRATTAMENTO DI BRONJ**

Nella maggior parte dei casi, il quadro clinico evolve in 2 fasi: la prima in cui prevale l'aspetto di sequestri multipli che corrisponde al periodo di buon controllo terapeutico; la successiva, caratterizzata da una necrosi estesa con suppurazione, in cui il trattamento farmacologico diviene inefficace. Possiamo quindi evidenziare un viraggio clinico dopo il quale i risultati ottenibili con il trattamento conservativo sono deludenti e risulta quindi indicato intervenire in modo più invasivo. Riteniamo che come suggerito da Ruggero e coll. occorre intervenire con protocolli di trattamento diversificati nel paziente complicato ed in quello non complicato.

### **STADIAZIONE**

Al fine di tracciare delle linee guida per un trattamento razionale e raccogliere i dati per elaborare la prognosi nei pazienti che hanno utilizzato bifosfonati per via endovenosa che orale, la AAOMS ha proposto l'uso delle seguenti categorie di stadiazione a cui corrispondono precise strategie di trattamento. (tabella 1)

<b>BRONJ Stadi</b>	<b>Strategia di trattamento</b>
<b>Categoria di pazienti a rischio:</b> nessun osso apparentemente esposto o necrotico in pazienti che sono stati trattati sia i bifosfonati per via endovenosa che orali	<ul style="list-style-type: none"><li>• Nessun trattamento indicato</li><li>• Prevenzione/educazione del paziente</li></ul>
<b>Stadio 1:</b> aree di osso esposto e/o necrotico in pazienti che sono asintomatici senza evidenza di infezione	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sciacquo antibatterico orale</li><li>• Follow up clinico</li><li>• Educazione del paziente e revisione delle indicazioni al proseguimento della terapia con bifosfonati</li></ul>
<b>Stadio 2:</b> Aree di osso esposto e/o necrotico associato ad infezione evidenziata da dolore ed eritema nell'area dell'osso esposto con o senza drenaggio purulento	<ul style="list-style-type: none"><li>• Trattamento sintomatico con terapia antibiotica a largo spettro (penicillina, cefalexina, clindamicina o fluorochinolone di I gen.)</li><li>• Sciacquo antibatterico orale</li><li>• Controllo del dolore</li><li>• Debridment superficiale per rimuovere l'irritazione dei tessuti molli</li></ul>
<b>Stadio 3:</b> Aree di osso esposto e necrotico in pazienti con dolore, infezione e uno o più dei seguenti segni: frattura patologica, fistola extraorale oppure osteolisi che si estende al bordo inferiore mandibolare	<ul style="list-style-type: none"><li>• Sciacquo antibatterico orale</li><li>• Terapia antibiotica e controllo del dolore</li><li>• Debridment e/o resezione chirurgica</li></ul>

Tab.1 Stadiazione e strategie di trattamento secondo l'AAOMS.

## **TRATTAMENTO**

Il trattamento di questa lesione è estremamente difficoltoso e prolungato, non ci sono dati scientifici che supportano qualsiasi scelta terapeutica: la chirurgia spesso peggiora la malattia.

Nel paziente che non presenta complicanze sono indicati curettage chirurgici finalizzati a ottenere una detersione meccanica. La detersione chimica viene effettuata con irrigazioni antiseptiche e con zaffatura mediante garza iodata, mentre l'azione locale di pomate antibiotiche e ripetuti sciacqui giornalieri con clorexidina al 0,12% migliora la prevenzione alle reinfezioni .

Prima del viraggio clinico con limitata esposizione di tessuto osseo e aree di piccoli sequestri sono utili manovre chirurgiche finalizzate ad ottenere una rimozione meccanica del tessuto necrotico (curettage e sequestrectomia) e trattamento antibiotico sistemico a largo spettro per lunghi periodi di tempo, associato ad applicazioni locali di antibiotici scelti sulla base delle culture ed antimicotici.

Dopo il viraggio clinico caratterizzato dalla comparsa di sintomi clinici (dolore - fistola – febbre), tessuto necrotico, riferiti a severa sovrainfezione, insensibilità al trattamento antibiotico e fratture patologiche, sono indicati interventi chirurgici più radicali quali curettage profondo, sequestrectomie, ampie resezioni ed innesti vascolarizzati.

La sospensione del bifosfonato è stata tra le decisioni più difficoltose e che riteniamo debba essere valutata con l'oncologo. Secondo Migliorati e coll. la sospensione dei bifosfonati è necessaria quando possibile, tuttavia non vi è una risposta clinica immediata alla loro sospensione. Anche la sospensione del bifosfonato prima di un qualsiasi atto di chirurgia orale non cambia la prognosi.

Il trattamento iperbarico è considerato da molti privo di effetto. Abbiamo osservato nei pazienti sottoposti a cicli di trattamento iperbarico e ad antibiotici una spiccata tendenza alla rigenerazione dei tessuti molli. La presenza di questo tessuto neofornato abbondantemente vascolarizzato può migliorare il trofismo e la protezione del tessuto osseo sottostante.

## **PERCORSO TERAPEUTICO PER LO SPECIALISTA ORALE**

La prevenzione è di fondamentale importanza per evitare l'insorgenza di questa patologia con scarse possibilità di guarigione. La selezione dei pazienti è la prima fase della prevenzione.

Come proposto da Marx e coll. l'odontoiatra deve partecipare all'approccio multidisciplinare del paziente oncologico che necessita di trattamento con Bifosfonati mediante:

- ❖ Raccolta di accurata anamnesi odontoiatrica, con attenzione a sintomi quali dolori facciali, difficoltà alla deglutizione e masticazione, situazione delle mucose orali e informazione relativa a recenti interventi di chirurgia orale.
- ❖ Consenso informato
- ❖ Valutazione del paziente: si applicano i protocolli severi di valutazione del cavo orale identici a quelli dei pazienti che saranno sottoposti a trattamento radiante di testa-collo, trapianto di midollo osseo, trapianto di organi ed applicazione di device.
- ❖ La valutazione strumentale di questi pazienti dovrebbe prevedere, prima del trattamento con difosfonati, l'esecuzione di una OPT finalizzata alla bonifica del cavo orale e di una Scintigrafia ossea con Tc.99 mt. Questa oltre ad evidenziare eventuali lesioni sarà una utile base di confronto con cambiamenti clinici riferiti dal paziente durante il trattamento. Lo scopo è di identificare: Siti Ipercaptanti "increase uptake areas" indicativi di aumentato rimaneggiamento osseo e siti ipocaptanti " Cold Spots" da considerarsi a rischio perché indicativi di necrosi cavitaria
- ❖ Durante e dopo il trattamento, l'esecuzione di OPT di controllo
- ❖ Bonifica prima del trattamento
- ❖ Evitare interventi chirurgici durante il trattamento
- ❖ Evitare traumi da protesi incongrue
- ❖ Identificazione dei pazienti a rischio
- ❖ Consegna al paziente di "Lettera per il Medico curante e l'Oncologo"
- ❖ Monitoraggio del cavo orale del paziente/ follow stretto (con particolare riferimento alla malattia parodontale)

In questi pazienti le possibili scelte terapeutiche devono essere guidate dalla fase di viraggio clinico: applicando protocolli conservativi nella prima fase e chirurgia resettiva nella successiva se le condizioni generali lo consentono.

Il paziente, prima di ogni terapia con bifosfonati, deve essere informato sul rischio elevato di questa complicanza, e quindi sensibilizzato a non sottovalutare alcuni sintomi che possono preludere a questa patologia. La maggior parte dei pazienti arrivati alla nostra osservazione, spesso tardivamente, con una corretta informazione avrebbero potuto evitare questa complicanza

## **STUDIO QUANTITATIVO DEL MICROCIRCOLO DEL TESSUTO OSSEO MANDIBOLARE IN PAZIENTI CON BRONJ**

I meccanismi coinvolti nella patogenesi della osteonecrosi mandibolare da bisfosfonati restano al momento oscuri. Una delle ipotesi che sono state avanzate chiama in causa l'effetto antiangiogenico dei bisfosfonati. Infatti, studi sperimentali condotti sia *in vitro* che *in vivo* hanno dimostrato che questi farmaci, ed in particolare il zolendronato, sono capaci di determinare un blocco della proliferazione delle cellule endoteliali indotta da fattori di crescita quali il VEGF ed il bFGF, possono ridurre la formazione di nuovi vasi (sprouting) nel modello della membrana corion-allantoidea, possono ridurre la formazione di strutture simil-vascolari *in vitro*, nonché inibire l'angiogenesi sottocutanea indotta nel topo da impianti contenenti bFGF (Wood J, 2002; Fournier P, 2002). Dato che l'efficienza del microcircolo ematico è di vitale importanza per il mantenimento della omeostasi ossea, si può ipotizzare che in condizioni di blocco della angiogenesi si possano creare alterazioni del flusso ematico in grado di determinare un microambiente ideale allo sviluppo della osteonecrosi mandibolare, anche a seguito di interventi di estrazione dentale o di microtraumi ripetuti.

In questo studio ci proponiamo di verificare se in pazienti affetti da neoplasia e sottoposti a trattamento con bisfosfonati, il microcircolo osseo a livello mandibolare sia modificato rispetto a quello presente in soggetti non trattati. A questo scopo verranno raccolti campioni di tessuto osseo da pazienti con osteonecrosi mandibolare sottoposti a resezione chirurgica del segmento affetto, avendo cura di prelevare i campioni a distanza dal focolaio di necrosi così da evitare modificazioni del microcircolo indotte dal processo patologico. Saranno inoltre raccolti campioni di controllo da segmenti di mandibola asportati chirurgicamente da pazienti non trattati con bisfosfonati durante interventi demolitivi per patologia neoplastica del cavo orale. Lo studio del microcircolo osseo verrà condotto con l'ausilio di metodiche immunoistochimiche, impiegando anticorpi specifici per le cellule endoteliali, quali il CD31. Verrà quindi valutata l'area percentuale occupata dalle strutture vascolari tramite istomorfometria computer-assistita, ed i risultati ottenuti saranno confrontati tra i due gruppi utilizzando test statistici appropriati.

## **ANALISI FARMACOGENETICA**

Il gene FDPS codifica per l'enzima farnesil pirofosfato sintasi, bersaglio molecolare degli aminobisfosfonati (N-BPs). Tale enzima è coinvolto nella via biosintetica del farnesil pirofosfato (FPP), la cui produzione sembra rappresentare il crocevia della via metabolica verso la sintesi del colesterolo o la prenilazione proteica. L'inibizione della modificazione lipidica post-traduzionale (prenilazione) può spiegare parte degli effetti cellulari degli N-BPs. Gli isoprenoidi quali il FPP ed il geranilgeranil difosfato (GGPP) sono necessari per la prenilazione di proteine segnalatorie quali le piccole GTPasi. Per queste proteine, i gruppi prenilici funzionano da ancore di membrana, risultando così fondamentali per la loro attivazione e per la loro interazione con altre proteine. L'enzima geranilgeranil difosfato sintasi (GGPS1) costituisce la principale fonte di modificazione prenilica negli OCs. FDPS è il target farmacologico degli N-BPs, ma la sua interazione con altri enzimi della via del mevalonato non può essere esclusa. Molti di questi enzimi, quali la squalene sintasi (FDFT1), utilizzano come substrato un isoprenoide difosfato e quindi potrebbero avere un sito di legame con il substrato molto simile a quello di FDPS. Lo scopo di questo progetto è la valutazione degli aspetti genetici della risposta agli N-BPs somministrati per via endovenosa (in particolare lo ZOL) mediante studi di associazione con polimorfismi noti dei seguenti geni candidati: FDPS (target preferenziale di ALN, RIS e probabilmente dello ZOL); FDFT1 (target preferenziale di ibandronato) e GGPS1 (enzima chiave nel processo di prenilazione delle piccole GTPasi negli OCs). Al fine di sfruttare al meglio le informazioni disponibili nelle diverse banche dati sugli SNPs, utilizzando un criterio razionale per la scelta dei polimorfismi da analizzare, è stato applicato un software che ha permesso l'identificazione su base teorica di SNPs informativi per lo studio. La lista degli SNPs individuati è stata successivamente analizzata applicando criteri di scelta soggettivi (SNPs che identificano un aplotipo, SNPs a localizzazione nota, frequenza elevata nella popolazione Caucasica). Appropriate coppie di oligonucleotidi verranno quindi disegnate per gli SNPs selezionati sulla base dei criteri succitati: FDPS: rs2297480; GGPS1: rs10925436, rs2803851 e FDFT1: rs1047643, rs9650662, rs2132709, rs1616534, rs1534863, rs7013950, rs7015547, rs962366, rs1298295, rs1736090 e rs1293293.

Il campo di applicazione della farmacogenetica ambisce all'identificazione di gruppi di aplotipi da poter utilizzare per correlare sia l'aplotipo alla risposta ad un determinato farmaco che l'aplotipo stesso ad un rischio reale per una determinata patologia. Una popolazione controllo Caucasica, selezionata in maniera random tra oltre 10000 campioni ematici anonimi servirà ad analizzare la distribuzione delle frequenze alleliche dei geni. Sono disponibili per ciascun controllo dettagli su età, etnia e storia clinica. I soggetti hanno firmato un Consenso Informato per studi di farmacogenetica approvati dal Comitato Etico locale.

Il presente studio pilota di farmacogenetica analizzerà il contributo di polimorfismi dei geni FDPS, GGPS1 e FDFT1, nel determinare efficacia e tossicità dei N-BPs in pazienti in terapia. Nessuno studio di farmacogenetica è stato ad oggi condotto per studiare l'influenza di tali geni nella risposta agli N-BPs in termini di efficacia e tossicità. Lo scopo principale del presente studio è la valutazione delle interazioni tra i polimorfismi genici di FDPS, GGPS1 e FDFT1 e le fasi acuta e cronica della risposta farmacologica agli N-BPs nelle patologie selezionate.

I risultati di questo studio e di studi analoghi potranno essere utili nel futuro per predeterminare, attraverso l'analisi dell'aplotipo del singolo paziente se optare o meno per un trattamento terapeutico con N-BPs potendo prevedere l'entità della risposta e/o la possibilità di sviluppare reazioni indesiderate.

Gli stessi polimorfismi genici selezionati per la correlazione alla risposta in vivo verranno analizzati in cellule studiate in vitro ed ex vivo provenienti da genotipi/aplotipi opposti. La risposta biochimica in vitro verrà correlata al genotipo/aplotipo corrispondente e questo permetterà l'analisi di funzionalità dei polimorfismi analizzati. Inoltre, nelle popolazioni patologiche studiate, i polimorfismi analizzati verranno confrontati per distribuzione a quanto caratterizzato nella coorte sana per poter evidenziare eventuali associazioni genotipo/fenotipo.

I dati clinici saranno rappresentati come  $media \pm DS$ . L'analisi statistica sarà eseguita col programma SPSS (USA). Le tabelle di contingenza per il Chi-2 saranno usate per confrontare i dati qualitativi. L'analisi di varianza sarà invece eseguita per confrontare i dati quantitativi. Le differenze rispetto alla base saranno esaminate con il test t di Student per campioni appaiati. Tutti i test statistici impiegati saranno "a due code". Un valore di  $p < 0,05$  sarà considerato statisticamente significativo.

Tutti i possibili aplotipi per ciascun locus saranno costruiti per ciascuno dei polimorfismi analizzati in ciascun target utilizzando il programma PHASE e tutti i risultati della genotipizzazione saranno testati per l'equilibrio di Hardy-Weinberg sia nei soggetti affetti sia nei soggetti di controllo. La frequenza (la percentuale dei cromosomi contenente ciascun allele) ed il "carriage" (la percentuale degli individui che possiede una o due copie di un allele) di ciascuno SNP o l'aplotipo "PHASE-constructed" saranno determinati in ciascun gruppo di soggetti. Le associazioni genotipo-fenotipo saranno analizzate con il test del Chi-2 o il test esatto di Fisher.

L'assunzione di calcio, il consumo di alcool, l'attività fisica, l'aderenza alla terapia e gli errori posologici saranno valutati quali possibili fattori confondenti o interferenti dell'analisi statistica.

## **FASI DELLO STUDIO**

- I.** COSTITUZIONE DEL GRUPPO DI LAVORO E VALUTAZIONE CRITICA DELLA LETTERATURA
  
- II.** STUDIO RETROSPETTIVO SULLA CASISTICA AFFERENTE ALL'AOUC E NELLE STRUTTURE ONCOLOGICHE DELLA RETE ITT.  
DISEGNO DI UNO STUDIO
  
- III.** STUDIO PROSPETTICO
  
- IV.** LINEE GUIDA E CONCLUSIONI

## BIBLIOGRAFIA

Gridelli C.

**The use of bisphosphonates in elderly cancer patients**

Oncologist, 2007 Jan; 12(1): 62-71.

Khamaisi M, Regev E, Yarom N, Avni B, Leitersdorf E, Raz I, Elad S.

**Possible Association between Diabetes and Bisphosphonates-Related Jaw Osteonecrosis**

J. Clin Endocrinol Metab. 2006 Dec 19;

Bilezikian JP.

**Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk?**

N Engl J Med. 2006 Nov 30;355(22):2278-81.

Sook-Bin Woo; John W. Hellstein, DDS, MS; and John R. Kalmar, DMD, PhD

**Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw.**

Ann Intern Med. 2006 Nov 21;145(10):791-2; author reply 792.

D. Aguiar Bujanda, U. Bohn Sarmiento, M. A. Cabrera Suarez and Aguiar Morales

**Assessment of renal toxicity and osteonecrosis of the jaw in patients receiving zoledronic acid for bone metastasis**

Annals of Oncology 2006 Nov.

G. Sanna, L. Preda, R. Bruschini, M. Cossu Rocca, S. Ferretti, L. Adiamoli, E. Verri, L. Franceschelli, A. Goldrisc and F. Nolè

**Bisphosphonates and jaw osteonecrosis in patients with advanced breast cancer.**

Ann Oncol. 2006 Oct;17(10):1512-6. Epub 2006 Aug 25.

T. Van den Wyngaert, M. T. Huizing and J.B. Vermorcken

**Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: cause and effect or a post hoc fallacy?**

Ann Oncol. 2006 Aug;17(8):1197-204. Review.

M. Ardine, D. Generali, M. Donadio, S. Bonari, M. Scoletta, A. M. Vandone, M. Mozzati, O. Berretto, A. Bottini, L. Dogliotti, A. Berruti

**Could the long-term persistence of low serum calcium levels and high serum parathyroid hormone levels during bisphosphonate treatment predispose metastatic breast cancer patients to undergo osteonecrosis of the jaw?**

Ann Oncol. 2006 Aug;17(8):1336-7. Epub 2006 Mar 8.

Cesar A. Migliorati, Michael A. Siegel, Linda S. Elting

**Bisphosphonate-associated osteonecrosis: a long-term complication of bisphosphonate treatment.**

Lancet Oncol. 2006 Jun;7(6):508-14. Review. Erratum in: Lancet Oncol. 2006 Jul;7(7):533.

C. Ortega , R. Faggiuolo, R. Vormola, F. Montemurro, D. Nanni, F. Goia, M. Aglietta

**Jaw complications in breast and prostate cancer patients treated with zoledronic acid.**

Acta Oncol. 2006;45(2):216-7.

Dimopoulos MA, Kastritis E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Moulopoulos LA, Bamia C, Terpos E, Tsionos K, Bamias A

**Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid.**

Haematologica. 2006 Jul;91(7):968-71. Epub 2006 Jun 1.

Nerea Ponte Fernandez, Ruth Estefania Fresco, Josè Manuel Aguirre Urizar

**Bisphosphonates and Oral Pathology I. General and preventive aspects**

Oral Medicine and Pathology, 2006 June

Sook-Bin Woo; John W. Hellstein, DDS, MS; and John R. Kalmar, DMD, Phd

**Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws.**

Ann Intern Med. 2006 May 16;144(10):753-61. Review. Erratum in: Ann Intern Med. 2006 Aug 1;145(3):235.

Ashraf Badros, Dianna Weikel, Andrew Salama, Olga Goloubeva, Abraham Schneider, Aaron Rapoport, Robert Fenton, Natalie Gahres, Edward Sausville, Robert Ord, Timothy Meiller

**Osteonecrosis of the Jaw in Multiple Myeloma Patients: Clinical Features and Risk Factors**  
JCO Feb 20 2006: 945-952.

Nerea Ponte Fernandez, Ruth Estefania Fresco, Josè Manuel Aguirre Urizar

**Bisphosphonates and Oral Pathology II. Osteonecrosis of the jaw: Review of the literature before 2005**

Oral Medicine and Pathology, 2005 May

Maico D. Melo, D.M.D. and George Obeid D.D.S

**Osteonecrosis of the jaws in patients with a history of receiving bisphosphonate therapy: strategies for prevention and early recognition.**

J Am Dent Assoc. 2005 Dec;136(12):1675-81.

G. Sanna, M. G. Zampino, G. Pelosi, F. Nolè, A. Goldhirsch

**Jaw avascular bone necrosis associated with long-term use of biphosphonates.**

Ann Oncol. 2005 Jul;16(7):1207-8. Epub 2005 Apr 22.

Wood J, Bonjean K, Ruetz S, Bellahcene A, Devy L, Foidart JM, Castronovo V, Green JR.

**Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid.** Pharmacol Exp Ther. 2002;302:1055-61

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. 2002;62:6538-44

Marx R.E.

**Pamibronato (Aredia) and Zoledronato (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: A growing epidemic.**

J.Oral Maxillofac.Sur. 2003; 61: 1115 –1118.

Ruggiero S.L., Rosemberg T.J., Engroff S.L.

**Osteonecrosis of the Jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases.**  
J.Oral Maxillofac.Sur. 2004; 62: 527 – 534.

Hellstein J.W., Marek C.L., Pharm B.S.

**Biphosphonate Osteochemonecrosis (bis-phossy jaw): Is this phossy of the 21<sup>st</sup> Century.**  
J.Oral Maxillofac.Sur. 2005; 63 : 682 – 689.

Migliorati C.A., Schubert M.M., Peterson D.E., Seneda L.M.

**Biphosphonate-associated osteonecrosis of mandibular bone**  
Cancer 2005; 104, 1: 83 – 93.

Durie BG, et al.

**Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonates.**  
N Engl J Med 2005, 353:99-102.