УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ – СКОПЈЕ

Филип Љупчо Конески

ПРЕВЕНТИВНИ И ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА АТОРВАСТАТИН ВРЗ МЕДИКАМЕНТОЗНАТА ОСТЕОНЕКРОЗА НА ВИЛИЦИТЕ (MRONJ)

-докторски труд-

Скопје, 2026 г.

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ ВО СКОПЈЕ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ – СКОПЈЕ
Катедра за максилофацијална хирургија

Филип Љупчо Конески

ПРЕВЕНТИВНИ И ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА АТОРВАСТАТИН ВРЗ МЕДИКАМЕНТОЗНАТА ОСТЕОНЕКРОЗА НА ВИЛИЦИТЕ (MRONJ)

-докторски труд-

Скопје, 2026 г.

Докторанд: ФИЛИП ЉУПЧО КОНЕСКИ

Наслов на темата: ПРЕВЕНТИВНИ И ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА АТОРВАСТАТИН ВРЗ МЕДИКАМЕНТОЗНАТА ОСТЕОНЕКРОЗА НА ВИЛИЦИТЕ (MRONJ)

Ментор: Проф. д-р Даница Поповиќ Моневска
Редовен професор на Катедрата за максилофацијална хирургија,
Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје
Стоматолошки факултет – Скопје

Состав на комисијата за одбрана:

Научна област: Медицински науки и здравство
Поле: Стоматолошки науки (максилофацијална хирургија)

Датум на одбрана:

Филип Љупчо Конески

ПРЕВЕНТИВНИ И ТЕРАПИСКИ ЕФЕКТИ НА АТОРВАСТАТИН ВРЗ МЕДИКАМЕНТОЗНАТА ОСТЕОНЕКРОЗА НА ВИЛИЦИТЕ (MRONJ)

- А п с т р а к т –

ВОВЕД

Медикаментозната остеонекроза на вилиците (MRONJ) претставува сериозна компликација поврзана со примената на антиресорптивни и антиангиогени лекови, најчесто бисфосфонати и деносумаб. Овие медикаменти имаат значајна клиничка улога во третманот на остеопороза, мултипен миелом и малигни заболувања со коскени метастази, но нивната долготрајна употреба може да доведе до нарушување на физиолошкиот процес на коскеното ремоделирање, инхибиција на остеокластната активност, намалена ангиогенеза и зголемена подложност кон воспалителни и инфективни процеси во оралната средина. MRONJ се манифестира како експонирана некротична коска во максилофацијалната регија, а патогенезата на оваа состојба е комплексна и мултифакторна и вклучува интеракција помеѓу нарушено коскено ремоделирање, микроваскуларна дисфункција, воспалителни процеси и микробиолошки фактори. И покрај значајните научни и клинички придонеси во изминатите години за превенција и третман на оваа состојба, MRONJ сè уште претставува голем клинички проблем, особено во понапреднатите стадиуми, бидејќи значајно го влошува квалитетот на живот кај овие пациенти.

Во последните години се зголемува интересот за потенцијалната улога на статините, во модулацијата на коскениот метаболизам и воспалителниот одговор. Покрај нивниот добро познат хиполипидемичен ефект, статините поседуваат плеотропни биолошки својства што вклучуваат антиинфламаторно дејство, подобрување на ендотелната функција, стимулација на ангиогенезата и потенцијално стимулирање на остеобластната активност. Овие својства укажуваат дека статините можат да имаат потенцијална превентивна и терапевтска улога во контекст на MRONJ.

Главната цел на ова истражување беше да се проценат превентивните и терапевтските ефекти на аторвастатин врз развојот и прогресијата на MRONJ во експериментален анимален модел.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Истражувањето беше дизајнирано како експериментална студија во која беше применет модел на медикаментозна остеонекроза на вилиците кај бели лабораториски стаорци, индуциран со екстракција на заб. Животинските субјекти беа распределени во седум експериментални групи со цел да се анализира влијанието на различни терапевтски и превентивни протоколи со аторвастатин. Позитивната контролна група беше третирана со физиолошки раствор, негативната контролна група со золедронска киселина, две испитувани групи со золедронска киселина и апликација на аторвастатин системски и локално веднаш по екстракцијата, една група со золедронска киселина и локална апликација на аторвастатин две недели по извршената екстракција и две групи

третирани исклучиво со аторвастатин (локално и системски), без золедронска киселина.

По индукцијата на моделот и спроведувањето на екстракцијата на заб како тригер-фактор на третата недела од почетокот беше следен процесот на зараснување на постекстракциските рани по седум недели од почетокот на експериментот. Клиничката проценка вклучуваше евалуација на експозиција на коска, присуство на воспалителни промени и динамиката на мекоткивното зараснување. Радиолошката анализа беше изведена со компјутеризирана томографија со конусен зрак (CBCT) со цел да се проценат структурните промени во коскеното ткиво, вклучувајќи ја густината на коската, присуството на остеолитични региони и нарушувањето на трабекуларната архитектура. Хистопатолошката анализа опфати микроскопска евалуација на коскените примероци со фокус на присуство на некротични региони и воспалителна инфилтрација. Беше спроведена и биохемиска проценка на проинфламаторните цитокини TNF-α и IL-1β, како и на антиоксидативните ензими каталаза, супероксид дизмутаза и глутатион редуктаза.

РЕЗУЛТАТИ

Резултатите од студијата покажаа дека примената на аторвастатин има значајно влијание врз процесот на зараснување на постекстракциските рани и врз степенот на развој на остеонекротични промени. Во групите третирани со аторвастатин беше забележано значително намалување на инциденцијата и тежината на MRONJ во споредба со контролната група. Клиничките резултати укажаа на подобрено зараснување на меките ткива и намалена експозиција на некротична коска. Радиолошките анализи покажаа подобро зачувување на коскената архитектура и намалено присуство на остеолитични промени. Хистопатолошките наоди потврдија дека третманот со аторвастатин е асоциран со намалена појава некроза на коскеното ткиво и значително намалување на воспалителната инфилтрација. Биохемиската анализа покажа значајно намалување на концентрациите на TNF-α и IL-1β во експерименталните групи третирани со аторвастатин, што укажува на неговото антиинфламаторно дејство и потенцијалната улога во модулацијата на воспалителниот одговор. Додавањето на аторвастатин значајно го подобри и антиоксидативниот потенцијал преку подобрување на функцијата на испитуваните ензими. Сите параметри беа подобрени и во групата со одложен третман со аторвастатин, но во помал степен во споредба со другите две групи третирани со аторвастатин. Во групите третирани само со аторвастатин не се детектираа несакани ефекти во однос на испитуваните параметри.

ЗАКЛУЧОК

Резултатите од ова истражување укажуваат дека аторвастатинот има значаен превентивен и терапевтски ефект врз медикаментозната остеонекроза на вилиците. Овие ефекти се особено изразени кога тој се дава системски и локално непосредно по екстракцијата на забот, а ефектите се позитивни, но помалку изразени при негова апликација по две недели од екстракцијата на забот.

Клучни зборови: медикаментозна остеонекроза на вилиците (MRONJ); бисфосфонати; золедронска киселина; екстракција на заб; аторвастатин; компјутерска томографија со

конусен зрак; патохистолошка анализа; проинфламаторни цитокини; антиоксидативни ензими.

Filip Ljupcho Koneski

PREVENTIVE AND THERAPEUTIC EFFECTS OF ATORVASTATIN ON MEDICATION-RELATED OSTEONECROSIS OF THE JAW (MRONJ)

- A b s t r a c t -

INTRODUCTION

Medication-related osteonecrosis of the jaws (MRONJ) represents a serious complication associated with the use of antiresorptive and antiangiogenic agents, most commonly bisphosphonates and denosumab. These medications play a significant clinical role in the treatment of osteoporosis, multiple myeloma, and malignant diseases with bone metastases; however, their long-term use may disrupt the physiological process of bone remodeling through inhibition of osteoclastic activity, reduced angiogenesis, and increased susceptibility to inflammatory and infectious processes in the oral environment. MRONJ manifests as exposed necrotic bone in the maxillofacial region. The pathogenesis of this condition is complex and multifactorial, involving interactions among impaired bone remodeling, microvascular dysfunction, inflammatory processes, and microbiological factors. Despite considerable scientific and clinical advances in recent years regarding the prevention and treatment of this condition, MRONJ remains a significant clinical challenge, particularly in advanced stages, as it markedly compromises patients' quality of life.

In recent years, increasing attention has been directed toward the potential role of statins in the modulation of bone metabolism and inflammatory responses. In addition to their well-known hypolipidemic effects, statins possess pleiotropic biological properties, including anti-inflammatory activity, improvement of endothelial function, stimulation of angiogenesis, and potential promotion of osteoblastic activity. These properties suggest that statins may have a potential preventive and therapeutic role in the context of MRONJ.

The primary aim of this study was to evaluate the preventive and therapeutic effects of atorvastatin on the development and progression of MRONJ in an experimental animal model.

MATERIALS AND METHODS

The study was designed as an experimental investigation utilizing a medication-related osteonecrosis of the jaw model in white laboratory rats induced by tooth extraction. The animal subjects were allocated into seven experimental groups in order to analyze the effects of different preventive and therapeutic protocols involving atorvastatin. The positive control group was treated with physiological saline, while the negative control group received zoledronic acid. Two experimental groups were treated with zoledronic acid combined with systemic and local administration of atorvastatin immediately following tooth extraction. One group received zoledronic acid with local administration of atorvastatin two weeks after extraction, and two additional groups were treated exclusively with atorvastatin (local and systemic administration) without zoledronic acid.

Following induction of the experimental model and the performance of tooth extraction as a trigger factor at the third week from the beginning of the protocol, the healing process of the post-extraction wounds was evaluated seven weeks after the start of the experiment. Clinical assessment included evaluation of bone exposure, presence of inflammatory changes, and the dynamics of soft-tissue healing. Radiological analysis was performed using cone-beam computed tomography (CBCT) in order to assess structural changes in the bone tissue, including bone density, presence of osteolytic regions, and disruption of trabecular architecture. Histopathological analysis involved microscopic evaluation of bone samples focusing on the presence of necrotic regions and inflammatory infiltration. In addition, biochemical analysis was performed to assess the levels of proinflammatory cytokines TNF-α and IL-1β, as well as the activity of antioxidant enzymes including catalase, superoxide dismutase, and glutathione reductase.

RESULTS

The results of the study demonstrated that the administration of atorvastatin had a significant influence on the healing process of post-extraction wounds and on the degree of development of osteonecrotic changes. In the groups treated with atorvastatin, a significant reduction in the incidence and severity of MRONJ was observed compared to the negative control group. The clinical findings indicated improved soft-tissue healing and reduced exposure of necrotic bone. Radiological analyses revealed better preservation of bone architecture and reduced presence of osteolytic changes. Histopathological findings confirmed that treatment with atorvastatin was associated with a reduced occurrence of bone tissue necrosis and a significant decrease in inflammatory infiltration. Biochemical analysis demonstrated a significant reduction in the concentrations of TNF-α and IL-1β in the experimental groups treated with atorvastatin, indicating its anti-inflammatory effects and its potential role in modulation of the inflammatory response. The addition of atorvastatin also significantly improved antioxidant potential through enhanced activity of the investigated enzymes.

All parameters were also improved in the group receiving delayed atorvastatin treatment; however, these effects were less pronounced compared with the other two atorvastatin-treated groups. In the groups treated solely with atorvastatin, no adverse effects were detected with respect to the investigated parameters.

CONCLUSION

The findings of this study indicate that atorvastatin exerts significant preventive and therapeutic effects on medication-related osteonecrosis of the jaws. These effects are particularly pronounced when atorvastatin is administered systemically and locally immediately following tooth extraction, while beneficial but less pronounced effects are observed when administration occurs two weeks after tooth extraction.

Keywords: medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ); bisphosphonates; zoledronic acid; tooth extraction; atorvastatin; cone beam computed tomography; proinflammatory cytokines; antioxidative enzymes.

Овој докторски труд го посветувам на мојата мајка Сузана, мојот покоен татко Љупчо и мојата сестра Мартина, кои со својата бескрајна љубов и грижа несебично ме поддржуваа, ми помагаа и веруваа во мене во текот на моето студирање и мојот живот.

Изразувам огромна благодарност до:

Проф. д-р Даница Поповиќ Моневска, менторка на моите докторски студии. Ви благодарам за несебичната помош од почетокот на моето високо образование, за Вашата верба во мене и мојата работа, за поттикнувањето, трпеливоста и проактивноста во сите фази од изработката на овој труд и за Вашиот искрен и пријателски пристап. Вие сте ментор каков што секој кандидат би можел да посака.

Проф. д-р Ицко Ѓоргоски, за Вашиот несебичен ангажман и пружена помош и поддршка, од почетокот на моите додипломски студии, како и за соработката што продолжи и во изработката на овој докторски труд. Без Вас, изборот на оваа тема и нејзината реализација немаше да бидат можни.

Овој докторски труд немаше да биде изработен без поддршката, соработката и помошта од многу колеги и колешки, пријатели и поединци – експерти во различни области.

Изјавувам дека докторскиот труд е оригинален труд што го имам изработено самостојно.

Изјавувам дека електронската верзија на докторскиот труд е идентична со отпечатениот докторски труд.

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД 12

2. ПРЕГЛЕД ОД ЛИТЕРАТУРАТА 15

2.1. Структура и функција на коскеното ткиво 15

2.1.1. Коскени клетки и нивна функција 18

2.2. Моделирање и ремоделирање на коската 21

2.2.1. Ендокрина регулација на циклусот на коскено ремоделирање 22

2.2.2. Паракрина регулација на циклусот на коскено ремоделирање 25

2.3. Заздравување на постекстракциска рана 25

2.4. Заболувања што го зафаќаат коскеното ткиво 27

2.5. Медикаментозна остеонекроза на вилиците (MRONJ) 30

2.5.1. Дефиниција 30

2.5.2. Епидемиологија 31

2.5.3. Патофизиологија 32

2.5.4. Фактори на ризик 33

2.5.5. Медикаментозни фактори (антиресорптивни, антиангиогени и други лекови) 33

2.5.6. Локални фактори 45

2.5.7. Системски фактори на ризик 46

2.5.8. Клинички манифестации и стадиуми на MRONJ 47

***Пациенти под ризик* 48**

***Стадиум 0 (варијанта без експонирана коска)* 48**

***Стадиум 1* 49**

***Стадиум 2* 49**

***Стадиум 3* 49**

2.5.9. Радиолошка дијагностика 49

2.6. Третман на MRONJ 52

2.7. Превентивни концепти за MRONJ 57

2.8. Имунолошки промени кај MRONJ 59

2.9. Експериментални животински модели на MRONJ 63

2.10. Статините како можни модификатори на коскениот метаболизам и превенција и третман на MRONJ 65

2.10.1 Молекуларна основа на влијанието на статините врз метаболизмот на коските 67

2.10.2. Истражувања на ефектите на статините врз коскените ткива 69

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ 71

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ 74

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА 83

5.1. Тежина на стаорци 83

5.2. Клиничка оценка на заздравување на раната и постоење на медикаментозна остеонекроза 90

5.3. Патохистолошка анализа 93

5.3.1. Присуство на остеонекроза 93

5.3.2. Степен на воспаление 98

5.4. Тридимензионална компјутерска томографија со конусен зрак (CBCT) 101

5.5. Корелација меѓу клиничкото зараснување на раната, патохистолошката анализа и CBCT 104

5.6. TNF-алфа 114

5.7. IL-1Beta 121

5.8. Корелација меѓу TNF-алфа и IL-1бета 128

5.9. Каталаза 134

5.10. Супероксид дизмутаза (СОД) 140

5.11. Глутатион редуктаза (ГР) 146

5.12. Корелација меѓу каталаза, супероксид дизмутаза и глутатион редуктаза 153

5.13. Мултипна регресиска анализа 160

5.13.1. Клиничка оценка како зависна варијабла 160

5.13.2. Патохистолошка остеонекроза како зависна варијабла 166

5.13.3. CBCT анализа како зависна варијабла 172

5.14. Други крвни анализи 180

6. ПРИМЕНА НА РЕЗУЛТАТИТЕ И ПОТРЕБА ОД ИДНИ ИСТРАЖУВАЊА 198

7. ЗАКЛУЧОЦИ 202

8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА 205

1. ВОВЕД

Бисфосфонатите претставуваат група на фармаколошки агенси што ја инхибираат коскената ресорпција преку супресија на остеокластната активност и се меѓу најширокоприменуваните лекови во третманот на нарушувања на коскениот метаболизам. Тие се користат во терапијата на остеопороза, за превенција и третман на коскени метастази кај одредени малигни заболувања, кај мултипен миелом, Пагетова болест и други состојби карактеризирани со зголемена коскена ресорпција. Благодарение на нивната ефикасност, бисфосфонатите се во клиничка употреба повеќе од две децении и долго време се сметаа за релативно безбедни лекови со ограничен број на сериозни несакани ефекти.

Сепак, во 2003 година по првпат беше опишана остеонекроза на вилиците поврзана со примена на бисфосфонати, по што следуваа многубројни пријавени случаи и интензивни научни анализи. Овој сериозен несакан ефект подоцна беше забележан и кај пациенти третирани со деносумаб, моноклонално антитело насочено кон рецепторскиот активатор на нуклеарниот фактор капа-Б лиганд (RANKL), кој има слични индикации како бисфосфонатите. Првично дефинирана како бисфосфонатна остеонекроза на вилиците (BRONJ), оваа состојба подоцна беше преименувана во медикаментозна остеонекроза на вилиците (MRONJ), со цел да се опфати поширокиот спектар на вклучени лекови.

MRONJ се дефинира како постоење на експонирана некротична коска или фистула што води до некротична коска, со траење подолго од осум недели, кај пациенти третирани со антиресорптивни или антиангиогени лекови, без историја на зрачна терапија или метастатска зафатеност на вилиците. Преваленцијата на MRONJ значително варира во зависност од популацијата и терапевтскиот режим, при што највисоки стапки се забележуваат кај онколошки пациенти третирани со интравенски бисфосфонати на месечна основа, додека ризикот кај пациенти со остеопороза кои примаат орална терапија е исклучително низок.

И покрај значителниот напредок во разбирањето на оваа состојба, патофизиолошките механизми на MRONJ сè уште не се целосно разјаснети. Достапните докази укажуваат

дека инфекцијата и хроничното воспаление имаат централна улога во иницирањето на некротичниот процес. Нарушеното заздравување на меките ткива и коската по екстракција на заби и други орално-хируршки интервенции резултира со перзистентна експозиција на некротична коска во усната празнина. Во одредени случаи, MRONJ може да се развие и спонтано, најчесто како резултат на микротрауми на оралната мукоза, особено кај пациенти кои користат мобилни протетски надоместоци. Супресијата на коскената ремоделација, инхибицијата на ангиогенезата, нарушената епителна регенерација и изменетата имунолошка реактивност се сметаат за клучни патофизиолошки обележја на оваа состојба.

Клиничката презентација на MRONJ е класифицирана од страна на Американската асоцијација на орални и максилофацијални хирурзи во четири стадиуми (0–3), врз основа на клиничките, радиолошките и анатомските карактеристики. Иако оваа класификација претставува основа за превентивни и терапевтски протоколи, постојат многубројни контроверзии во однос на оптималниот пристап кон лекувањето, што ја нагласува потребата од дополнителни истражувања.

Третманот на MRONJ може да биде конзервативен или хируршки и најчесто е насочен кон контрола на инфекцијата, намалување на симптомите и подобрување на квалитетот на живот. И покрај многубројните предложени терапевтски стратегии и експериментални пристапи, сè уште не постои универзално прифатен и доктринарен протокол за превенција и третман на MRONJ.

Во овој контекст, сè поголемо внимание привлекуваат статините – лекови примарно користени за третман на хиперхолестеролемија, кои покрај нивниот липидо-намалувачки ефект, покажуваат и значајни плеотропни својства. Преку инхибиција на HMG-CoA редуктазата и мевалонатниот пат, статините влијаат врз воспалителните процеси, ангиогенезата, коскената регенерација и клеточната диференцијација. Експерименталните студии укажуваат дека симвастатинот и други статини можат да го стимулираат создавањето коска, да ја подобрат васкуларизацијата и да го поттикнат заздравувањето на постекстракциските рани.

Анималните модели, особено кај лабораториски стаорци, имаат клучна улога во испитувањето на патогенезата на MRONJ и во евалуацијата на потенцијални

превентивни и терапевтски интервенции. И покрај охрабрувачките резултати од претходните студии, до денес постои ограничен број истражувања што го анализирале ефектот на статините врз развојот на MRONJ кај субјекти претходно третирани со бисфосфонати.

Оваа дисертација, во прегледот на литературата вклучува подетални податоци за анатомијата и метаболизмот на коската, како и најчестите коскени заболувања што бараат терапија со бисфосфонати. Понатаму, се прикажува детален преглед на антиресорптивните лекови, нивните несакани ефекти и патогенезата на MRONJ, вклучувајќи ги ризик-факторите и стратегиите за нивно намалување. Посебно поглавје е посветено на анималните модели на MRONJ, со акцент на нивната релевантност за транслациско истражување. Во експерименталниот дел се анализира ефектот на аторвастатинот врз заздравувањето на коскените и мекоткивните рани и врз појавата на MRONJ, со цел да се придонесе кон развој на нови превентивни и терапевтски пристапи, користејќи експериментален анимален модел на лабораториски стаорци од типот Wistar. Студијата користи мултимодален пристап на анализа, вклучувајќи клинички, патохистолошки, радиографски, крвни и серолошки анализи на проинфламаторни цитокини и антиоксидативни ензими, со цел сеопфатно да се прикаже ефектот на аторвастатинот, аплициран локално и системски, врз превенцијата и терапијата на MRONJ. Конечно, резултатите се преточени во соодветни заклучоци и нивна понатамошна можна примена, како и потребата од дополнителни клинички и претклинички испитувања.

2. ПРЕГЛЕД ОД ЛИТЕРАТУРАТА

2.1. Структура и функција на коскеното ткиво

Коскеното ткиво претставува висококалцифициран тип на ткиво со комплексни механички и метаболни функции. Иако по својата природа е цврсто ткиво, коската е динамична биолошка структура што е постојано подложена на процеси на ремоделирање, регулирани преку интеракција на мноштво клетки, цитокини и хормони. Од хистолошки аспект, коската се класифицира како специјализирано сврзно ткиво, додека ембриолошки има мезенхималното потекло. (1) Коската е композитен материјал чиј екстрацелуларен матрикс е составен од минерална компонента (65%), органски матрикс (25%), вода (10%) и липиди (1%). Органскиот матрикс е доминантно изграден од колаген тип I (приближно 90%), додека остатокот го сочинуваат неколагенски протеини и протеогликани што имаат способност за врзување вода. (2) Покрај матриксот, коскеното ткиво содржи клетки, крвни и лимфни садови, и нерви, кои навлегуваат во коската преку Хаверзовите и Волкмановите канали. (3, 4) Органските и неорганските компоненти на коската имаат суштинска улога во нејзините механички својства и метаболни функции, а нивниот сооднос и архитектонска организација се менуваат со возраста. (5) Неорганскиот матрикс е составена од кристали на хидроксиапатит, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, кои се депонираат по должината на колагенските фибрили и обезбедуваат цврстина и отпорност на ткивото. (3, 4)

Коскените клетки имаат активна улога во процесите на ремоделирање што се одвиваат во текот на целиот живот. Овие процеси овозможуваат адаптација на коската на биомеханички оптоварувања, како и отстранување на старо или оштетено ткиво и негова замена со структурно посилна коска. Во зависност од функционалните потреби, коскеното ткиво може да биде повеќе компактно (кортикално) или повеќе трабекуларно (сунѓересто). Кортикалната коска претставува густо организирано ткиво што ги обвива коскените шуплини и е составено претежно од секундарни Хаверзови системи (остеони), со централен канал што содржи крвни садови и нерви, опкружени со концентрични ламели. Наспроти тоа, трабекуларната коска е изградена од мрежа на трабекули што се наоѓаат во рамките на коскената срцевина. (2)

Сите кортикални коски имаат надворешна периостална и внатрешна ендостална површина. Периостот, освен во пределот на зглобовите каде што коската е обложена со

артикуларна ’рскавица, е фиброзна сврзна обвивка што содржи крвни садови, нервни влакна, остеобласти и остеокласти и има клучна улога во апозицискиот раст и заздравувањето на коската при одредени инсулти, најчесто скршеници. Ендостиумот, пак, ја обложува внатрешната површина на кортикалната и сунѓерестата коска, како и васкуларните канали и учествува во регулацијата на коскениот метаболизам.
Макроскопски, коскеното ткиво може да се подели и според архитектурата на колагениот матрикс на незрела (плетена) и ламеларна коска. Незрелата коска се карактеризира со неорганизирана и случајна ориентација на колагенските влакна, додека кај ламеларната коска тие се паралелно и слоевито распоредени во форма на ламели. (6, 7) Благодарение на оваа организираност, ламеларната коска поседува значително поголема механичка цврстина во споредба со плетената, која е почувствителна на механички стрес и други коскени нарушувања. (8-10)
Хистолошки, незрелата коска се формира со брзо создавање на остеоид од страна на остеобластите, што се случува за време на феталниот развој и во процесот на заздравување на патолошките состојби, како што се скршениците. Со текот на времето, таа се заменува со ламеларна коска преку процес на ремоделирање, со што се обезбедува структурна стабилност на зрелата коска. (7, 9, 10)
Коската претставува хиерархиски организиран материјал, чија микроструктура е распоредена на повеќе нивоа, од макро- до нано-ниво. Биомеханичките својства на коската зависат од меѓусебната интеракција на структурните елементи на секое од овие нивоа. (11, 12)
Минерализацијата почнува со брза депозиција на калциум фосфат, во комбинација со значителни количества калциум карбонат, при што во првите три недели по формирањето на остеоидот се постигнува околу 60-70% од вкупната минерална содржина. Во фазата на секундарна калцификација, која може да трае повеќе од една година, кристалите се згуснуваат, добиваат плочеста форма и се ориентираат паралелно со колагенските фибрили. Концентрацијата на калциум карбонат се намалува, но неговата улога во одржување на ацидо-базната рамнотежа останува значајна. (9)
Органската компонента на коската, покрај колаген тип I, содржи неколагенски полипептиди, протеогликани, цитокини, фактори на раст и диференцијација, како и липиди. (4) Неколагенските протеини, кои сочинуваат 10 до 15% од вкупните коскени протеини, имаат централна улога во регулацијата на минерализацијата, сигнализацијата помеѓу клетките и координацијата на минерално-матриксните

интеракции. Најзначајни меѓу нив се остеокалцинот, остеонектинот и остеопонтинот. (13-17)

Регулацијата на коскеното ремоделирање и остеокластогенезата се тесно поврзани со молекуларната оска OPG-RANKL-RANK, која игра клучна улога во физиолошките и патолошките процеси на ресорпција на коската. (18) Остеопротегеринот (OPG) дејствува како лажен рецептор што го инхибира врзувањето на лигандот на рецепторниот активатор на нуклеарен фактор kappa-B (RANKL) за неговиот рецепторен активатор на нуклеарниот фактор kappa-B (RANK), со што се спречува диференцијацијата и преживувањето на остеокластите. (18, 19)

Коскеното ткиво извршува суштински метаболни функции што се од клучно значење за одржување на системската хомеостаза. Покрај механичката улога, коската претставува главен депо-орган за есенцијалните минерални јони, особено калциум и фосфор. Дополнително, таа функционира како складиште за различни цитокини и фактори на раст, вклучувајќи фактор на раст сличен на инсулин (IGF), трансформирачки фактор на раст-β (TGF-β) и коскени морфогенетски протеини (BMPs), кои можат да се ослободуваат во текот на процесот на коскено ремоделирање. Преку регулирано складирање и ослободување на алкални соли, коската учествува и во пуферирањето на pH-вредноста на крвта. (20, 21)

Метаболизмот на коскеното ткиво е строго координиран од активноста на коскените клетки – остеобласти, остеокласти и остеоцити – и е под влијание на многубројни системски и локални регулаторни фактори, како што се хормоните, витамините, факторите на раст и цитокините. Паратироидниот хормон (PTH) има централна регулаторна улога, при што концентрацијата на серумскиот калциум претставува главен сигнал за неговото лачење. (22) Слично на тоа, C-клетките на тироидната жлезда лачат калцитонин како одговор на нарушена рамнотежа на калциумот. Иако серумскиот фосфат индиректно ја намалува концентрацијата на калциумот, внесувањето фосфат од околината го стимулира создавањето на активната форма на витамин Д (23), со што фосфатот индиректно влијае и врз синтезата на PTH. Овие хормони и витамини дејствуваат синергистички со бубрезите и гастроинтестиналниот тракт, овозможувајќи регулирање на апсорпцијата и екскрецијата на калциум и фосфат. (24)

Локалното формирање и ремоделирање на коскеното ткиво е дополнително регулирано од многубројни фактори на раст и цитокини што ја модулираат клеточната пролиферација и диференцијација. Меѓу најзначајните регулатори на коскеното ремоделирање се IGF-I и IGF-II, TGF-β, BMP, факторот на раст со потекло од тромбоцитите (PDGF), фибробластниот фактор на раст (FGF), васкуларниот ендотелен фактор на раст (VEGF), фактори поврзани со макрофагите и гранулоцитите, како и тумор-некротизирачките фактори (TNF). Покрај нив, интерлеукините IL-1, IL-6 и IL-11, простагландините и леукотриените имаат изразена улога во процесите на заздравување и ремоделирање на коската. (25-27) Овие молекули се неопходни за нормална физиолошка функција на организмот и се карактеризираат со плеотропни ефекти, при што можат да индуцираат разновидни функционални одговори кај различни типови клетки.

2.1.1. Коскени клетки и нивна функција

Клетките што се наоѓаат во коскеното ткиво имаат клучна улога во неговото одржување и постојано ремоделирање. Во коскеното ткиво постојат четири основни типа клетки: остеобласти, остеокласти, остеоцити и клетки што се подредуваат на површината на коската.

Остеобластите се одговорни за формирање на коската преку синтеза и депозиција на нов органски матрикс. Првично, неминерализираниот матрикс се означува како остеоид, кој подоцна се минерализира со таложење на калциум фосфат во форма на хидроксиапатит. По завршување на својата активна улога, остеобластите можат да подлежат на апоптоза, да се инкорпорираат во минерализираниот матрикс и да се диференцираат во остеоцити или да останат како метаболички неактивни подредувачки клетки на површината на коската. (28)

Иако морфолошки се сплескани и со ниска метаболна активност, коскените подредувачки клетки се во тесна комуникација со остеоцитите преку и учествуваат во транспортот на калциум помеѓу коскениот матрикс и коскената срцевина. Под дејство на PTH, тие можат брзо да се реактивираат и да се вклучат во формирањето на ново коскено ткиво. (29, 30)

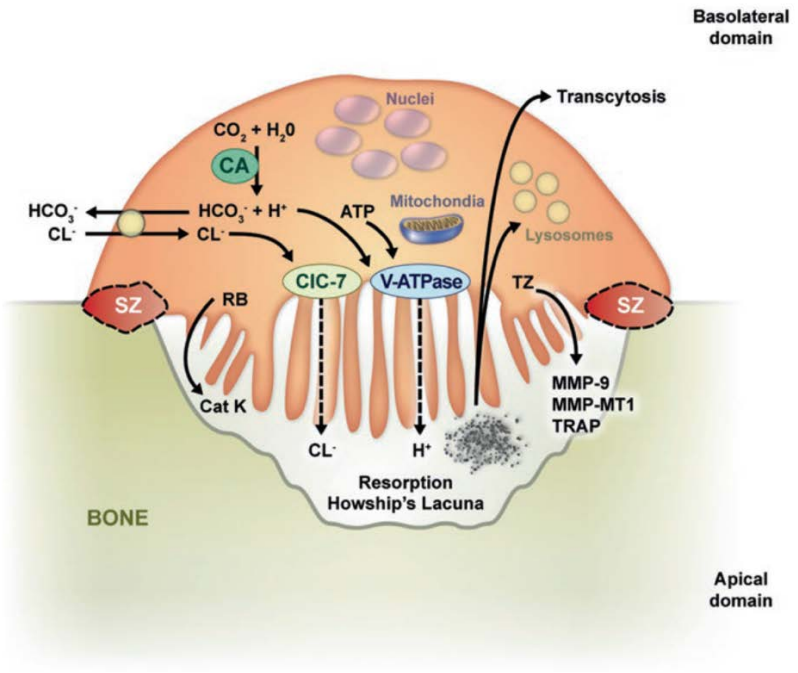
Активните остеобласти поседуваат изразено базофилна цитоплазма, богата со митохондрии и добро развиен ендоплазматичен ретикулум, што е во согласност со нивната интензивна секреторна активност. Мезенхималните матични клетки (MSC)

претставуваат извор на остеобласти, но тие можат да се диференцираат и во други клеточни линии, како хондроцити, миобласти или адипоцити. (31, 32) Овој процес е строго регулиран од транскрипциски фактори и сигнални патишта, меѓу кои Sox-5, Sox-6 и Sox-9, кои имаат важна улога во хондрогената диференцијација. Клетките од остеобластната линија ги вклучуваат остеобластните прекурзори, зрелите остеобласти, обложувачките клетки и остеоцитите. Остеобластите синтетизираат многубројни екстрацелуларни протеини, како што се остеокалцинот, остеопонтинот, остеонектинот, коскениот сијалопротеин, алкалната фосфатаза и големи количества колаген тип I, како и цитокини и други фактори, како што се IGF-I, IGF-II, TGF-β и BMP, кои се депонираат во минерализираниот матрикс и имаат регулаторна улога во коскеното ремоделирање. (27, 33)

Остеоцитите, кои сочинуваат повеќе од 90% од сите коскени клетки, се наоѓаат во лакуни во минерализираниот матрикс и меѓусебно комуницираат преку каналикули. Тие функционираат како сензорни клетки способни да детектираат механички оптоварувања и промени во циркулирачките фактори, при што ја координираат адаптацијата на скелетот кон надворешните и внатрешните стимули. (34) Остеоцитите играат централна улога во откривање на микродефекти и активирање на ремоделирачкиот одговор преку сигнализација на остеокластните прекурзори. (35)

Коскената ресорпција се одвива со посредство на остеокластите, кои се големи, повеќејадрени клетки со висока метаболна активност, кои потекнуваат од моноцитно-макрофагната линија (Слика 1). (36) Нивната диференцијација и активност зависат од присуството на M-CSF и RANKL, при што соодносот меѓу RANKL и OPG претставува клучен регулаторен механизам. (18, 37) Активните остеокласти покажуваат изразена клеточна поларизација и преку нив се одвива двофазниот процес на ресорпција: растворање на минералната компонента и ензимска деградација на органскиот матрикс. (36) Набраната граница на остеокластите се формира под таканаречената запечатена јасна зона на остеокластот. Јаглеродната анхидраза, ензим што ја катализира реакцијата меѓу CO_2 и H_2O во H^+ и HCO_3^- (38), дејствува синергистички со вакуоларната H^+-АТРаза, овозможувајќи силна ацидификација на ограниченият простор на остеокластната лакуна. (39) Намалувањето на pH-вредноста до приближно 4,5 доведува до локализирана деминерализација на хидроксиапатитот, со што се изложува органскиот матрикс, кој во најголем дел е составен од колаген тип I. По

деминерализацијата, екстрацелуларните органски компоненти се разградуваат под дејство на протеолитички ензими, меѓу кои катепсин K, матрикс-металопротеиназа-9 (MMP-9) и матрикс-металопротеиназа-13 (MMP-13). (36, 40) Фрагментите од разградените протеини подлежат на ендоцитоза и потоа се транспортираат во форма на везикули до лизозомите, каде што се деградираат или се пренесуваат кон базолатералната површина и се ослободуваат во екстрацелуларниот простор. (41)



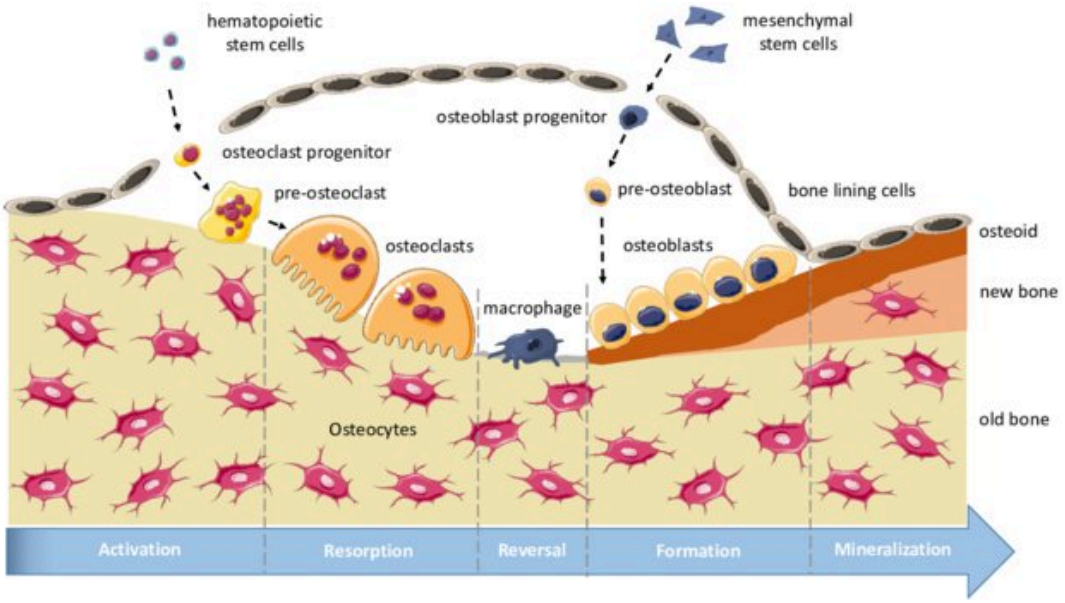
Слика 1. Шематски приказ на остеокласт и неговата активност при ресорпција на коската. Преземено од Gasser and Kneissel (28)

Реорганизацијата на актинскиот цитоскелет во остеокластите е строго зависна од активноста на малите ензими што го растворааат гванозин трифосфатот (GTP-ази) од фамилијата Rho. Сигналите добиени од тирозин-киназните рецептори ги активираат овие GTP-ази, кои по врзување на GTP го пренесуваат сигналот кон цитоскелетот и го регулираат клеточното прилепување кон коскената површина. Rho-сигнализацијата има клучна улога во формирањето на актинскиот прстен, а активните изоформи на GTP-азите ја зголемуваат формацијата на подозоми, подвижноста на остеокластите и вкупниот коскен метаболизам. (42-44)

По завршувањето на процесот на коскена ресорпција, остеокластите влегуваат во програмирана клеточна смрт, односно апоптоза. Механизмите што ја иницираат оваа апоптоза сè уште не се целосно разјаснети, но како можни фактори се разгледуваат зголемените нивоа на екстрацелуларен калциум, одвојувањето на остеокластите од коскената површина и намалувањето на одредени цитокини. За преживување на остеокластите неопходна е активацијата на екстрацелуларно регулираните протеински кинази (ERK), додека TNF-α и IL-1 ја одложуваат нивната апоптоза преку ERK-сигнализација. Дополнително, како регулатори на развојот, активноста и преживувањето на остеокластите се посочуваат неколку стероидни хормони. Естрогените и андрогените ја намалуваат синтезата на остеокластогените цитокини IL-1 и IL-6, при што естрогените директно индуцираат апоптоза на остеокластите. (45, 46)

2.2. Моделирање и ремоделирање на коската

Раното формирање на коската и процесите на моделирање значајно влијаат врз големината и формата на коскените структури. За време на моделирањето, коскената ресорпција и коскеното формирање се одвиваат на различни анатомски локации, при што коскеното ткиво се разградува на едно место, а нова коска се синтетизира на друго (Слика 2). Клучен аспект на овој процес е зачувувањето на морфологијата на коската за време на линеарниот раст и развој. (2, 4, 9, 47) Иако најголемиот дел од ремоделирањето се случува до постигнување на скелетна зрелост, процесот продолжува и во зрелата возраст, особено како одговор на механички оптоварувања, физичка активност и одредени патолошки состојби. (48)



Слика 2. Фази на коскено ремоделирање. Преземено од Truesdell and Saunders (49)

Коскеното ремоделирање претставува континуиран процес на одржување и регенерација на скелетот, кој истовремено обезбедува достапност на минерали како калциум и фосфат, неопходни за виталните физиолошки функции. (24, 50) Овој процес се одвива во рамките на основната повеќеклеточна единица (BMU), составена од остеокласти, остеобласти и капиларни крвни садови. (51, 52) Структурата и организацијата на BMU варираат во зависност од тоа дали се наоѓаат во трабекуларна или кортикална коска. Во трабекуларната коска, BMU се појавува на површината и е позната како Ховшипова лакуна, додека во кортикалната коска остеокластите ресорбираат оштетена коска, по што остеобластите концентрично депонираат ново коскено ткиво околу Хаверсовиот канал, овозможувајќи васкуларизација. (53) Во двата случаи, BMU е ограничена со коскено-ремоделирачки компартмент (BRC), кој овозможува блиска анатомска и функционална интеракција помеѓу остеокластите и остеобластите. (54)

2.2.1. Ендокрина регулација на циклусот на коскено ремоделирање

Врз коскеното ремоделирање влијаат повеќе хормони (паратиреоиден хормон, калцитонин, тиреоидни хормони, хормонот на раст, глукокортикоидните хормони, половите хормони, како и витаминот Д).

Ефектите на PTH врз коскеното ремоделирање значително зависат од начинот и времетраењето на изложеноста. PTH има клучна физиолошка улога во одржувањето на хомеостазата на калциум, и ја зголемува активноста на остеокластите. Сепак, хронично покачените нивоа на PTH, како резултат на неопластични состојби или дисфункција на паратироидните жлезди (на пример, аденом или хиперплазија при примарен хиперпаратироидизам), доведуваат до хиперкалцемија, загуба на коскена маса и зголемен ризик од скршеници. (22, 55, 56) Долготрајната циркулирачка хиперсекреција на PTH предизвикува загуба и на кортикалната и на трабекуларната коска, при што кортикалната коска е поизразено зафатена. Катаболните ефекти на PTH се посредувани преку регулација на сигналниот пат OPG-RANKL-RANK. Континуираната стимулација со PTH ја поттикнува остеокластогенезата преку зголемена експресија на RANKL и инхибиција на OPG во остеоцитите и остеобластите. (57) Наспроти тоа, повремената примена на PTH се користи како анаболна терапија кај остеопорозата. Повремената активација на PTH-рецепторите ја стимулира коскената формација преку модулација на Wnt-сигнализацијата, при што засилената активност на Wnt води до зголемена остеобластогенеза, експресија на целни гени и зголемено создавање на коскено ткиво. (58, 59)

Калцитонинот се синтетизира во фоликуларните С-клетки на тироидната жлезда. Иако неговата физиолошка улога не е целосно дефинирана, познато е дека ја инхибира коскената ресорпција. Фармаколошките дози на калцитонин го намалуваат бројот на остеокластите и нивната секреторна активност преку дејство врз калцитонинскиот рецептор на остеокластите. (55, 60) При физиолошки концентрации, калцитонинот ги потиснува ефектите на сфингозин-1-фосфатот, сигнална молекула што ја поврзува ресорпцијата со коскеното формирање.

Тиреотоксикозата е добро позната причина за секундарна остеопороза и се карактеризира со последователно зголемено коскено обновување, при што се засилени и создавањето на остеобластите и активноста на остеокластите. Тиреоидните хормони го стимулираат развојот и минерализацијата на остеобластите, додека директното влијание на тиреоидно-стимулирачкиот хормон врз остеокластите останува нејасно. Продолженият дефицит на тиреоидни хормони го нарушува циклусот на ремоделирање, што резултира со намален коскен метаболизам и зголемена коскена маса. Спротивно на тоа, хипертиреоидизмот го забрзува коскениот метаболизам, го

скратува ремоделирачкиот циклус и доведува до функционална инхибиција на коскените клетки, со загуба од околу 10% коскена маса по циклус. (61-63)

Хормонот за раст го стимулира создавањето на IGF-1, кој го зголемува коскениот метаболизам преку поттикнување и на создавањето на остеобласти и на ресорпцијата посредувана од остеокластите. Сепак, преовладува анаболниот ефект, што резултира со умерено зголемување на коскената маса. Кај дефицит на хормонот на раст, ресорпцијата го надминува создавањето, што со текот на времето води кон остеопороза. (64-66)

Глукокортикоидите, при покачени серумски концентрации индуцираат остеопороза, главно преку инхибиција на остеобластната диференцијација и функција, како и зголемена апоптоза. (67-70) Истовремено, тие ја засилуваат остеокластната активност преку намалување на OPG и зголемување на експресијата на RANKL во остеобластите, иако го намалуваат појавувањето на RANK во остеокластите. Овој ефект е привремен, бидејќи долготрајната терапија со овие хормони доведува до намалување на бројот и активноста на остеокластите. Интересно, физиолошките дози на глукокортикоиди можат да имаат анаболен ефект врз коскениот метаболизам. (71, 72)

Постменопаузалната остеопороза се карактеризира со нарушен баланс во коскеното ремоделирање, при што остеокластната ресорпција доминира над создавањето од страна на остеобластите. Естрогенот го намалува коскениот метаболизам преку намалување на бројот и активноста на остеокластите и индукција на нивна апоптоза преку естроген-рецептор α. Дополнително, естрогенот ја намалува апоптозата на остеобластите и остеоцитите, овозможувајќи континуирано коскено создавање и ограничување на ремоделирањето. (73) Ароматазата ги конвертира андрогените во естрогени, при што надбубрежните стероиди се главен извор на естрогени во постменопаузата. Инхибицијата или намалената експресија на ароматазата е поврзана со зголемен ризик од остеопороза. Кај мажите, естрогените исто така се клучни детерминанти на коскената маса при стареењето. (73, 74) Андрогените го поттикнуваат коскеното формирање и ја инхибираат ресорпцијата, но нивниот дефицит доведува до зголемен коскен метаболизам поради намалена ароматизација во естрогени. (75)

Активната форма на витамин Д ($1,25(OH)_2$) има суштинско значење за интестиналната апсорпција на калциум и фосфат, минерали што се неопходни за коскеното формирање и минерализација. Сепак, целокупниот спектар на неговите физиолошки ефекти сè уште не е целосно разјаснет. Експресија на рецепторот за витамин Д е детектирана кај прекурзорите на остеобластите и остеокластите, како и кај остеоцитите, што укажува на можни директни ефекти врз коскената физиологија. (76, 77) Одредени студии покажале зголемена експресија на ензимот 1-хидроксилаза во остеобластите и остеокластите, како и mRNA експресија во остеоцитите, што укажува на локална регулација на активноста на витамин Д во коскените клетки.

2.2.2. Паракрина регулација на циклусот на коскено ремоделирање

TGF-β и BMPs, членови на суперфамилијата на TGF, се присутни во коскеното ткиво и сигнализираат преку Smad-зависни и Smad-независни патишта. Тие ја стимулираат експресијата на Runx2, кој е главен транскрипциски фактор неопходен за остеобластната диференцијација. TGF-β, исто така, учествува во координацијата помеѓу ресорпцијата и формацијата преку поттикнување на миграцијата на мезенхималните матични клетки кон зоните на ресорпција. (78-81) Простагландините имаат улога во локалната регулација на коскеното ремоделирање преку различни рецептори, иако нивната точна улога не е целосно дефинирана. Простагландинот E_2 (PGE_2) е моќен стимулатор на коскената ресорпција, најверојатно преку зголемување на соодносот RANKL/OPG и поттикнување на остеокластогенезата. Истовремено, PGE_2 ја стимулира пролиферацијата и диференцијацијата на остеобластите, што укажува на неговиот двоен ефект врз коскеното ремоделирање. (82-84) Цитокините, како што се IL-1, IL-6 и TNF-α, ја стимулираат остеокластогенезата, додека други, како IL-4 и интерферон-γ, имаат инхибиторен ефект. Овие медијатори играат значајна улога во ресорпцијата на коската при зголемено ниво на воспаление и влијание од одредени лекови, како и во постменопаузата, поради зголемена експресија на RANKL. (85, 86)

2.3. Заздравување на постекстракциска рана

Физиолошките механизми што се одвиваат за време на заздравувањето на постекстракциските рани, како и нивниот временски тек, се предмет на многубројни

експериментални студии кај луѓе и животински модели. (87-94) Непосредно по екстракцијата, празниот простор во алвеолата се исполнува со крвен коагулум, кој за кратко време се заменува со гранулациско ткиво.

Крвниот коагулум вообичаено ја исполнува целата алвеола сè до мекоткивните рабови на раната, воспоставувајќи тесен контакт со оштетените делови од периодонталниот лигамент, кој содржи значителен број мезенхимални клетки, сврзни влакна и крвни садови. Во следната фаза, еритроцитите подлежат на лиза како резултат на коагулациска некроза, процес што почнува од периферијата на алвеолата. Постепено, коагулумот се заменува со гранулациско ткиво, над кое епителната мукоза мигрира со цел покривање на заздравената алвеола. Затоа што епителните клетки го препознаваат воспалителното ткиво како сврзно ткиво, нивната миграција се одвива по должината на неговата површина. Остатоците од примарните влакна на оштетениот периодонтален апарат, ориентирани перпендикуларно кон ѕидот на алвеоларната коска и вградени во коската, придонесуваат за формирање на коскен матрикс насочен кон центарот на алвеолата. Новоформираниот коскен матрикс делумно ги заменува влакната на периодонталниот лигамент, како и преостанатиот коагулум и гранулациско ткиво. Интензивната синтеза и акумулација на колагенски влакна претходи на формирањето на калцифицирано ткиво.

Во оваа фаза се присутни многубројни остеокласти во медуларните простори на снопестата коска што ја обложува алвеолата, како и во Волкмановите канали, што укажува на активен процес на ремоделирање. Постепеното депонирање на остеоиден матрикс и неговата прогресивна минерализација во алвеолата се одвива паралелно со исчезнувањето на периодонталниот лигамент и компактната коска. Се забележува намалување на стапката на минерална апозиција, минерализирачката површина и вкупната минерална продукција во насока од лингвалната кон букалната страна.

Ресорпцијата на компактната коска овозможува воспоставување врска помеѓу коскената срцевина на соседните интердентални септуми и новоформираната незрела коска во алвеолата. Трабекулите од незрелата коска се шират од постојната алвеоларна коска кон централниот дел на алвеолата и паралелно со тоа се одвива неоангиогенеза. Со напредување на процесот, коскениот матрикс постепено се ограничува на

централниот дел на алвеолата, што временски кореспондира со највисоката содржина на минерализирано ткиво во екстракциската алвеола. (87, 89)

Остеокластите остануваат присутни на ѕидовите на алвеолата до површината на постојната ламеларна коска, при што нивната ресорптивна активност ги зафаќа и трабекулите на новоформираната незрела коска. Ова укажува на почнување на процесот на моделирање и ремоделирање на новоформираното коскено ткиво. Најголемиот дел од незрелата коска апикално од алвеоларниот дел се заменува со ламеларна коска и коскена срцевина. Истовремено, колагенските влакна од новоформираната мукоза се вградуваат во новоформираната кортикална коска, со што се формира структура слична на периост. Во оваа завршна фаза, регионот апикално од алвеоларниот дел се карактеризира со висока содржина на добро организирана коскена срцевина и ламеларни трабекули.

Процесот на заздравување на екстракциската алвеола е истражуван во многу студии, при што е утврдено дека целосната организација и архитектура на коскеното ткиво често не се завршени ниту 24 недели по екстракција на забот. (95, 96)

2.4. Заболувања што го зафаќаат коскеното ткиво

Врз јачината и квалитетот на коскеното ткиво може да влијае широк спектар на заболувања, состојби и лекови. Заболувањата што ги зафаќаат коските може да се класифицираат како примарни и секундарни скелетни нарушувања и генерално значително го зголемуваат ризикот од скршеници. Во овој дел од дисертацијата се прикажани најчестите патолошки состојби што го нарушуваат квалитетот на коската и за кои е индицирана примена на антиресорптивна и/или антиангиогена терапија.

Остеопорозата претставува метаболно заболување на коските што се карактеризира со намалување на количеството на правилно минерализирана коска и нарушување на коскената микроархитектура, особено во трабекуларната коска. Ова нарушување произлегува од дисбалансот во процесот на коскеното ремоделирање, при што ресорпцијата на коската од страна на остеокластите го надминува создавањето на нова коска посредувана од остеобластите. (97-100) Иако најчесто се јавува кај повозрасни

жени, остеопорозата може да зафати лица од сите возрасни групи и од двата пола. Остеопорозата во постменопаузата се јавува кај жени со дефицит на естроген и претставува најчест облик на примарна остеопороза кај женската популација. Таа се карактеризира со значителна загуба на трабекуларна коска, што доведува до зголемен ризик од скршеници, особено на ’рбетот и радиусот. Главните патофизиолошки механизми вклучуваат дефицит на естроген и витамин Д. (76, 77, 101) Намаленото ниво на естроген доведува до зголемена активност и диференцијација на остеокластите, со што се нарушува рамнотежата помеѓу коскената ресорпција и создавање. (102, 103) Дополнително, естрогенот влијае врз коскеното ткиво преку стимулирање на синтезата на OPG и IGF, како и преку намалување на создавањето на проинфламаторни цитокини како IL-1 и TNF-α. (54) Недостатокот на естроген ја зголемува чувствителноста на скелетот на PTH и други ресорптивни фактори, што дополнително го забрзува загубата на коска. Како последица на тоа, се зголемува уринарната екскреција на калциум, додека неговата интестинална апсорпција се намалува.

Од друга страна, етиологијата на остеопорозата кај мажите често е мултифакторна, при што најголем дел од пациентите имаат еден или повеќе ризик-фактори и коморбидитети, медикаментозна терапија или лоши навики. (74, 104) Алкохолизмот, долготрајната употреба на кортикостероиди и хипогонадизмот се посочуваат како главни фактори.

Идиопатската остеопороза се јавува на различна возраст, но е особено изразена кај помладите пациенти и се карактеризира со забавен раст и акумулација на коскеното ткиво. Иако се предложени повеќе можни етиолошки фактори, генетската основа се смета за најверојатна, иако специфичните гени сè уште не се целосно идентификувани. (105, 106)

Хипогонадизмот е поврзан со намалена коскена густина и забрзан коскен метаболизам (107), додека супституциската терапија со тестостерон може да ја подобри коскената маса. Терапијата со намалување на андрогените хормони кај пациенти со карцином на простата е чест причинител на изразен хипогонадизам, со брза загуба на коска и зголемен ризик од скршеници. (102)

Патолошките состојби на паратироидните жлезди предизвикуваат или прекумерна или намалена продукција на PTH, што води до нарушување на минералниот метаболизам, што беше објаснето погоре во текстот во контекст на PTH.

Недостаток на витамин Д води до неправилна минерализација на коскеното ткиво: кај деца – до рахитис, а кај возрасни – до остеомалација. (76, 101) Дефицитот на витамин Д стимулира компензаторно зголемување на PTH, што предизвикува ресорпција на коската. Клиничките знаци вклучуваат забавен раст, проширени епифизни линии кај децата, болка во коските и слабост во мускулите кај возрасните.

Пагетовата болест е локализирано нарушување на ремоделирањето на коските, со зголемена остеокластна активност и последователно абнормално формирање на коската од страна на остеобластите. Резултатот е мешана коска (незрела и ламеларна) со намалена цврстина и зголемена кршливост. (108) Болеста има генетска предиспозиција и поголем дел од пациентите имаат позитивна фамилијарна историја. (109, 110) Клучни гени вклучени во механизмот на настанување на оваа состојба се SQSTM1/p62, CSF-1, RANK и PML. Овие гени учествуваат во RANK сигнализацијата и регулацијата на остеокластите. (111-115)

Коскените метастази се уште еден клинички проблем присутен кај повеќето малигни тумори. Коскените метастази најчесто се јавуваат кај карциномот на дојка, простатата, белите дробови, бубрезите и тиреоидната жлезда. (116-119) Метастазите се јавуваат по хематоген пат, и најчесто онаму каде што има богато хематопоетско ткиво. Метастазите настануваат со посредство на остеокластите, а PTHrP и цитокините од туморските клетки ја стимулираат коскената ресорпција, создавајќи циклус на туморска прогресија и деградација на коската. (116) Бисфосфонатите и деносумабот се лекови што се користат за прекин на циклусот на остеокластна активност и за намалување на можноста од метастазирање на туморите.

Мултипниот миелом е малигнен пролиферативен процес на плазма клетките, со моноклонално создавање на пара-протеини и појава на лизирачки коскени лезии. (120) Кај оваа состојба се јавува зголемено создавање на цитокини и RANKL, што го стимулира ремоделирањето на коската и растот на плазма клетките. (121, 122)

Терапијата на ова заболување вклучува и бисфосфонати или деносумаб за контрола на коскените лезии и превенција на нивно настанување. (123-126)

Други хематолошки малигнитети што се поврзани со лизирачки коскени лезии се Т-клеточната леукемија кај возрасни, која доведува до хиперкалцемија преку стимулација на остеокластите и продукција на PTHrP, RANKL и цитокини. (127, 128) Нон-Хоџкинг и Хоџкинг лимфомите се малигни заболувања што поретко доведуваат до остеолитични коскени лезии. (129-131)

Остеогенезис имперфекта е конгенитално нарушување на сврзното ткиво што предизвикува сериозна кршливост на коските и остеопороза. Се манифестира со дентиногенезис имперфекта, сколиоза, низок раст, абнормална боја на склерата, губење слух и нарушена структура на сврзното ткиво. (132) Најчесто се предизвикува од мутации во COL1A1 и COL1A2, но постојат и рецесивни форми поврзани со други гени (CRTAP, LEPRE1, PPIB, BMP1, IFITM5). (133-135) Хистопатолошки, се забележува неправилно создавање на колаген тип I и неправилно создавање на остеоид. (136-138)

Конечно, коските можат да бидат афектирани со остеонекроза како резултат на примена на медикаментозна терапија што се користи за други заболувања, а во контекст на овој докторски труд, во продолжение подетално е опишана медикаментозната остеонекроза на вилиците.

2.5. Медикаментозна остеонекроза на вилиците (MRONJ)

2.5.1. Дефиниција

Историски гледано, првите описи на остеонекроза на вилиците се поврзуваат со изложеност на фосфорни соединенија кај работници во фабрики за производство на кибрит кон крајот на XIX век. (139) Современата форма на ова заболување е тесно поврзана со фармаколошки терапии што влијаат врз коскениот метаболизам. Од 2001 година наваму, оралната и интравенската примена на бисфосфонати стана широкораспространета во третманот на остеопороза и други коскени патолошки промени опишани погоре во текстот, а особено кај пациенти со солидни метастатски

промени во коските. Како последица на ова, беше забележано значително зголемување на инциденцијата на остеонекроза на вилиците. (139, 140)

Во 2007 година, специјална работна група составена од клиничари, хирурзи и истражувачи го објави првиот официјален став за бисфосфонатна остеонекроза на вилиците (BRONJ) во име на Американската асоцијација за орална и максилофацијална хирургија (AAOMS). (141) Овој документ беше периодично ревидиран (142), а во 2014 година беше воведена нова номенклатура – медикаментозна остеонекроза на вилиците (MRONJ), со цел да се опфатат и случаи поврзани со други антиресорптивни агенси и антиангиогени лекови. (143) Последното ажурирањето од 2022 година не донесе суштински промени во дефиницијата, туку во превенцијата и третманот на состојбата, како и во типот и бројот на лекови што можат да доведат до оваа состојба. (144)

Според AAOMS (2022), MRONJ се дефинира со исполнување на следните критериуми: присуство на експонирано коскено ткиво во максилофацијалната регија или коскено ткиво што комуницира со интраорална или екстраорална фистулозен канал, со траење подолго од осум недели, тековна или претходна терапија со антиресорптивни лекови, самостојно или во комбинација со имуно-модулатори или антиангиогени агенси; и отсуство на претходна или тековна радиотерапија во регијата на главата и вратот и отсуство на метастатски промени во вилиците. (144)

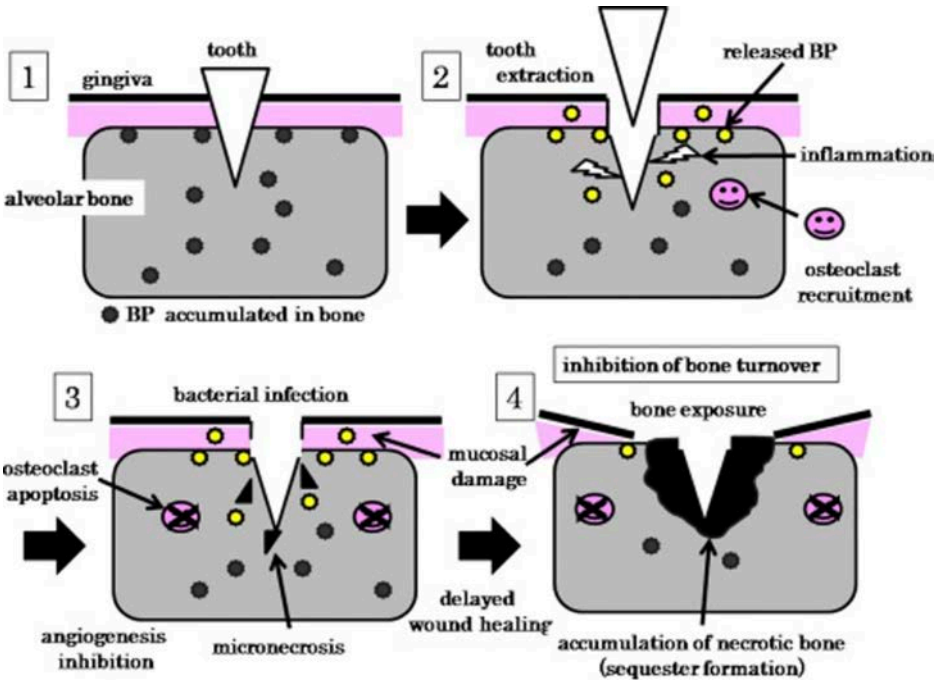
2.5.2. Епидемиологија

Проценката на инциденцијата заболувања што не се многу присутни во популацијата, како што е MRONJ, е методолошки предизвик, бидејќи бара вклучување на голем број испитаници. Фреквенцијата на MRONJ варира во зависност од повеќе фактори, вклучувајќи ја медицинската анамнеза, видот и дозата на лекот, времетраењето на терапијата и типот на стоматолошка интервенција (144-148), а се разбира дека влијание има и организацијата на здравствениот систем и достапноста на точни и уредно водени податоци, т.е. медицинска документација, како и од соработката меѓу различните специјалности што се вклучени во работата со овие пациенти.

Ризикот од MRONJ е значително повисок кај онколошки пациенти третирани со интравенски бисфосфонати или високи дози деносумаб, во споредба со неонколошки пациенти. (146) Кај популацијата со остеопороза, плацебо групите во клиничките студии покажуваат ризик од 0% до 0, 02%. (149-151) Кај пациенти третирани со бисфосфонати, ризикот изнесува 0,02 до 0,05% (145), додека кај пациенти третирани со деносумаб е нешто повисок. (147, 148, 152, 153) Во онколошкиот контекст, кумулативната инциденција на MRONJ кај пациенти изложени на золедронат се проценува на околу 5% (0 до 18%), додека кај деносумаб се движи од 0% до 6,9%. (146, 148, 152, 154) Долготрајната терапија значително го зголемува ризикот, со јасен временски зависен ефект. Ризикот кај пациенти изложени на ромосозумаб се проценува на 0,03 до 0,05%. (155, 156) Кај педијатриската популација, особено кај остеогенезис имперфекта, достапните податоци се ограничени. (157, 158)

2.5.3. Патофизиологија

Етиологијата и патофизиологијата на MRONJ остануваат недоволно разјаснети и се мултифакторски. Постојните хипотези вклучуваат супресија на коскеното ремоделирање, инхибиција на ангиогенезата, присутно воспаление и/или инфекција, токсичност на меките ткива, имунолошка дисфункција и др. (Слика 3) (144, 145, 147, 159, 160) Инхибицијата на VEGF и намалената микроваскуларна густина, документирана кај бисфосфонатите, може да доведе до исхемија и коскена некроза. (161-163) Оралните инфекции и хроничното воспаление играат важна улога, додека имуносупресијата, често поврзана со хемотерапија, дополнително го зголемува ризикот. (164, 165)



Слика 3. Патофизиологија на MRONJ. Преземено од Ikebe (166)

2.5.4. Фактори на ризик

Факторите на ризик за MRONJ се групираат како медикаментозни, локални, системски и други (генетски и демографски). (144, 147, 148, 167-169)

2.5.5. Медикаментозни фактори (антиресорптивни, антиангиогени и други лекови)

Бисфосфонатите претставуваат хетерогена група фармаколошки агенси што се широкопримену̀вани во третманот на различни заболувања на коскеното ткиво, вклучувајќи коскени компликации кај мултипен миелом, метастатски промени во коските кај претходно посочените малигни заболувања, остеопороза, гигантоклеточни тумори и Паџетова болест и др. (170-177) Покрај бисфосфонатите, современите студии укажуваат дека моноклоналното антитело деносумаб е исто така ефикасен во истите состојби, па и со поголема ефикасност од бисфосфонатите. Дополнително, тој е одобрен за третман на остеопороза во постменопауза, при што се постигнува долготрајно намалување на маркерите за коскен метаболизам и значајно зголемување на минералната коскена густина. (178-181)

Бисфосфонатите првично биле познати како дифосфонати и нивната примена датира од средината на XIX век, кога претежно биле користени за индустриски цели, особено во текстилната и нафтената индустрија, поради нивната способност да ја инхибираат преципитацијата на калциум-карбонат. (182) Структурно, бисфосфонатите претставуваат стабилни аналози на неорганскиот пирофосфат. Нивната хемиска стабилност е резултат на замената на кислородниот атом, кој ги поврзува двете фосфатни групи, со јаглероден атом. (183) Карактеристичната P-C-P структура овозможува бисфосфонатите да не се метаболизираат во организмот, туку да се елиминираат непроменети. Двете фосфонатни групи имаат двојна улога: висока врзувачка способност за минералната компонента на коската и изразена антиресорптивна активност. Хемиските модификации на овие групи можат значително да ја намалат нивната биохемиска потентност и афинитетот кон коскеното ткиво. Биолошките ефекти на бисфосфонатите во голема мера зависат од R1 и R2 страничните синџири прикачени на централниот јаглероден атом, кои го одредуваат нивниот афинитет кон коската и антиресорптивната моќ. (182-185)
Бисфосфонатите се класифицираат во две главни групи врз основа на присуството на азотна група во нивната структура. Неазотните бисфосфонати, како што се етидронат, клодронат и тилудронат, покажуваат релативно ниска антиресорптивна активност и дејствуваат преку интрацелуларна конверзија во токсични АТР-метаболити, што доведува до инхибиција на функцијата на остеокластите. (186, 187) Наспроти тоа, азотните бисфосфонати (алендронат, ибандронат, памидронат, ризедронат, золедронат) се значително попотентни инхибитори на коскената ресорпција (Слика 4). (186-189) Тие го инхибираат ензимот фарнезил пирофосфат синтаза (FPS), клучен ензим во мевалонскиот биохемиски пат, што резултира со нарушување на цитоскелетната организација и со индукција на апоптоза на остеокластите. (183, 186, 187) Потентноста на азотните бисфосфонати е и до 10.000 пати поголема од онаа на неазотните бисфосфонати (Табела 1). (186, 188)

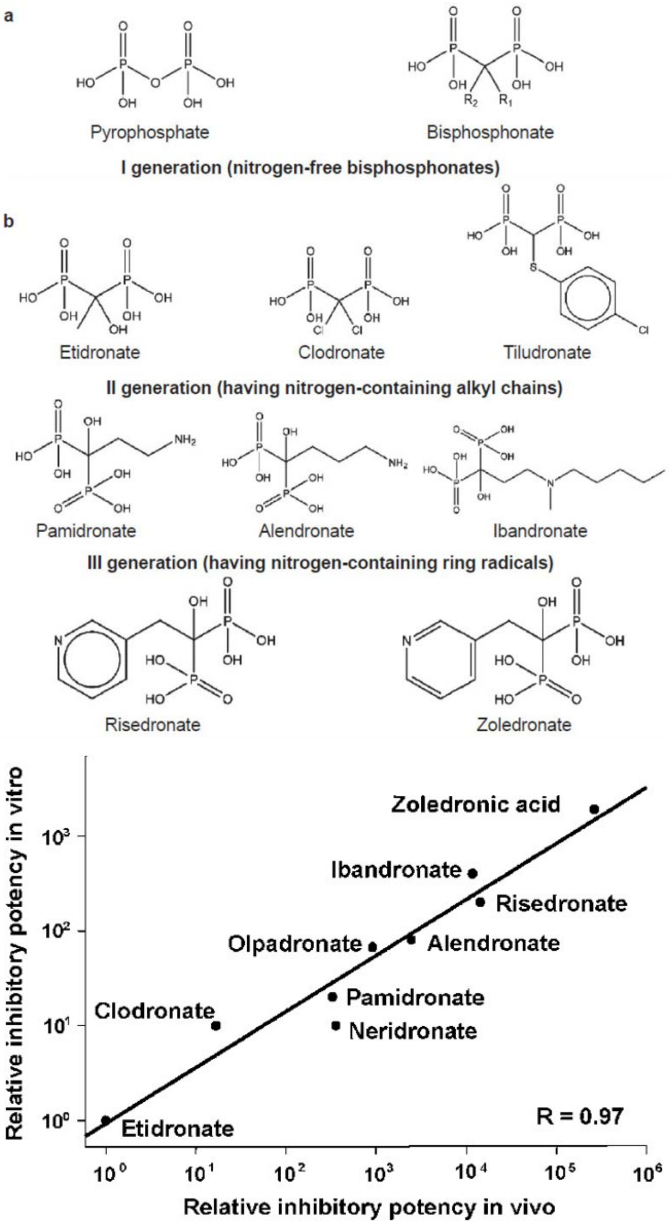
Бисфосфонатите можат да се администрираат орално, интравенски или интрамускулно. Оралната апсорпција е исклучително ниска (< 1%) и значително се намалува при истовремено внесување храна. Приближно 50% од апсорбираната доза се врзува за коските, додека остатокот се елиминира преку бубрезите. Плазматскиот полуживот варира помеѓу 5 и 11 дена, додека скелетниот полуживот може да надмине десет години. Поради високиот афинитет кон хидроксиапатитот и молекуларната

стабилност, бисфосфонатите имаат исклучително долг биолошки полуживот и можат да останат во коската доживотно. (183, 190)

Табела 1. Главни типови бисфосфонати и нивни карактеристики

Тип на бисфосфонат	*Администрација*	*Механизам*	*Релативна потентност*	*Индикација*
Алендронска киселина	Орално	Инхибиција на остеокласти	1.000	Остеопороза
Ибандронска киселина	Орално Интравенски	Инхибиција на остеокласти	1.000	Коскени метастази Хиперкалцемија Остеопороза
Неридронска киселина	Орално Интравенски Интрамускулно	Инхибиција на остеокласти	-	Остеогенезис имперфекта Пагетова болест
Памидронска киселина	Интравенски	Инхибиција на остеокласти	Од 1.000 до 5.000	Коскени метастази Хиперкалцемија
Ризедронска киселина	Орално	Инхибиција на остеокласти	1.000	Остеопороза Пагетова болест
Золедронска киселина	Интравенски	Инхибиција на остеокласти	Над 10.000	Коскени метастази Хиперкалцемија Остеопороза Пагетова болест

Фармакокинетските параметри варираат меѓу индивидуите, при што лицата со повисок коскен метаболизам акумулираат поголеми количества бисфосфонати во скелетот и имаат пониска ренална екскреција. (184, 191) Бисфосфонатите директно ја намалуваат коскената ресорпција преку индукција на апоптоза на остеокластите, со што се редуцира коскениот метаболизам. Дополнително, тие поседуваат антиангиоген ефект преку намалување на крвниот проток и супресија на VEGF, како и инхибиторен ефект врз епителните кератиноцити, што резултира со намалена регенеративна способност на ткивата. (192, 193)



Слика 4. Хемиска структура и релативна потентност на различните видови бисфосфонати

Првата генерација бисфосфонати, односно неазотната група, се смета за најмалку ефикасна во контекст на коскените патолошки состојби. Тие се инкорпорираат како цитотоксични АТР-аналози во остеокластите, каде што ги инхибираат АТР-зависните ензими, предизвикувајќи нарушување на митохондријалниот мембрански потенцијал и апоптоза. (194, 195) Азотните бисфосфонати ја инхибираат биосинтетската патека на мевалонската киселина преку блокада на FPP и GGPP синтазата, што резултира со нарушена пренилизација на GTP-азите, неопходни за клеточна сигнализација, цитоскелетна стабилност и преживување на клетките. (196-200)

На клеточно ниво, бисфосфонатите влијаат врз многубројни процеси поврзани со коскениот метаболизам, ангиогенезата и туморогенезата. Најизразен ефект имаат врз остеокластите, при што ја нарушуваат нивната диференцијација, регрутација, атхезија и функционална активност, а го поттикнуваат и нивниот апоптотичен одговор. (182, 185) Покрај тоа, бисфосфонатите покажуваат концентрациско зависни ефекти врз остеобластите и остеоцитите, вклучувајќи инхибиција на остеобластогенезата, нарушување на минерализацијата и индукција на апоптоза при повисоки концентрации. (192, 201-203) Антиангиогените и антинеопластичните својства на бисфосфонатите се потврдени и in vitro и in vivo, при што тие ја инхибираат пролиферацијата и миграцијата на ендотелните клетки и го ограничуваат туморскиот раст преку супресија на коскената ресорпција и ослободувањето на фактори за раст како TGF-β и IGF-1. (184, 185, 202, 204-206)

Бисфосфонатите се поврзуваат со широк спектар на несакани ефекти, кои можат да се класифицираат како коскени и вонкоскени. (207) Меѓу најчесто пријавените вонкоскени несакани ефекти се гастроинтестиналните нарушувања, особено кај оралната примена. Симптоми како гадење, повраќање и диспепсија се чести, а повеќе автори пријавиле појава на ерозии на хранопроводот кај пациенти третирани со орални бисфосфонати. (208) Дополнително, во 2009 година се објавени 23 случаи на карцином на хранопровод кај пациенти кои примале алендронат. (209) Сепак, податоците од Solomon et al. укажуваат дека инциденцијата на езофагеален карцином кај пациенти третирани со бисфосфонати е пониска во споредба со пациенти третирани со други антиостеопоротични терапии. (210)

Окуларните несакани ефекти, иако ретки и недоволно потврдени, вклучуваат конјунктивитис, увеитис, периорбитален едем, одвојување на ретината, транзиторна очна мијастенија и оптички невритис. (211-216)

Реналната токсичност претставува значаен несакан ефект, особено кај интравенската примена на бисфосфонати. Најчесто регистрирани бубрежни оштетувања се акутна тубуларна некроза и фокална сегментална гломерулосклероза, при што најголем ризик имаат пациентите со претходно постојна хронична бубрежна болест, дијабетес мелитус и артериска хипертензија. (217-219)

Хипокалцемијата најчесто се јавува по интравенска апликација на бисфосфонати и е почеста кај пациенти со хипопаратироидизам, дефицит на витамин Д или бубрежна инсуфициенција. (220-223) Дополнителен вонкоскен несакан ефект е акутниот фазен одговор, кој се јавува претежно при почнување терапија со азотните бисфосфонати. Клинички се манифестира со транзиторни симптоми како треска и мијалгии, кои можат да траат од 7 до 14 дена. Овој одговор се јавува кај 10 до 30% од пациентите по првата интравенска инфузија, со намалување на зачестеноста при следните апликации. Овој ефект не е забележан кај пациенти третирани со неазотните бисфосфонати. Патофизиолошки, се смета дека е поврзан со ослободување на TNF-alpha и IL-6. (224, 225)

Неколку студии укажуваат на потенцијално зголемен ризик од атријална фибрилација кај пациенти третирани со бисфосфонати. (226, 227) Иако мускулоскелетната болка е пријавена при употреба на алендронат и ризедронат, нејзината инциденција е ниска, а податоците од една студија не покажале значајна асоцијација меѓу бисфосфонатната терапија и зголемена појава на ваков тип болка. (228)

Деносумаб е целосно хумано IgG2 моноклонално антитело со висок афинитет кон RANKL. Со блокирање на интеракцијата помеѓу RANKL и неговиот рецептор RANK, деносумаб го инхибира создавањето, функцијата и преживувањето на остеокластите, што доведува до значајно намалување на коскената ресорпција. (180, 229-231) Деносумаб поседува нелинеарна, дозно-зависна фармакокинетика, со биорасположливост од 61% по супкутана апликација и елиминација претежно преку ретикулоендотелниот систем, без акумулација во коскеното ткиво. (230, 232) За разлика од бисфосфонатите, дејството на деносумаб е реверзибилно и тој има полуживот од околу 25 до 28 дена.

Во однос на несаканите ефекти од примената на деносумаб, во една студија на пациенти со остеопороза е покажана повисока инциденција на егзема. (233) Во друга студија е пријавена тешка и рефрактерна хипокалцемија. (234) Особено подложни на хипокалцемија по апликација на деносумаб се пациентите со нарушена бубрежна функција, при што оваа состојба е поизразена отколку кај интравенската терапија со бисфосфонати.

Кај малигни заболувања, препорачаната доза на деносумаб изнесува 120 mg на секои четири недели. (235) Во клинички испитувања што го споредувале деносумаб со золедронска киселина кај пациенти со коскени метастази од карцином на дојка и простата, акутните фазни реакции биле значително поретки во групата третирана со деносумаб (8% наспроти 10% и 18% наспроти 27%, соодветно). Наспроти тоа, хипокалцемијата била речиси двојно почеста кај пациентите кои примале деносумаб во споредба со оние третирани со золедронска киселина. (236, 237)

Преваленцијата на MRONJ кај пациенти со коскени метастази е слична помеѓу бисфосфонатите и деносумаб. (144, 145, 147) Овие вредности се за 100 до 1.000 пати повисоки во споредба со популацијата со остеопороза, што се објаснува со значително повисоката кумулативна доза што се користи во онколошкиот контекст.

Развојот на MRONJ кај пациенти изложени на бисфосфонати не е случаен, туку е резултат на комплексна интеракција помеѓу фармаколошките својства на лекот, основната болест, локалните орални фактори и времетраењето на експозицијата. Според позицискиот труд на AAOMS од 2022 година, два фармакотерапевтски параметри имаат особено значење при проценката на ризикот: патот на администрација и должината на терапијата. (144) Иако овие фактори не дејствуваат изолирано, достапните податоци јасно покажуваат дека тие суштински го модифицираат ризикот за појава на MRONJ.

AAOMS нагласува дека антиресорптивните лекови поврзани со MRONJ можат да бидат администрирани орално или парентерално, а оваа дистинкција има јасна клиничка импликација во однос на ризикот. Во дефиницијата и патофизиологијата на MRONJ експлицитно се наведува дека и оралната и парентералната администрација се релевантни за развојот на болеста, бидејќи супресијата на коскеното ремоделирање е централна патогенетска оска. Сепак, не сите режими на администрација носат ист ризик. Кај пациентите со остеопороза, каде што бисфосфонатите најчесто се даваат во пониски дози и со подолги интервали, ризикот за MRONJ останува многу низок. AAOMS наведува дека иако и двата патишта на администрација се поврзани со MRONJ, во контекст на остеопороза апсолутниот ризик е исклучително мал.

Сепак, мора да се има предвид дека ризикот не зависи само од патот туку и од индикацијата, дозата, кумулативната изложеност и фреквенцијата на апликација. Кај остеопорозата, интравенскиот золедронат најчесто се дава еднаш годишно, додека оралните бисфосфонати се земаат неделно или месечно во подолги временски периоди, па токму затоа чистата споредба само според патот на администрација е ограничена. AAOMS и самото нагласува дека примарен параметар при процена на ризикот е терапевтската индикација – малигнитет наспроти остеопороза – а не исклучиво фармацевтската форма.

Кај онколошката популација, клиничката слика е суштински поинаква. Таму доминира употребата на парентерални, најчесто интравенски, бисфосфонати во значително повисоки кумулативни дози, како дел од третманот на коскени метастази. Кај овие пациенти, кумулативниот ризик за MRONJ при изложеност на золедронат е со ниска вредност, најчесто < 5%, но во различни студии варира од 0% до 18%, при што дел од оваа варијабилност се објаснува со различното траење на следењето (од 1 до 10 години). Ризикот кај онколошките пациенти кои примаат золедронска киселина е проценет како 2 до 10 пати повисок од ризикот кај пациенти со плацебо.

Оттука произлегува важен заклучок дека парентералната администрација сама по себе не е единствениот ризик, но во клиничката реалност таа најчесто е маркер за поагресивен терапевтски режим, повисока кумулативна доза и типот на основната болест, а токму оваа комбинација драматично го зголемува ризикот за MRONJ. Затоа, методолошки попрецизно да се каже дека интравенските бисфосфонати, особено во онколошки дози, се асоцирани со значително повисок ризик за развој на MRONJ.

Најјасни докази за ефектот на времетраењето на терапијата и ризикот од MRONJ постојат кај онколошките пациенти. Кај пациенти изложени на золедронат или деносумаб (n = 5,723), ризикот за MRONJ се зголемувал со текот на времето: кај золедронат бил 0,5% по 1 година, 1,0% по 2 години и 1,3% по 3 години, додека кај деносумаб бил 0,8%, 1,8% и 1,8% во истите временски точки. Слични наоди биле прикажани и во анализата на Saad et al., со забелешка за постигнато плато по втората година кај деносумабот. Во поновиот систематски преглед на Ng et al., кај онколошки пациенти третирани со золедронат ризикот бил 1,6 до 4% по две години, а 3,8 до 18% по повеќе од две години. Овие податоци силно сугерираат дека подолгото

времетраење, особено над две години, е поврзано со значајна акумулација на ризик. (238-240)

Кај пациентите со остеопороза, податоците за времетраењето се похетерогени. Раните ретроспективни анализи сугерирале пораст на преваленција на MRONJ од речиси 0% на почетокот до 0,21% по четири или повеќе години изложеност на бисфосфонати. (241) Меѓутоа, поновите големи, проспективни, рандомизирани, плацебо контролирани испитувања не покажале значајно зголемување на MRONJ кај пациенти третирани и до девет години. (242-244) AAOMS поради тоа заклучува дека, иако времетраењето може да биде ризик-фактор, вкупниот ризик кај остеопоротичните пациенти останува низок.

Најсоодветно е улогата на патот на администрација и времетраењето да не се анализира одвоено, туку како синергистички поврзани детерминанти на кумулативниот ризик. Интравенските бисфосфонати најчесто се даваат во контекст на малигнитет, во повисоки дози и со повторливи апликации, што доведува до поголемо вкупно оптоварување на коската со лекот. Оралните бисфосфонати, иако помалку потентни по поединечна апликација, често се земаат со години, што може да доведе до долготрајна супресија на ремоделирањето. Затоа, клинички релевантен не е само патот на администрација туку и кумулативната изложеност, за која AAOMS предлага во иднина подобро да се дефинира како кумулативно дозно оптоварување.

Откривањето на улогата на склеростинот како негативен регулатор на создавањето на коска доведе до развој на ромозозумаб. Тоа е моноклонално антитело што ја инхибира активноста на склеростинот, со двоен ефект: зголемување на создавањето на коска и намалување на коскената ресорпцијата. (245-248)

Ангиогенезата претставува сложен биолошки процес на формирање на нови крвни садови, медијатиран од многубројни фактори како VEGF, PDGF, FGF, ангиопоетини и други цитокини. Концептот на антиангиогена терапија произлегува од истражувањата на Фолкман, кој во седумдесеттите години на 20 век покажа дека туморскиот раст е зависен од неоваскуларизација. (249) Современата антиангиогена терапија вклучува тирозин-киназни инхибитори и биолошки протеински агенси, кои таргетираат

различни компоненти на VEGF сигналниот пат и покажуваат значајна клиничка примена во третманот на малигни заболувања. (250-253)

Покрај антиресорптивните и антиангиогените медикаменти, во поновата литература сè поголемо внимание се посветува и на други фармаколошки и нефармаколошки супстанции што потенцијално можат да доведат до развој на MRONJ. King et al. укажуваат дека постои реална можност и други групи лекови да бидат вклучени во патогенезата на MRONJ. (254)

Дополнително, систематските прегледи објавени од Sacco et al. во 2020 и 2021 година ја истакнуваат можната асоцијација помеѓу инхибиторите на тумор некрозис фактор-алфа (анти-TNF-α) и употребата на рекреативни супстанции со појавата на MRONJ. (255, 256) Истите автори, како и King et al. (254), посочуваат дека и одредени постари медикаменти, вклучувајќи имуносупресивни лекови, радиофармацевтици и селективни модулатори на естрогенските рецептори, може да се поврзани со појава на остеонекроза на вилиците.

Радиофармацевтиците се класифицираат според видот на зрачењето што го емитираат, односно алфа честички, бета честички, гама зраци или позитронско зрачење. Тие имаат широка примена во дијагностиката и третманот на многубројни бенигни и малигни заболувања, особено во контекст на коскени метастази. Радиофармацевтиците можат да се администрираат орално или интравенски и дејствуваат преку селективно врзување за реактивни региони во коскеното ткиво, насочувајќи висококонцентрирано зрачење кон таргетираните области. (257) Во клиничката практика, радиофармацевтиците се користат во локализацијата и третманот на коскени метастатски тумори, често во комбинација со хемотерапија. Иако MRONJ е поврзана со употребата на радиум-223, се покажало дека другите радиофармацевтици што се користат во третманот на коскени метастази, како што се рениум-186, стронциум-89, самариум-153 и радиум-222, не се директно поврзани со оваа состојба. (254, 258) Радиум-223 е специфичен радиофармацевтски агенс што емитува алфа честички и има висок афинитет кон калциум хидроксиапатитот во коската, со локализација во региони со зголемена остеокластна активност. На овој начин овозможува таргетиран третман на метастатски лезии на повеќе анатомски локализации. Иако доказите за директна

поврзаност помеѓу радиум-223 и развојот на MRONJ се ограничени, посочените анализи ја идентификуваат MRONJ како можна компликација, вклучувајќи податоци од повеќе клинички студии. MRONJ била регистрирана кај четири пациенти, при што сите тие истовремено примале бисфосфонатна терапија. Според актуелните податоци, радиум-223 веројатно има адитивен ефект кога се комбинира со други лекови што влијаат врз коскениот метаболизам. (259)

Селективните модулатори на естрогенските рецептори претставуваат парцијални агонисти на естрогенските рецептори и се користат за зачувување на коскената маса кај жени во постменопауза. Тие се применуваат и во превенцијата на карцином на дојка и во третманот на остеопороза, дејствувајќи како антагонисти на естрогенските рецептори во ткивото на дојката. (260) Нивното дејство врз коската се манифестира преку инхибиција на остеокластната активност и намалување на коскената ресорпција. (261) Сепак, во литературата се пријавени спорадични случаи на остеонекроза на вилиците кај пациенти кои користеле ралоксифен, при што овие пациенти имале и други типови лекови и значајни коморбидитети. (262, 263)

Метотрексатот, имуносупресивен лек што претставува терапија од прва линија кај многубројни автоимуни заболувања како ревматоиден артритис, псоријатичен артритис и тешки форми на Кронова болест, исто така е поврзан со појава на MRONJ. Докажано е дека тој го нарушува коскениот метаболизам преку намалување на растот на остеобластите и инхибиција на формирањето на нови остеокласти. Овие ефекти, заедно со неговото имуносупресивно дејство, можат да го објаснат развојот на MRONJ кај пациенти третирани со метотрексат. (264-267) Комбинацијата на метотрексат со бисфосфонати одамна е препознаена како фактор што го зголемува ризикот од остеонекроза на вилиците. Поновите клинички извештаи, вклучувајќи еден случај опишан од Aghaloo et al. и два случаи пријавени од Henien et al., укажуваат дека MRONJ може да се појави спонтано или по екстракција на заб и кај пациенти третирани исклучиво со метотрексат. (264, 268)

Кортикостероидите и другите имуносупресивни лекови исто така се поврзуваат со MRONJ, при што нивниот механизам на дејство се смета за мултифакторен. (269, 270) Кортикостероидите ја инхибираат синтезата на VEGF, со што директно влијаат врз ангиогенезата (271), а истовремено ја инхибираат регрутацијата на прекурзорите на

остеокластите и остеобластите, што води кон рана апоптоза. Во литературата се пријавени изолирани случаи на екстракциски рани што не зараснуваат, кај пациенти на долготрајна кортикостероидна терапија без истовремена употреба на други лекови асоцирани со MRONJ.

Инхибиторите на TNF-α претставуваат понова класа на биолошки лекови што се врзуваат за TNF рецепторите и ја намалуваат изразената инфламаторна реакција кај одредени автоимуни заболувања. Раните клинички студии со инфликсимаб, адалимумаб и етанерцепт не покажале значаен ризик за развој на остеомиелитис или остеонекроза на вилиците, а сепак постојат студии каде што е прикажен можен каузалитет. (272-274) Сепак, систематскиот преглед на Sacco et al. укажува дека кај одредена група пациенти третирани исклучиво со анти-TNF-α терапија може да се развие остеонекроза и во отсуство на класичните ризик-фактори за MRONJ. (256) Авторите нагласуваат дека заклучоците се базираат на податоци со низок квалитет и висок ризик од пристрасност, при што кај повеќе од 80% од пациентите е забележана ремисија на лезиите. Во одредени случаи, терапијата со TNF-α инхибитори била прекината и повторно воведена по целосно заздравување на интраоралните лезии.

Истата истражувачка група идентификува и потенцијална врска помеѓу употребата на нелегални рекреативни супстанции и појавата на MRONJ. (255) Познато е дека многу рекреативни дроги дејствуваат како инхибитори на повторното навлегување на допамин, серотонин и норадреналин, што доведува до нарушена невротрансмитерска регулација. Најчесто асоцираната супстанција со MRONJ во оваа анализа била „Krokodil“, чија главна активна компонента е дезоморфин. (275) Авторите сугерираат дека MRONJ најверојатно е резултат на токсичните хемикалии користени при нелегалното производство на оваа дрога, како што се хидројодна киселина и црвен фосфор. Присуството на фосфор во финалниот производ довело до хипотезата дека токму црвениот фосфор може да биде иницијатор на MRONJ. Сепак, овие заклучоци се базираат на податоци со низок методолошки квалитет и висок ризик од пристрасност, што веројатно е поврзано со етичките ограничувања при спроведување на клинички испитувања во оваа област. Серотонинот, пак, е поврзан со регулацијата на коскената маса и морфологија. (276)

2.5.6. Локални фактори

Дентоалвеоларните хируршки интервенции се посочуваат како најзначајниот иницијален фактор за појава на MRONJ кај пациенти третирани со антиресорптивни и/или антиангиогени лекови. Екстракцијата на заби е најчесто идентификуваниот предизвикувач, при што во проспективните клинички испитувања е наведена како иницијален настан во 61,8% од случаите на MRONJ. (145, 159, 277)

Според проценките на AAOMS, ризикот за развој на MRONJ по екстракција на заб изнесува околу 0,5% кај пациенти третирани со орални бисфосфонати, додека може да достигне и до 14,8% кај пациенти изложени на интравенска терапија со бисфосфонати. (144) Иако постојат ограничени податоци за ризикот од MRONJ по имплантолошки, ендодонтски или пародонтални интервенции што вклучуваат манипулација со коската, AAOMS проценува дека ризикот е сличен на оној по екстракција на заб.
MRONJ може да се појави и спонтано, без претходна хируршка интервенција, како резултат на траума на оралната мукоза, присуство на тенка мукоза над коскени егзостози или прекумерни оклузални сили. Експериментални студии на животински модели покажале дека оштетувањето на оралната мукоза може да дејствува како иницијален фактор за MRONJ, иако со помала веројатност во споредба со екстракцијата на заб. (278) Хроничната иритација предизвикана од неадекватно изработени протези, кои доведуваат до мукозна траума, исто така може да ја иницира патогенезата на MRONJ. (279) Клиничките истражувања покажуваат зголемена преваленција на MRONJ кај корисници на протези, особено кај онколошки пациенти третирани со интравенски бисфосфонати. (277) Зголемена зачестеност на MRONJ е забележана во зони со изразени коскени нерамнини, егзостози, торуси и гребени, каде што препокривачката мукоза е тенка и слабо васкуларизирана. Честите трауми на овие зони можат да доведат до улцерации и да го иницираат патолошкиот процес. Дополнително, прекумерните оклузални сили можат да предизвикаат микропукнатини во коската. Кај експериментални модели на стаорци изложени на интравенски бисфосфонати, супресијата на коскеното ремоделирање довела до значајно акумулирање на микропукнатини во споредба со контролите. (280) Се смета дека овие микроповреди ја нарушуваат биомеханичката стабилност на виличната коска и претставуваат фокус за инфекција и последователна остеонекроза. Овој механизам може да ја објасни и приближно двојно поголемата инциденција на MRONJ во долната

вилица во споредба со максилата, особено во постериорните делови, делови што се изложени на највисоки оптоварувања. (281) Трауматската оклузија се смета за дополнителен придонесувачки фактор.

Инфекцијата и воспалението се многу важни фактори на ризик и во поново време се стават и пред екстракцијата на забите како иницијален тригер за почнување на остеонекротичниот процес. (160, 282, 283) Клинички, најголемиот дел од пријавените случаи се јавуваат по екстракција на заби со постојна воспалителна патологија. (284) Истовремено, подобрувањето на оралната хигиена и превентивната стоматолошка грижа значајно го намалуваат ризикот за MRONJ кај онколошки пациенти. (285) Животинските модели покажуваат дека комбинацијата од периапикална и пародонтална инфекција и интравенска терапија со бисфосфонати е доволна за индукција на MRONJ. (284, 286) Сепак, улогата на инфекцијата и воспалението како независен ризик-фактор е тешко да се изолира, бидејќи тие често доведуваат до екстракција, што е силен фактор сам по себе.

2.5.7. Системски фактори на ризик

Системските фактори пред сè се однесуваат на типот на малигното заболување и присутните коморбидитети што ја нарушуваат имунолошката функција. Малигните заболувања со највисок ризик за MRONJ при антиресорптивна терапија се мултипниот миелом и солидните тумори со коскени метастази, како што е карциномот на дојка, простата и белите дробови. (287) Највисока инциденција на MRONJ се бележи кај мултипниот миелом, следен од карцином на белите дробови, простата и дојка. Сепак, овие податоци варираат во различни земји и во голема мера зависат од достапноста на соодветни истражувања и водење на медицинска документација.

Во однос на антиангиогената терапија, ризикот е голем кај метастатскиот карцином на бубрезите, јајниците, дојката, колоректалниот карцином, неситноклеточниот карцином на белите дробови и глиобластомот. (288) Ризикот дополнително се зголемува при комбинирана терапија со антиангиогени лекови и антиресорптивни лекови, особено со сунитиниб или бевацизумаб во комбинација со интравенска золедронска киселина. (289, 290)

Коморбидитети што најчесто се поврзуваат со зголемен ризик од развој на MRONJ се ревматоидниот артритис, неконтролираниот дијабетес, хроничната употреба на кортикостероиди и пушењето. Ревматоидниот артритис е значаен ризик-фактор само кај пациенти третирани со онколошки дози на интравенска золедронска киселина, што е ретко во клиничката практика. (291, 292) Неконтролираниот дијабетес придонесува главно преку нарушување на функцијата на макрофагите, супресијата на ремоделирањето на коската и микроваскуларната исхемија. (293) Иако експерименталните модели покажуваат зголемена преваленција на MRONJ, клиничките студии кај луѓето даваат варијабилни резултати, па дијабетесот сè уште не се смета за јасно дефиниран независен ризик-фактор. Хроничната употреба на глукокортикоиди е позната причина за остеонекроза на други локализации, но кај пациенти третирани со антиресорптивни лекови, зголемувањето на MRONJ инциденцијата е само маргинално. (240, 294) Пушењето се поврзува со лоша орална хигиена и влијанието врз микроциркулацијата, што може да го зголеми ризикот, но директната асоцијација останува нејасна. (287, 295)

2.5.8. Клинички манифестации и стадиуми на MRONJ

Клиничкиот белег на MRONJ е експонирано коскено ткиво, со варијабилна големина, често придружено со дополнителни симптоми, како инфекција, болка, парестезии, патолошки фрактури и синузитис. (144) AAOMS воведе систем за одредување на стадиумот базиран на клиничката слика, кој беше ревидиран во 2009, 2014 и 2022 година, во кој се вклучени и случаите кај кои нема видлива експонирана коска. (142-144) По овие модификации, системот на AAOMS се покажа како јасен, практичен и клинички релевантен за соодветна стратификација на пациентите со MRONJ. Како таков, тој е широкоприфатен и имплементиран од многубројни професионални здруженија и истражувачки организации.

Овој систем овозможува развој на рационални и стандардизирани терапевтски протоколи, како и систематско собирање податоци за проценка на прогнозата и исходот кај пациентите со MRONJ. Сепак, прекумерното нагласување на варијабилните радиографски промени, кои често се припишуваат на MRONJ, може да доведе до преценување на вистинската инциденција на болеста, преку вклучување на

лажно позитивни случаи (на пример, пациенти со радиолошки наоди сугестивни за MRONJ, но без исполнување на дијагностичките критериуми). За разлика од бисфосфонатите, одредени инхибитори не се врзуваат за коскеното ткиво, што дополнително ја усложнува интерпретацијата на радиолошките промени кај овие пациенти.

Во ортопедијата, воведувањето на стадиум 0 е утврдено при статификацијата на аваскуларната некроза на главата на фемурот, особено кај пациенти со ризик кај кои постои клиничко сомнение, но без дефинитивни дијагностички докази. (39) AAOMS смета дека концептот на стадиум 0 кај MRONJ е аналоген по својата суштина, бидејќи ги зема предвид широките и често неспецифични радиографски презентации што можат да се јават пред појавата на клинички видлива експозиција на коска.

Пациенти под ризик

Во оваа категорија спаѓаат асимптоматски пациенти без клинички видлива некротична коска, кои претходно или тековно се третирани со интравенска или орална антиресорптивна терапија.

Стадиум 0 (варијанта без експонирана коска)

Овој стадиум ги опфаќа пациентите кај кои не постои клинички доказ за експонирана некротична коска, но се присутни неспецифични симптоми и/или клинички и радиографски наоди, кои можат да укажуваат на рана или супклиничка форма на MRONJ. Симптомите вклучуваат одонталгија што не може да се објасни со одонтогена етиологија, тапа, болна болка во вилицата, која може да ирадира кон регијата на темпоромандибуларниот зглоб, болка во проекција на максиларните синуси, нарушена невросензорна функција и сл. Радиографски може да се прикаже загуба или ресорпција на алвеоларната коска што не може да се припише на хроничен пародонтит, промени во трабекуларниот распоред на коската, присуство на склеротична коска и отсуство на новоформирана коска во постекстракциските алвеоли, зони на остеосклероза што ја зафаќаат алвеоларната коска и/или околната базална коска, како и задебелување или опацификација на периодонталниот лигамент, вклучувајќи задебелување на lamina dura, склероза и намалување на просторот на периодонталниот лигамент. (296)

Овие неспецифични карактеристики, кои ја дефинираат варијантата на MRONJ без експозиција на коска, може да се сретнат и кај пациенти со претходна историја на стадиум 1, 2 или 3, кај кои болеста клинички заздравела и моментално нема експонирана коска. Прогресија од стадиум 0 кон стадиум 1 е опишана и до 50% од пациентите (297), поради што AAOMS смета дека стадиум 0 треба да се третира како потенцијален прекурзор на MRONJ.

Стадиум 1

Овој стадиум се карактеризира со експонирана и некротична коска или фистула што комуницира со коската, кај пациенти без клинички знаци на инфекција или воспаление. Кај овие пациенти може да се забележат и радиографски наоди типични за стадиум 0, најчесто локализирани во алвеоларната коска.

Стадиум 2

Стадиум 2 опфаќа пациенти со експонирана и некротична коска или фистула што комуницира со коската, придружена со инфекција и воспаление, при што пациентите се клинички симптоматски. И во овој стадиум можат да бидат присутни радиографски промени карактеристични за стадиум 0, ограничени на алвеоларниот регион.

Стадиум 3

Најнапреднатиот стадиум на MRONJ се карактеризира со експонирана и некротична коска или фистули што комуницираат со коската, придружени со инфекција, како и со еден или повеќе од следниве критериуми: експонирана некротична коска што се проширува надвор од алвеоларната регија (под мандибуларниот канал и до рамусот на мандибулата, максиларниот синус и зигомата кај максилата), патолошка фрактура, екстраорална фистула и ороантрална или ороназална комуникација.

2.5.9. Радиолошка дијагностика

CT, CBCT и MRI покажуваат висока чувствителност (> 90%) и се супериорни во проценката на обемот на лезијата во споредба со панорамската радиографија. (298-301)

Во раната, супклиничка фаза на MRONJ (стадиум 0), радиолошките наоди најчесто се неспецифични, но можат да вклучуваат остеосклеротични или литични промени, како и суптилни морфометриски нарушувања што се детектираат со конвенционални радиографии и компјутерска томографија. (300, 302-306) Иако стоматолошките рендгенски снимки се широкодостапни и рутински користени, нивната дијагностичка чувствителност е ограничена, бидејќи е потребна загуба на повеќе од 40% од коскената маса за да станат радиографски видливи патолошките промени. Меѓу најчестите рани радиолошки индикатори се задебелување на lamina dura, нагласување на каналот на долниот алвеоларен нерв, како и дифузна или локализирана остеосклероза, кои можат да се визуализираат и на панорамски снимки и на CT. (306) Подеталните анализи покажуваат дека трабекуларната склероза е најчестиот наод (дифузни и локализирано), по што следуваат дефекти во форма на кратери и кортикална ерозија. Сепак, ниту една од овие карактеристики не се покажала како сигурен предиктор за последователна експозиција на некротична коска. (304) Периосталните реакции се релативно ретки во оваа фаза.

Магнетната резонанца има одредена вредност во раната детекција на MRONJ, особено за проценка на вклученоста на трабекуларната коска и појавата на недоволно јасно ограничени литични региони. Еден од најраните и најсензитивни MRI-маркери е загубата на нормалната T1-хиперинтензност на коскената срцевина во мандибулата и максилата, кој може да претходи на структурното разградување на коската. (307) Типичните MRI-карактеристики во оваа фаза вклучуваат низок сигнал на T1-секвенции и умерено зголемен сигнал на T2 и STIR-секвенции, додека контрастно засилените секвенции често прикажуваат благо засилени литични зони и јасно демаркирани секвестри.

Споредбените анализи покажуваат дека CT и MRI значително ја надминуваат панорамската радиографија во раната детекција на лезии (точност од 96% и 92% наспроти 54%), иако и двете методи имаат тенденција да го преценат реалниот обем на лезијата при интраоперативна проценка. Единствено PET/CT покажал значајна тенденција кон преценување на големината на лезијата во споредба со хируршките наоди. (301)

Во напреднатите стадиуми на MRONJ (стадиум I до III), радиолошката слика станува поизразена и најчесто вклучува остеосклероза, остеолиза, формирање секвестри и периостална реакција. (308) Иако панорамските снимки можат да прикажат задебелување на lamina dura и промени во алвеоларниот канал, тие се инферiорни во однос на CT при детекција на кортикална перфорација и периостални промени. (306) CBCT покажува значително повисока дијагностичка точност во идентификацијата на некротична коска во споредба со панорамската радиографија (302), иако двата метода имаат слична способност за визуализација на фрактури поврзани со стадиум III. Примената на квантитативна морфометриска анализа го подобрува одредувањето на стадиумот врз база на CT преку мерење на кортикалните и трабекуларните промени. Индикатори како зголемен мандибуларен кортикален индекс (MCI)(300), намален дијаметар на мандибуларниот канал (309) и намалена густина и ширина на коската во регијата на foramen mentale (310) се покажале како корисни за дијагнозата на MRONJ, иако одредени параметри (на пример, промените на инцизивниот канал) немаат доволна вредност.

И покрај широката употреба, панорамската радиографија детектира лезии на MRONJ во само околу 54% од случаите, додека CT и MRI обезбедуваат значително повисока точност (96% и 92%, соодветно), независно од клиничкиот стадиум. (301, 311) MRI останува супериорна метода за проценка на екстракоскеното проширување, зафатеноста на коскената срцевина (92,9%) и синусните лезии (21,4%). Во стадиум III, MRI ја надополнува CT дијагностиката преку прецизна визуализација на зафатеноста на околните меки ткива, која се манифестира како региони со висок сигнал на STIR-секвенции. Во една студија е покажано дека комбинираната употреба на MRI и CT има висока корелација со хистопатолошките наоди при опишување на карактеристичните MRONJ-лезии. (312) Ниската содржина на вода, прикажана како универзално низок сигнал на T1, T2 и STIR, е асоцирана со некроза и доминира во експонираната коска. Наспроти тоа, високата водна содржина (низок T1; висок T2 и STIR) укажува на коскен едем и се среќава во неекспонираните, но афектирани делови на вилицата. Во напреднатите стадиуми, двата обрасци коегзистираат, при што овој во кој има задршка на вода обично е периферно распореден во однос на некротичниот. Овие наоди можат дополнително да се евалуираат со UTE-MRI секвенции, како што е протоколот предложен од Huber и соработниците, кои овозможуваат визуализација на структури

како лигаменти, зглобови и коска и покажуваат дијагностичка еквивалентност со CBCT кога артефактите се соодветно контролирани. (313)
Споредбите помеѓу онколошки пациенти третирани со золедронат и здрави контроли покажале радиографски промени во алвеоларната кортика, медуларната коска и дентоалвеоларниот регион, најчесто во задниот дел на мандибулата (45,3%), веројатно поради локални васкуларни разлики. Сепак, не е утврдена јасна поврзаност со типот на малигном или терапевтскиот режим. (305) Начинот на апликација на лекот влијае врз радиографските анализи, при што букално-лингвалните кортикални перфорации се почести кај пациенти кои примале интравенски бисфосфонати. (314)
CBCT анализата по извршена екстракција на заб покажува карактеристики што се силно поврзани со подоцнежен развој на MRONJ. Наоди како задебелување на lamina dura, проширен PDL-простор, остеосклероза, остеолиза и секвестрација биле значително почести кај пациентите кај кои подоцна се развила остеонекроза, што ја потврдува сигурноста на овој дијагностички пристап (Табела 2). (315)

Табела 2. Радиографски наоди кај MRONJ

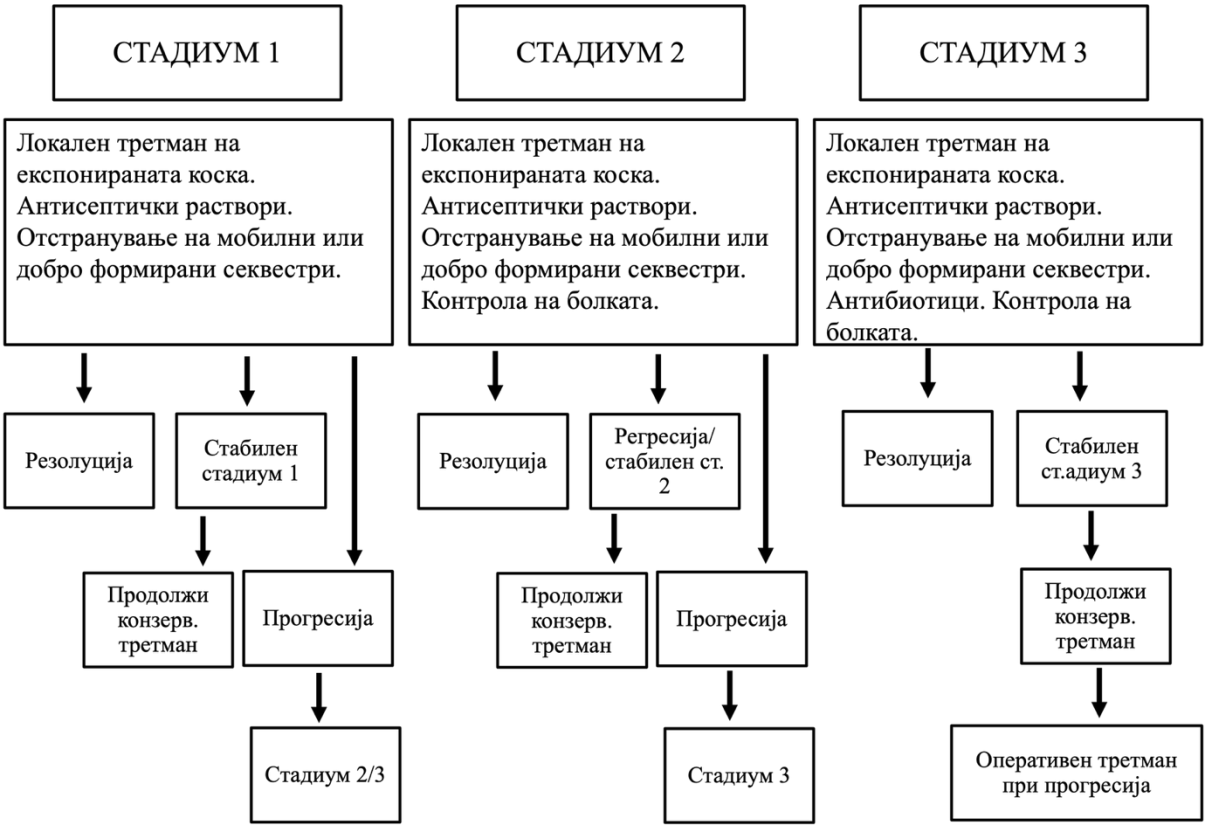
Радиоопактни лезии	*Радиолуцентни лезии*	*Патолошки компликации*
Склероза	Перзистирачка празна алвеола	Секвестри
Задебелување на lamina dura	Остеолиза на кортикалната и спонгиозната коска	Патолошка фрактура
Променети димензии на мандибуларниот канал	Фокални кортикални промени	Синузитис
Периостална реакција	Перирадикуларна луцентност	

2.6. Третман на MRONJ

Третманот и менаџирањето на MRONJ останува предизвик, без јасен консензус за оптимален терапевтски пристап. Терапијата се движи од конзервативни мерки до обемни хируршки интервенции и според последните препораки типот на терапевтски пристап зависи од стадиумот на болеста. (144) Конзервативниот третман има цел контрола на болката и инфекцијата, додека хируршкиот пристап, особено кај

напреднатите стадиуми, покажува повисока стапка на успех. Современата литература сè повеќе ја нагласува улогата на адјувантни терапии, со охрабрувачки резултати. AAOMS препорачува серија стандардизирани терапевтски алгоритми со цел да се поедностави и систематизира проценката и третманот на пациентите со MRONJ. Овие алгоритми опфаќаат насоки за клиничка евалуација, како и стратегии за конзервативен и оперативен третман. Препораките се засноваат на актуелен преглед на достапните докази за исходите од конзервативните и хируршките пристапи. Клучен концепт во современиот пристап кон MRONJ е дека и неоперативниот и оперативниот третман можат да бидат соодветни во сите стадиуми на болеста, при што изборот на стратегија треба да се темели на клиничката проценка на хирургот, индивидуалните карактеристики на пациентот и принципите на заедничко донесување одлуки. Без оглед на избраниот пристап, крајната цел на терапијата, и оперативна и неоперативна, останува иста: постигнување на излекување или контрола на болеста и значително подобрување на квалитетот на животот на пациентот.

Ефикасноста на конзервативниот пристап во третманот на MRONJ е добро документирана во литературата и претставува значаен дел од целокупниот терапевтски спектар. Конзервативниот пристап може да се примени во сите стадиуми на болеста, особено кај пациенти со значајни коморбидитети кај кои хируршкиот третман носи зголемен ризик. Дополнително, кај раните стадиуми, неоперативниот третман може да доведе до стабилизација на болеста, па дури и до целосно излекување. Конзервативниот третман е сосредоточен, пред сè, на контрола на болката, намалување, отстранување и превенција на воспаление и инфекција, детална едукација и информирање на пациентот и психолошка поддршка (Слика 5). Конечната цел е да се овозможи спонтано секвестрирање и одделување на експонираната некротична коска. (145, 159, 316, 317)



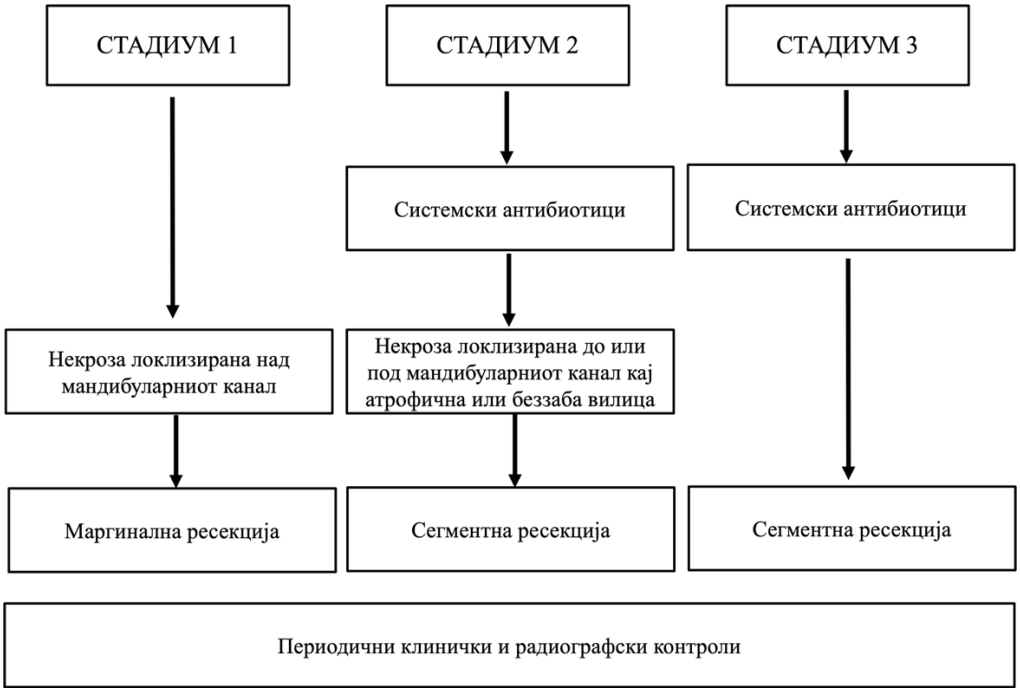
Слика 5. Конзервативен третман на MRONJ според последните ставови на AAOMS (144)

Одлуката помеѓу оперативен и конзервативен пристап мора да биде строго индивидуализирана. Притоа, треба да се земат предвид односот меѓу ризикот и придобивката (вклучително и тековниот квалитет на живот на пациентот), способноста за одржување соодветна орална хигиена, ризиците од обемните хируршки интервенции, како и функционалните и рехабилитациските последици по евентуална маргинална или сегментална ресекција. Во оваа проценка, радиолошката дијагностика има централна улога. Тридимензионалните техники на снимање овозможуваат детекција на формирани секвестри и можат да придонесат кон намалување на инвазивноста на хируршката интервенција. Одржувањето на анатомскиот интегритет на мандибулата или максилата е од исклучително значење, имајќи предвид дека реконструкцијата на хируршките дефекти кај оваа популација често е сложена и ограничена. (308)

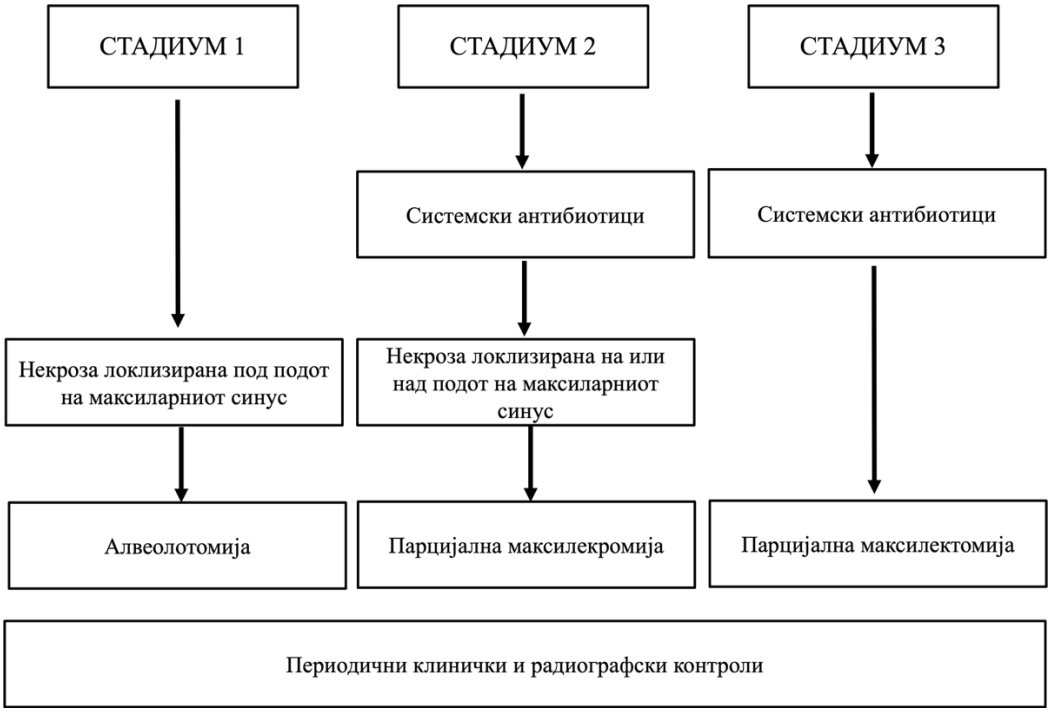
Пациентите со стадиум 1 обично се третираат со локален третман на раната со хлорхексидин и унапредување на оралната хигиена, со цел отстранување на биофилмот од површината на некротичната коска. Во отсуство на прогресија на болеста и доколку пациентот има задоволителен квалитет на живот, хируршката интервенција најчесто не

е индицирана. (145, 316-318) Кај стадиум 2, пациентите често имаат тешкотии во одржувањето на локалната нега и хигиена и неретко е потребна системска антибиотска терапија за контрола на симптомите. Кај оние пациенти кои не реагираат на конзервативен третман или не можат да одржат соодветна хигиена, хируршкиот пристап може да биде од корист. Во присуство на развиени или формирани коскени секвестри, конзервативниот третман може да се продолжи со цел да се овозможи дефинитивна секвестректомија. Во значителен број случаи, спонтаното отстранување на експонираната некротична коска резултира со резолуција на болеста. (319) Кај пациенти кои се лоши кандидати за хируршка терапија, главно поради општата здравствена состојба или напреднати коморбидитети, конзервативниот третман останува прифатлива и често единствена опција.

Иако конзервативниот третман останува валидна опција, сè повеќе докази укажуваат дека оперативниот третман е ефикасен и со висока стапка на успех во сите стадиуми на MRONJ (Слика 6 и 7). Многубројни студии покажуваат висока стапка на успешност по хируршка ресекција на остеонекротичните лезии. (145, 159, 317, 320-326) Важно е да се нагласи дека MRONJ може да прогредира со текот на времето, често на непредвидлив начин. Дополнително, конзервативниот пристап не секогаш резултира со секвестрација и излекување. Поради тоа, хируршката интервенција треба да се разгледа како активна терапевтска опција, особено со оглед на доказите дека рана хируршка интервенција може да резултира со подобар клинички исход. Маргиналната или сегменталната ресекција на долната вилица, како и парцијалната максилектомија, се покажале како ефикасни методи за контрола на MRONJ, вклучително и кај пациенти во стадиум 1. Овие интервенции бараат ресекциски маргини што се протегаат надвор од некротичната зона, сè до витална коска.



Слика 6. Препораки за оперативен третман на MRONJ во долната вилица според AAOMS (144)



Слика 7. Препораки за оперативен третман на MRONJ во горната вилица според AAOMS (144)

Контролата на коморбидитетите е суштински елемент во управувањето со MRONJ. Пациенти со значајно нарушена здравствена состојба, како оние со напредната

метастатска болест, можат да имаат послаб одговор на хируршкиот третман и понекогаш развиваат рефрактерна форма на болеста. (144, 145, 327) Кај мал дел од пациентите со метастатски карцином, хируршката ресекција може да открие присуство на метастази во коскениот примерок. (328)

Во моментов постојат ограничени докази што би ја поддржале употребата на адјувантни терапии, како хипербарна комора или озонска терапија, како ефективен начин за постигнување резолуција на MRONJ. Поголемите клинички студии и контролираните испитувања досега не успеале да ја потврдат нивната ефикасност. (329-332) Поради тоа, овие методи не се препорачуваат како стандардна терапија. Комбинацијата на витамин Е и пентоксифилин е опишана само во поединечни прикази на случаи. Терипаратидот, како еден од ретките анаболни агенси за третман на остеопороза, покажал охрабрувачки резултати како адјувантна терапија кај пациенти со MRONJ и остеопороза. (333) Во едно наше претходно анимално испитување е покажано дека додавањето на геранилгераниол во екстракциската рана по екстракција на заб кај експериментални стаорци значително го намалува појавувањето на MRONJ. (67)

Активното клиничко и радиографско следење е од клучно значење кај пациентите кои се третираат конзервативно, со цел навремено откривање прогресија на болеста. Кај пациенти кај кои се утврдува неуспех на конзервативниот третман, се препорачува рана хируршка интервенција. Кај пациенти со прогресивна клиничка или радиографска слика или кај оние што се презентираат со напредната форма на болеста, хируршката ресекција треба да се изврши без пролонгирано инсистирање на конзервативни мерки. MRONJ претставува комплексна хронична состојба, кај која навременият оперативен третман може да биде од суштинско значење. И покрај постојните контроверзии меѓу оперативниот и конзервативниот пристап, многубројни извештаи покажуваат дека хируршкиот третман овозможува одржување на мукозниот интегритет, подобрување на квалитетот на животот и побрзо продолжување на антиресорптивната терапија, независно од стадиумот на MRONJ. (334)

2.7. Превентивни концепти за MRONJ

Добро е познато дека должината на изложеноста на антиресорптивни лекови претставува еден од најзначајните ризик-фактори за развој на MRONJ. (144, 145, 147,

335, 336) Модификацијата на режимот на примена на бисфосфонати може да доведе до намалување на инциденцијата на MRONJ, без компромитирање на терапевтската ефикасност. Во една ретроспективна студија, Corso et al. ја испитувале инциденцијата на MRONJ кај пациенти со мултипен миелом третирани со золедронска киселина. Пациентите биле поделени на две групи: една со конвенционален месечен режим и друга со редуциран режим (месечно во првата година, а потоа на секои три месеци). Во групата со редуциран режим била забележана значително пониска преваленција на MRONJ во групата со редуциран режим. (337) Слични резултати се добиени и во друга рандомизирана студија, каде што редуцираниот режим бил поврзан со пониска преваленција на MRONJ. (338) Дополнително, евидентно е дека годишната интравенска примена на золедронска киселина, како и шестмесечниот режим на деносумаб, се поврзани со значително понизок ризик за MRONJ во споредба со месечните режими. Сепак, не постојат податоци што би укажале на корист од намалување на дозата кај пациенти со остеопороза во однос на редукција на ризикот за MRONJ.

Постои општ консензус дека пациентите пред почнување, како и за време на антиресорптивната терапија, треба да бидат подложени на редовно стоматолошко следење и да одржуваат соодветна орална хигиена, со цел да се минимизира потребата од агресивни хируршки интервенции и да се спречи влијанието на инфекцијата во патогенезата на MRONJ. (339, 340) Повеќе студии покажале значително намалување на инциденцијата на MRONJ кај пациенти кои биле вклучени во програми за стоматолошка проценка и превентивна терапија пред почнување на антиресорптивната терапија. (281, 285, 339-342) И покрај широката клиничка примена на овие превентивни мерки, сè уште недостигаат висококвалитетни, добро дизајнирани клинички студии што недвосмислено би го потврдиле нивниот заштитен ефект.

MRONJ може да се развие спонтано или како последица на присутна инфекција, воспаление и по инвазивни стоматолошки процедури, особено екстракции. Иако се предложени многубројни перипоративни мерки за намалување на ризикот, повеќето од нив се поткрепени со ограничени докази. (144, 343, 344)

Не постојат убедливи докази што ја поддржуваат рутинската употреба на антибиотска профилакса како ефективна стратегија за превенција на MRONJ, иако одредени студии укажуваат на потенцијална корист во селектирани групи пациенти. (319, 342, 343)

Предложени се различни хируршки пристапи со цел да се намали ризикот од MRONJ, вклучувајќи примарно затворање со мукопериостално ламбо, употреба на автологна плазма богата со фактори на раст, ласерска биостимулација и алвеолектомија. (345-348) Иако одредени студии укажуваат на пониска инциденција на MRONJ со овие техники, резултатите се хетерогени, а многу студии се неконтролирани или со ограничен примерок, што ја намалува нивната валидност. (349) Маркерите на коскен метаболизам, како серумскиот CTX, биле предложени како алатка за проценка на ризикот од MRONJ. (296) Сепак, повеќето студии и систематски прегледи не пронашле доволни докази што ја поддржуваат нивната клиничка примена како предиктори на ризик. (350, 351) Концептот на прекинување на антиресорптивната терапија и модифицирање на режимот е исто така предмет на различни истражувања и веќе е експериментално покажан позитивниот ефект, но другите студии не се конклузивни во однос на привременото прекинување на антиресорптивната терапија во превенцијата на MRONJ. (352)

2.8. Имунолошки промени кај MRONJ

По нарушување на интегритетот на оралната мукозна бариера и навлегување на микроорганизми, се активира вродениот имун одговор со цел ограничување на патогените и одржување на ткивната хомеостаза. Воспалението, како фундаментален одбранбен одговор на организмот, се карактеризира со перзистентна инфилтрација на имуно-клетки и со покачени концентрации на повеќе проинфламаторни цитокини и хемокини. (353) Постојаното воспаление е потврдено како значајна патолошка карактеристика на MRONJ. (354) Во повеќе експериментални модели кај глувци, но и во клинички случаи на MRONJ, е прикажана зголемена бактериска инфилтрација и изразена воспалителна реакција во некротичниот фокус. (355)

Бисфосфонатите можат да влијаат двојно и навидум парадоксално врз имуниот систем: од една страна, да создадат имуносупресивна средина преку инхибиција на

активацијата на имуно-клетките, а од друга страна да предизвикаат нарушување на рамнотежата меѓу антиинфламаторните и проинфламаторните цитокини, што потенцијално резултира со интензивирано локално воспаление и ткивно оштетување.

Дендритичните клетки се антиген-презентирачки клетки што имаат клучна улога во иницирањето и регулацијата на имунолошкиот одговор. Иако во мукозниот имун систем нивниот број (особено Лангерхансовите клетки) е релативно ограничен, тие се способни да ја детектираат надворешната средина и да ја модулираат оралната имунолошка хомеостаза. (356) Дендритичните клетки потекнуваат од хематопоетски матични клетки; по активација од антигени или други стимули тие презентираат антигени на Т-лимфоцитите и функционираат како клучна врска меѓу вродениот и стекнатиот имунитет, со што придонесуваат за стабилноста на мукозниот микромедиум. (357) Дисфункционалните дендритични клетки се опишани како фактор што може да индуцира имуносупресија во различни патолошки состојби. (358, 359) Одредени студии укажуваат на тоа дека бисфосфонатите имаат инхибиторен ефект врз нивната активација, што може да придонесе за имуносупресија. (360) Orsini et al. покажале дека бисфосфонатите ја модифицираат матурацијата на дендритичните клетки, но немаат значаен ефект врз нивната диференцијација. (361) Поновите литературни податоци сугерираат дека третманот со золедронат го намалува нивниот бројот во меките ткива и ја нарушува нивната фагоцитна функција, што води кон повисоко бактериско оптоварување и појава на MRONJ. (362) Иако механизмите преку кои BPs ја нарушуваат функцијата на дендритичните клетки се недоволно разјаснети, концептот дека нивната дисфункција создава истовремено имуносупресија и воспаление во оралната празнина претставува значајна патогенетска рамка што може да придонесе за поцелосно објаснување на MRONJ.

Макрофагите се хетерогена популација на мононуклеарни фагоцити присутни во различни ткива. (363) Тие се од суштинско значење за имуниот одговор, контрола на бактериското оптоварување и одржување на хомеостазата во мукозата. (364) Во клиничките студии е утврден понизок однос CD68/CD14 (маркери за моноцити/макрофаги) во коскените лезии кај пациенти со MRONJ, во споредба со други инфекции на вилиците, што сугерира дека имуносупресивното дејство на бисфосфонатите врз макрофагната линија може да биде поврзано со развојот на MRONJ. (365) Постојат докази дека бисфосфонатите ја менуваат миграцијата и

морфологијата на макрофагите на дозно-зависен начин. (366) Затоа што миграцијата на имунолошките клетки се одвива од лимфните и крвните садови, значајно е што неодамнешни наоди покажале дека бисфосфонатите го намалуваат бројот на F4/80+LYVE-1+ тубуларно структурирани клетки (макрофагна популација) во патолошки лезии на постекстракциската рана, паралелно со инхибиција на лимфангиогенезата, што укажува на нови имунопатолошки карактеристики на MRONJ. (367) Дополнително, бисфосфонатите можат да ја супресираат вијабилноста на моноцитната THP-1 линија по диференцијација кон макрофаги. (368) Иако овие наоди имплицираат дека нарушената миграција и преживување на макрофагите можат да придонесат за MRONJ, директната причинско-последична потврда во однос на инциденцијата останува ограничена. Фенотипската поларизација на макрофагите е клучен регулатор на ткивните воспалителни промени. (369) Во поедноставен модел, се разликуваат два доминантни фенотипа: M1 (проинфламаторен) и M2 (антиинфламаторен/репаративен). (369) Под влијание на цитокини како IFN-γ и бактериски компоненти како LPS, макрофагите се пренасочуваат кон M1 фенотип. (370) M1 макрофагите синтетизираат проинфламаторни медијатори (NO, ROS, IL-12, TNF-α) и се клучни во одбраната против патогени. Спротивно на тоа, M2 фенотипот учествува во сузбивање на воспалението и ткивно ремоделирање, преку секреција на IL-10 и TNF-β; M2 поларизацијата е поттикната од друг тип цитокини (IL-4, IL-13). (370) Рамнотежата помеѓу M1 и M2 фенотиповите ја определува ткивната реакција: при значајна инфекција доминира M1 одговор, но доколку M1 фазата перзистира, се зголемува ризикот од ткивна деструкција; оттука M2 одговорот е неопходен за враќање на хомеостазата. Во поновите истражувања се тврди дека нарушената M1/M2 поларизација е поврзана со патогенезата на MRONJ. (371)
Се смета дека бисфосфонатите можат да ја потенцираат LPS-индуцираната M1 поларизација преку активација на NLRP3, со последователно засилување на воспалението преку проинфламаторни цитокини.

Со инхибиција на мевалонскиот сигнален пат, золедронатот е прикажан како активатор на TLR-4 и неговата надолна регулација на NF-κB сигнализацијата, што води кон зголемување на M1 и инхибиција на M2 поларизацијата. Блокирањето на TLR-4 сигнализацијата значајно го намалува ефектот на золедронат врз поларизацијата, го редуцира бројот на M1 макрофаги во постекстракциската рана и ја намалува инциденцијата на MRONJ. (372) Овие наоди ја поставуваат оската на TLR-4 како

потенцијална терапевтска цел. Сумирано, индуцираните промени во балансот на M1/M2 од страна на бисфосфонатите во мукозниот имунолошки систем е многу веројатно дека имаат значајна улога во патогенезата на MRONJ.

Неутрофилните гранулоцити доминантно се присутни во периферната крв и претставуваат прва линија на одбрана во раната фаза на вродениот имун одговор. Заедно со лимфоцитите и макрофагите, тие потекнуваат од хематопоетски матични клетки, при што одредени линии можат да придонесат и за остеокластогенеза. Неутрофилите се фагоцитни клетки што ја извршуваат својата ефекторна функција преку активирање на повеќе механизми и продукција на големи количества реактивни кислородни видови. Тие се исто така таргет на бисфосфонатите, што ги прави потенцијално релевантни во етиологијата на MRONJ. Од една страна, бисфосфонатите се опишани како агенси што можат да поттикнат проинфламаторен ефект преку модификација на неутрофилната функција. (373) Во една експериментална студија е покажано зголемување на полиморфонуклеарни неутрофили, како и покачување на проинфламаторни медијатори (TNF-α, IL-1β, iNOS, NF-κB и IL-18 bp), што сугерира на тоа дека неутрофилите можат да ја влошат локалната воспалителна реакција. (374)

Од друга страна, Kuiper и соработниците укажуваат на тоа дека изложеноста на бисфосфонати може да ја инхибира неутрофилната хемотаксија, да ја намали активноста на NADPH оксидазата, да редуцира циркулирачки неутрофили и да ја супримира нивната регрутација in vivo. (375) Овие наоди ја поддржуваат хипотезата дека бисфосфонатите можат да го супримираат вродениот имунитет и на тој начин индиректно да придонесат за MRONJ. Така, компромитираната неутрофилна функција индуцирана од бисфосфонатите може да послужи за проценка на ризикот за развој на MRONJ. (376)

Zhang et al. покажуваат дека активација на NLRP3 во макрофаги посредувана со бисфосфонати го одложува зараснувањето на постекстракциските рани и придонесува кон развој на MRONJ, преку секреција на IL-1β кај дијабетични глувци. Суплементацијата со интермедиерни метаболити од мевалонскиот пат значајно го елиминирало потенцирачкиот ефект на бисфосфонатите врз ослободувањето на IL-1β при активација на NLRP3. Овие резултати сугерираат дека бисфосфонатите ја

компромитираат репарацијата на екстракциската рана и го зголемуваат ризикот за MRONJ. (377)

Имунолошките клетки не се ограничуваат на елиминација на воспалението; тие можат да ја модулираат и остеокластната диференцијација преку создавање на широк спектар цитокини – остеокластогени и антиостеокластогени. (378) Остеокластогените медијатори (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-15, IL-17, IL-23, IL-34) ја стимулираат остеокластната линија, додека антиостеокластогените (IFN-α/β/γ, IL-3, IL-4, IL-10, IL-12, IL-27, IL-33) имаат инхибиторен ефект. Клиничките студии покажуваат дека кај пациенти со остеопороза, третирани со бисфосфонати, се бележат намалени IL-6, IL-17, IL-23 и IFN-γ, а покачени IL-4, IL-10 и TGF-β во споредба со нетретирани пациенти, што укажува на инхибиција на остеокластната диференцијација преку намалување на остеокластогените и зголемување на антиостеокластогените цитокини. Сепак, остеоцитите се препознаени како важни регулатори на коскената ресорпција поттикната од воспаление. (379) Истовремено е покажано дека бисфосфонатите можат да ја зголемат експресијата на IL-6 и последователно RANKL во MLO-Y4 клетки, со што потенцијално се поттикнува остеокластогенезата. (380) Оттука, врската меѓу цитокините и MRONJ останува комплексна и заслужува дополнителна експериментална и клиничка елаборација.

2.9. Експериментални животински модели на MRONJ

Животинските модели генерално се користат не само за изучување на развојот и прогресијата на болести туку и за тестирање на нови терапевтски пристапи пред нивното применување кај луѓето. Во литературата ретко може да се сретне единствен претклинички модел што го реплицира целокупниот процес на болеста. Широкиот спектар на достапни животински модели за MRONJ сведочи за интензивната работа на многубројни истражувачи од различни лаборатории, овозможувајќи нивна комплементарна примена. Експериментите со животни исто така овозможуваат контролирани процедури што моделираат реални клинички ризик-фактори поврзани со болеста.

На пример, објавените студии за MRONJ ги одразуваат ефектите на системските ризик-фактори како што се бисфосфонатите, антителата против RANKL и

антиангиогени агенси. Моделите на MRONJ често комбинираат системска терапија со специфични орални ризик-фактори, како екстракција на заби, воспалителни заболувања (периодонтит, периапикална инфекција и сл.) или поставување импланти. Други модели ја реплицираат комбинацијата на повеќе орални ризик-фактори (на пример, периодонтит или периапикална инфекција, проследена со екстракција) или повеќе системски ризик-фактори (на пример, адјувантна глукокортикоидна терапија).

Во претклиничките истражувања за MRONJ, стаорецот претставува најчесто користен животински модел, со многубројни објавени студии во литературата. Со оглед на тоа што екстракцијата на заби е најчестиот клинички тригер за MRONJ кај луѓето, најголем број од студиите на стаорци вклучуваат екстракција на еден или повеќе молари како експериментален тригер. Покрај екстракцијата, поретко се користи и експерименталниот периодонтит е користен како орален ризик-фактор, имајќи предвид дека глодарите природно не развиваат спонтани пародонтални заболувања. (381-384) Периодонтитот најчесто се индуцира со поставување лигатура околу забите, апликација на липополисахарид (LPS) или инокулација со бактериски патогени. (286, 385-392) Периапикалната инфекција како единствен ризик-фактор е релативно ретко користена (385, 393-395), но комбинираната екстракција на заб со пародонтална инфекција и со системска терапија со золедронат или алендронат доведува до појава на експонирана или неекспонирана некротична коска. (396-398) Имплантите се користени како ризик-фактор во неколку студии (399-404), додека механички повреди или гингивални лезии во уште помал број. (405, 406)

Од терапевтски аспект, дел од студиите на стаорци се сосредоточуваат на превенција или третман на MRONJ. Испитувани се различни стратегии, вклучувајќи (PTH) (407-411), ласерска и фотодинамичка терапија (412-416), хипербарична оксигенација (417, 418), ресвератрол, (387, 419) локална хелатација (кадмиум, EDTA) (420, 421), трансплантација на мезенхимални матични клетки (422-424), геранилгераниол (67) и др. Дополнително, дел од студиите ја анализираат улогата на прекин на антиресорптивната терапија пред или по екстракција. (425, 426)

Глувците (Mus musculus) претставуваат втор најчесто користен модел. И кај нив, MRONJ се индуцира преку комбинација на системски антиресорптивни лекови и орални ризик-фактори. Во најголем дел од студиите се користи екстракција на заби

како единствен тригер, (427, 428) додека периапикалната инфекција и периодонтитот се користат поретко. (163, 284)

Кај зајаците (Oryctolagus cuniculus) моделите се користат претежно за испитување на локални интервенции. (429-431) Кај кучињата, долгорочна терапија со бисфосфонати ретко доведува до типична MRONJ по екстракција на здрави заби, но се забележува забавено зараснување и намален коскен метаболизам. (432-434) Малите свињи, поради анатомската и физиолошка сличност со човекот, претставуваат особено релевантен модел, при што екстракција на заби во комбинација со золедронската киселина доведува до повторлива појава на MRONJ. (435-437) Овците (Ovis aries) исто така се користат како модел со слична динамика на коскено зараснување; MRONJ се индуцира со золедронска киселина и екстракција на молари, при што е забележана загуба на импланти кај третирани животни. (438, 439)

Сумирано, животинските модели обезбедуваат значајни сознанија за патофизиологијата на MRONJ и за потенцијалните превентивни и терапевтски стратегии. Сепак, исходот значително варира во зависност од видот, дозата и времетраењето на антиресорптивната терапија, како и од типот и интензитетот на оралниот ризик-фактор, што ја нагласува потребата за внимателна интерпретација и транслација на резултатите во клинички контекст.

2.10. Статините како можни модификатори на коскениот метаболизам и превенција и третман на MRONJ

Врз основа на резултатите од клиничките испитувања, најчесто препишувани терапии за намалување на холестеролот во крвта се инхибиторите на хидроксиметилглутарил-коензим А (HMG-CoA) редуктаза, познати како статини. HMG-CoA редуктазата катализира конверзија на HMG-CoA во мевалонат, клучниот чекор во синтезата на холестерол. Конкурентната инхибиција на овој ензим со статини го намалува синтезирањето на холестерол во хепатоцитите, додека намалената концентрација на холестерол во клетката предизвикува експресија на LDL-рецепторите на површината на хепатоцитите, што резултира со зголемено извлекување на LDL-C од крвта и намалување на неговите серумски концентрации. (440)

Статините исто така позитивно влијаат на други липидни параметри, со зголемување на концентрацијата на HDL-C и намалување на триглицеридите. (441) Дополнително, статините можат да го намалат нивото на атерогени липопротеини преку инхибиција на синтезата на аполипопротеин B100 во црниот дроб и намалување на синтезата и секретијата на липопротеини богати со триглицериди. (442) Понатаму, статините можат да имаат поволни кардиоваскуларни ефекти независно од нивното дејство врз липидите. (443) Овие плурипотентни својства се објаснуваат преку инхибиција на синтезата на нестероидни изопреноидни соединенија, кои исто така се производ од метаболизмот на мевалонската киселина, и се поврзани со подобрување на функцијата на ендотелните клетки, модификација на воспалителните реакции и намалување на пролиферацијата на мазните мускулни клетки и акумулацијата на холестерол. (444)

Генерално, статините се сметаат за безбедна и добро толерирана класа на лекови, и покрај повлекувањето на церивастатин во 2001 година. Хемиски, ловастатин, правастатин и симвастатин се инхибитори на HMG-CoA редуктаза, додека аторвастатин, церивастатин, флувастатин, правастатин, питавастатин и росувастатин се целосно синтетички соединенија. (445) Хемиската структура на различните статини може да се подели на три дела: аналози на HMG-CoA, хидрофобни прстенести структури што се поврзани со аналозите и учествуваат во врзувањето за ензимот, и странични групи што го определуваат растворувањето и фармакокинетичките својства. Аторвастатин, флувастатин, ловастатин и симвастатин се релативно липофилни, додека правастатин и розувастатин се хидрофилни поради поларната хидроксилна и метансулфонамидната група, соодветно.

Статините се конкурентни инхибитори на HMG-CoA редуктаза во однос на HMG-CoA, но не и во однос на кофакторот NADPH, со што нивните делови слични на HMG-CoA се врзуваат за активното место на ензимот и го спречуваат врзувањето на супстратот. Кристалните структури покажуваат дека статините предизвикуваат реконфигурација на активниот дел на ензимот, овозможувајќи сместување на ригидните хидрофобни прстенести структури. Понатаму, аторвастатин и розувастатин создаваат дополнителни водородни врски и уникатни поларни интеракции што можат да ја зголемат нивната моќ. (446) Ловастатинот и симвастатинот во организмот се хидролизираат до активната хидроксилна форма (447), додека другите статини се даваат во активна форма. Сите статини брзо се апсорбираат, достигнувајќи пикови во плазмата во рок од четири часа.

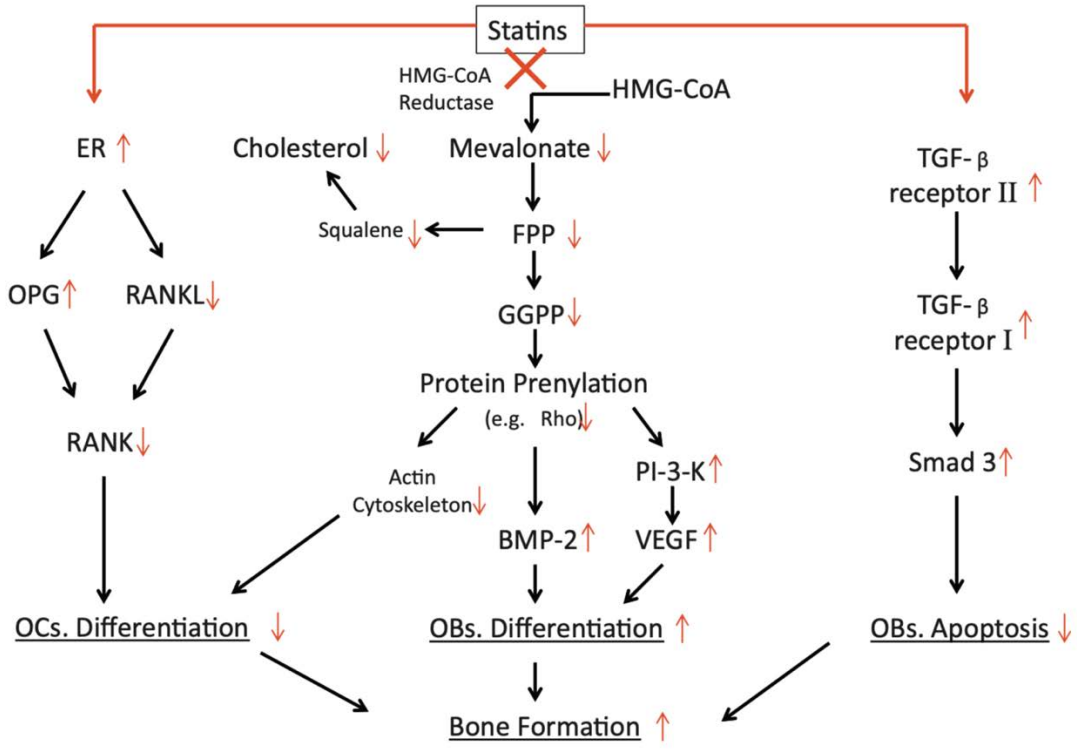
Апсорпцијата на аторвастатин зависи од времето на администрација (448), додека розувастатин е отпорен на овој фактор. (449) Полуживотот на елиминација на аторвастатин е околу 14 часа, а на росувастатин 19 часа, што овозможува континуирано дејство на HMG-CoA редуктазата.

Општо земено, статините имаат ниска системска биорасположливост поради првиот проток низ црниот дроб (450), што е критично бидејќи црниот дроб е главната цел на нивното дејство. Внесувањето храна има варијабилен ефект врз апсорпцијата; ловастатин се апсорбира поефикасно со храна, додека апсорпцијата на аторвастатин, флувастатин и правастатин се намалува. Со исклучок на правастатин, сите статини интензивно се врзуваат за плазмените протеини, со што изложеноста на активниот лек е релативно ниска. Липофилните статини лесно поминуваат низ клеточните мембрани, додека хидрофилните се повеќе хепатоселективни. Нивниот метаболизам е главно преку CYP450 ензимскиот систем, каде што CYP3A4 го метаболизира ловастатин, симвастатин и аторвастатин, додека правастатин, питавастатин и розувастатин се метаболизираат минимално. Високата липофилија се поврзува со поголема подложност на мускулна токсичност поради ризикот од интеракции со други лекови. (451) Главниот пат на елиминација е преку жолчката.

2.10.1 Молекуларна основа на влијанието на статините врз метаболизмот на коските

Покрај нивниот ефект на намалување на холестеролот, статините покажуваат низа плетропни ефекти, вклучувајќи ефекти на коските, вазодилатација, антитромботски, антиоксидантни и антиинфламаторни својства. Од овие ефекти, оној на коските е особено истражуван поради потенцијалната клиничка примена на статините во третманот на остеопороза и други коскени дефицити. (452) Механизмите со кои статините го стимулираат формирањето на коската можат да се сумираат во три главни патеки: поттикнување на остеогенеза, инхибиција на апоптоза на остеобласти и супресија на остеокластогенезата.

Статините го инхибираат ензимот HMG-CoA редуктаза, што води до намалена синтеза на мевалонат и неговите изопреноидни претходници, фарнезил пирофосфат (FPP) и геранилгеранил пирофосфат (GGPP) (Слика 8). Намалувањето на FPP и GGPP е критично за диференцијацијата на остеобластите, а нивното надворешно додавање го инхибира процесот на остеогенеза. (453, 454) Понатаму, FPP и GGPP се неопходни за пренилација на GTP-зависни протеини (на пример, Rho). Статините ја инхибираат пренилацијата, што доведува до зголемено изразување на BMP-2 и остеокалцин преку потиснување на Rho/Rho-киназа и до зголемување на VEGF преку PI3K сигнализација. (455, 456)



Слика 8. Механизам на дејство на статините во однос на коскениот метаболизам. Преземено од Zhang et al. (457), а модифицирано од Ruan et al. (458)

Статините можат да го зголемат создавањето на нова коска преку инхибиција на апоптозата на остеобластите преку TGF-β/Smad3 сигналниот пат. Smad3 е есенцијален за одржување на коскената маса, а неговата деактивација води до намалена остеогенеза. (459, 460) Статините ја индуцираат експресијата на Smad3 и ја спречуваат апоптозата на остеобластите. (461)

OPG/RANKL/RANK системот е клучен за формирање на остеокластите. (462) Статините ја поттикнуваат експресијата на OPG и ја супримираат експресијата на RANKL, со што се инхибира формирањето на остеокласти. (463) Дополнително, симвастатин ја индуцира експресијата на естрогенски рецептор-α (ERα) во остеобластите и коските на овариектомизирани глувци, што доведува до обновување на изгубената коскена маса. Статините, исто така, ја нарушуваат модулацијата на цитоскелетот на остеокластите преку инхибиција на пренилацијата, инхибирајќи ја фузијата на преостеокластите и нарушувајќи ја структурата на актинот. (464)

2.10.2. Истражувања на ефектите на статините врз коскените ткива

Првичните анализи покажале дека статините (ловастатин и симвастатин) ја стимулираат експресијата на BMP-2 и го зголемуваат формирањето на коската при локална апликација кај глувци и орална примена кај стаорци. Други студии потврдиле дека симвастатинот ја зголемува коскената цврстина и волумен, како и бројот на остеобласти на различни коскени локации кај стаорци. (465-470) Аторвастатинот значително ја зголемил коскената минерална густина и коскената цврстина на фемурот кај модел на стаорци и го спречил губењето на алвеоларната коска. (471, 472) Флувастатин го инхибирал губењето на коскената густина кај овариектомизирани стаорци. (473) Покажано е и дека статините исто така ја намалуваат ресорпцијата на коската и маркерите на метаболизам, како CTX-1 и пиридинолин. Комбинирањето со други терапевтски агенси, како што е естрадиолот, делта-токотриенолот или едноставно со физичка активност, покажало синергистички ефекти во зајакнување на коскената маса и механичките својства на коските. Студиите што го анализираат влијанието на статините врз остеопорозата и метаболизмот на коските кај луѓето главно се опсервациски. Неколку студии пријавиле намален ризик од фрактури кај постари жени кои користеле статини. Chan et al. покажале 52% намален ризик од фрактури кај жени над 60 години со примена на статини во текот на две години. (474) Употребата на статини била поврзана со 60% намален ризик од фрактури. Кај жени во постменопауза, кои користат хормонска терапија или пациенти со тип 2 дијабетес, се покажало дека употребата на статини доведува до повисоки вредности на коскена минерална густина. (475) Локалната примена на симвастатин во една студија на

пациенти со фуркациски дефекти покажала подобрување на клиничките параметри и коскената регенерација. (476) Слични позитивни ефекти се пријавени и со локална примена на аторвастатин. (477)

Во целост, in vivo истражувањата покажуваат дека статините имаат потенцијал да го зголемат волуменот, густината и механичката цврстина на коската и да го намалат метаболизмот на коската во модели на остеопороза, фрактури, артритис и периодонтитис.

Во однос на остеонекрозата, флувастатинот и аторвастатинот се испитувани и како превентивни и тераписки можности кај MRONJ, доведувајќи до значајно намалување на појавата на остеонекротични лезии кај стаорци, потврдено со клинички, хистолошки и радиолошки методи. (478, 479)

Оваа можна примена на статините во подобрување на коскениот метаболизам, зголемувањето на коскената густина, како и ефектите врз системското воспаление, лежи идејата за нивно користење во овој докторски труд. MRONJ сè уште претставува голем клинички предизвик. И покрај постојните насоки, алгоритми и многубројни истражувања, превенцијата и терапијата на оваа состојба не е егзактна и значајно варира во различни клинички услови. Токму овој недостаток што клинички негативно се рефлектира кај оваа популација на пациенти, претставуваше мотив да се разгледаат можностите за понатамошни испитувања на статините што би можеле да доведат до превентивни и тераписки ефекти во однос на MRONJ.

3. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Главна цел на овој докторски труд е да се проценат превентивните и тераписките ефекти на аторвастатин врз медикаментозната остеонекроза на вилиците кај анимален модел на бел лабораториски стаорец.

Пропратни цели на трудот се:

1. Да се воспостави соодветен анимален модел врз кој ќе можат да се евалуираат ефектите на аторвастатинот врз појавата, развојот и третманот на MRONJ.
2. Да се тестира ефектот на локалната инјекциска администрација на аторвастатин во меките ткива во непосредна близина на екстракциска рана кај лабораториски стаорци кои претходно биле третирани со соодветна доза и концентрација на золедронска киселина, врз појавата на MRONJ.
3. Да се тестира ефектот на системската коадминистрација на аторвастатин и золедронска киселина во одредена доза и концентрација врз појавата на MRONJ кај лабораториски стаорец по извршена екстракција на заб.
4. Да се тестира ефектот на локалната инјекциска администрација на аторвастатин во меките ткива во непосредна близина на екстракцискатa рана кај лабораториски стаорци две недели по екстракцијата на заб, претходна администрација на системски бисфосфонат, врз понатамошниот тек на MRONJ.
5. Да се тестира ефектот на самостојната локална и системска администрација на аторвастатин (без золедронска киселина) врз динамиката на зараснување на екстракцискатa рана.
6. Да се проценат клиничките, патохистолошките и радиолошките промени во вилите на белиот лабораториски стаорец непосредно во зоната на екстракција на заб, по третман со золедронска киселина, и по локален и системски третман со аторвастатин, самостојно и истовремено, непосредно по екстракција на заб и две недели по екстракција на заб.
7. Да се процени ефектот на золедронската киселина и аторвастатинот (аплицирани истовремено и самостојно) врз нивото на проинфламаторни цитокини кај бел лабораториски стаорец, по претходна екстракција на заб.

8. Да се процени ефектот на золедронската киселина и аторвастатинот (аплицирани истовремено и самостојно) врз антиоксидативниот капацитет кај бел лабораториски стаорец по претходна екстракција на заб.

Во согласност со дефинираните цели на истражувањето и врз основа на поставениот експериментален дизајн, во рамките на ова докторско истражување се формулираат следните хипотези:

Општа нулта хипотеза:

Администрацијата на аторвастатин, независно од начинот (локален или системски) и времето на апликација (превентивно или постекстракциско), нема статистички значаен ефект врз појавата, степенот и тежината на MRONJ индуцирана со золедронска киселина кај експерименталниот анимален модел. Не постојат статистички значајни разлики помеѓу групите во однос на клиничките параметри, радиолошките CBCT-наоди, хистопатолошките карактеристики на коскената некроза, серумските концентрации на воспалителните цитокини (TNF-α и IL-1β), активноста на антиоксидативните ензими (супероксид дисмутаза, каталаза и глутатион редуктаза), ниту во однос на нивните меѓусебни корелации и предиктивната вредност во рамките на мултипната регресиска анализа.

Општа работна хипотеза:

Администрацијата на аторвастатин има статистички значаен превентивен и терапевтски ефект врз појавата и тежината на MRONJ индуцирана со золедронска киселина кај стаорци, што се манифестира преку подобрување на клиничките и радиолошките параметри, намалување на хистопатолошки потврдената остеонекроза, супресија на воспалителниот одговор и подобрување на параметрите на антиоксидативните ензими.

Покрај општата хипотеза, се дефинираат и следните специфични хипотези:

1. Постојат статистички значајни разлики во клиничкиот исход (степен на зараснување, присуство на експонирана некротична коска и знаци на воспаление) помеѓу групата третирана само со золедронска киселина и групите

кај кои е додаден аторвастатин, со тоа што аторвастатинот значајно го подобрува клиничкото зараснување на раната и ја намалува појавата на остеонекроза.

2. Постојат статистички значајни разлики во радиолошкиот степен на коскена деструкција и некротична коска проценет со CBCT помеѓу експерименталните групи, при што превентивните режими на аторвастатин се очекува да покажат поизразен ефект во однос на постекстракцискиот терапевтски режим, пресликан преку приказ на помал дел од алвеоларната коска што е со нарушена морфологија.
3. Постојат статистички значајни разлики во хистопатолошките параметри, изразени преку бројот на празни остеоцитни лакуни и степенот на воспалителна инфилтрација, помеѓу групите, со тоа што аторвастатинот го намалува бројот на празни лакуни и ја ограничува воспалителната реакција.
4. Постојат статистички значајни разлики во серумските концентрации на TNF-α и IL-1β помеѓу експерименталните групи, со тоа што додавањето на аторвастатин резултира со значајна редукција на серумските концентрации на TNF-α и IL-1β, што укажува на модулација на воспалителниот одговор во моделот на MRONJ.
5. Постојат статистички значајни разлики во активноста на антиоксидативните ензими, со тоа што аторвастатин статистички значајно ја зголемува антиоксидативната ензимска активност, со што придонесува за намалување на оксидативниот стрес индуциран од золедронска киселина.
6. Постои статистички значајна корелација помеѓу воспалителните и оксидативните параметри и степенот на клиничката, патохистолошката и радиолошки потврдената остеонекроза, при што одредени биохемиски параметри претставуваат независни предиктори на тежината на MRONJ во мултипниот регресиски модел.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За тестирање на нултата и работната хипотеза и за реализација на поставените цели, во ова докторско истражување беше применет експериментален анимален модел на MRONJ кај бели лабораториски стаорци од сој Wistar, според принципи утврдени во претходно валидирани претклинички модели. Во истражувањето беа вклучени 35 стаорци на возраст од три месеци, со просечна телесна маса од приближно 250 g при почнување на протоколот. Животните беа одгледувани во акредитирана лабораторија за работа со експериментални животни при Институтот за биологија на Природно-математичкиот факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје, под строго контролирани услови (температура 22 ± 2°C, релативна влажност 50 до 60%, 12-часовен светло/темен циклус), со слободен пристап до стандардна лабораториска храна и вода (ad libitum). Пред почнување на експериментот беше спроведен адаптациски период од седум дена. Сите процедури беа спроведени согласно етичките принципи за работа со лабораториски животни и по одобрение од надлежна институционална комисија.

Групирање на животните

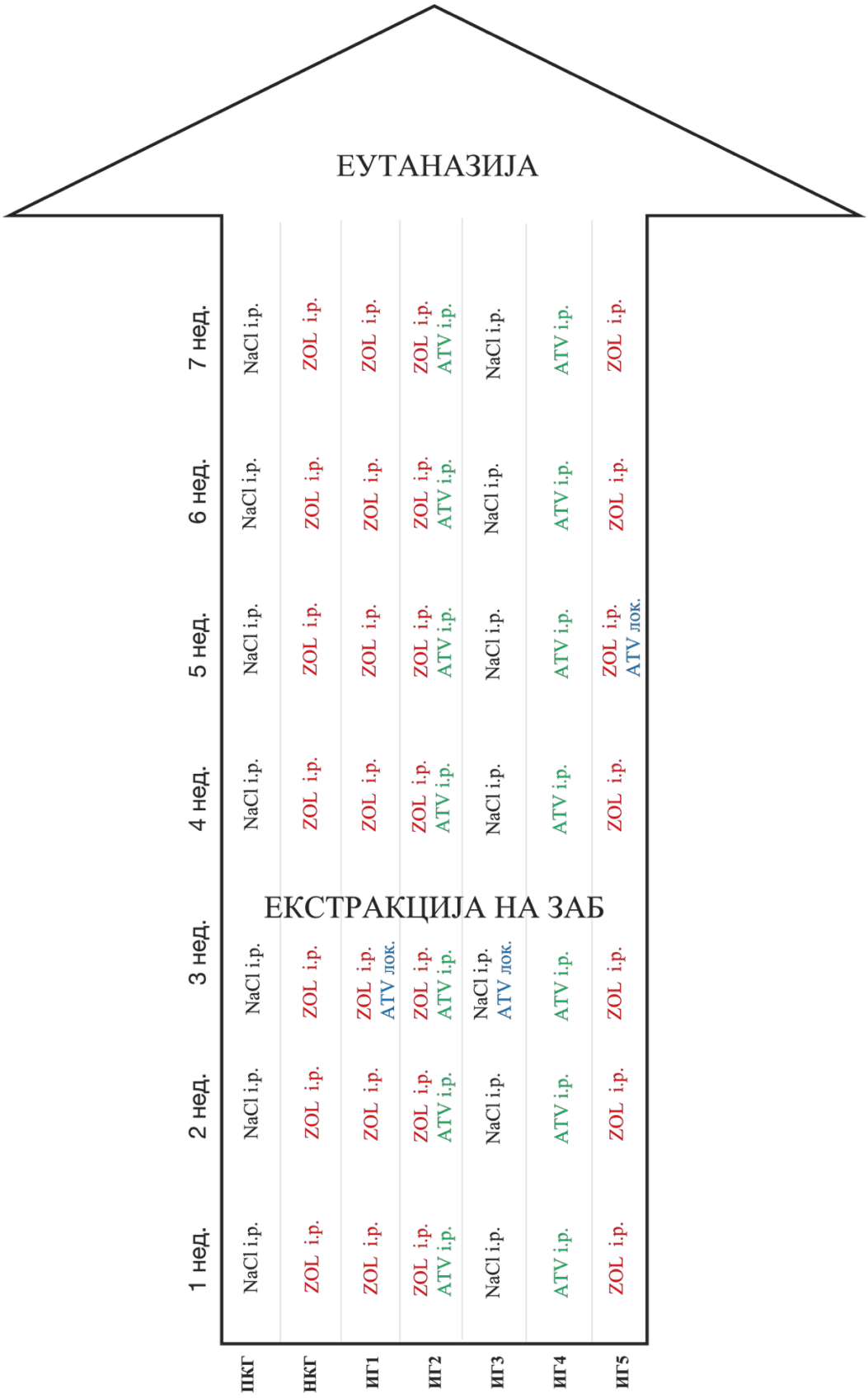
Животните беа рандомизирани во седум групи (по пет животни во група) со користење на компјутерски генерирана листа за случајна распределба. Формирани беа една позитивна контролна група, една негативна контролна група и пет испитувани групи. Животните беа третирани врз основа на работен протокол со соодветни медикаменти и интервенции (Слика 9). Протоколот за работа на ова истражување подразбира формирање на следните групи:

- **Позитивна контролна група (ПКГ):** интраперитонеална апликација на физиолошки раствор еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден.
- **Негативна контролна група (НКГ):** интраперитонеална апликација на золедронска киселина (0,66 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден.

- **Испитувана група 1 (ИГ1; ZOL + ATV локално):** интраперитонеална апликација на золедронска киселина (0,66 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден; локална апликација на аторвастатин (10 mg/kg) во мекото ткиво во непосредна близина на екстракцискатa рана на денот на екстракцијата.
- **Испитувана група 2 (ИГ2; ZOL + ATV системски):** интраперитонеална апликација на золедронска киселина (0,66 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; истовремена интраперитонеална апликација на аторвастатин (10 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден.
- **Испитувана група 3 (ИГ3; ATV локално):** интраперитонеална апликација на физиолошки раствор еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден; локална апликација на аторвастатин (10 mg/kg) во мекото ткиво во непосредна близина на екстракцискатa рана на денот на екстракцијата.
- **Испитувана група 4 (ИГ4; ATV системски):** интраперитонеална апликација на аторвастатин (10 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден.
- **Испитувана група 5 (ИГ5; ZOL + ATV постекстракциски):** интраперитонеална апликација на золедронска киселина (0,66 mg/kg) еднаш неделно во текот на седум недели; екстракција на прв долен молар на левата страна на 21. ден; локална апликација на аторвастатин (10 mg/kg) во мекото ткиво во непосредна близина на екстракцискатa рана на 35. ден.

Постапка при екстракција на заб

Екстракцијата на првиот долен молар на левата страна беше извршена во длабока седација со интраперитонеална апликација на кетамин (80 mg/kg) и мидазолам (5 mg/kg). По постигнување на адекватна анестезија и отсуство на рефлексен одговор, беше извршено одделување на епителната инсерција, минимална маргинална остеотомија и внимателна екстракција со клешта. Хируршката рана не беше примарно затворена, со цел да се симулира физиолошко зараснување. Животните беа клинички следени до завршување на експерименталниот период.



Слика 9. Шематски приказ на протоколот на работа со групите стаорци

Постапка при еутаназија и подготовка на вилиците за понатамошна обработка

По завршување на протоколот, беше извршена еутаназија со примена на висока доза тиопентал. Беше земена венска крв и распределена во туби со сепаратор за серум и во EDTA туби за добивање плазма. По коагулација, серумските примероци беа центрифугирани при 1000 × g во траење од 15 минути, а плазмата беше добиена по истата постапка. Примероците за основните крвни анализи беа искористени веднаш, а примероците во кои се испитуваа проинфламаторните цитокини и антиоксидативните ензими беа замрзнати до понатамошна анализа, со избегнување на повеќекратни циклуси на замрзнување и одмрзнување. Долните вилици на сите стаорци беа внимателно екстирпирани, ослободени од меките ткива, фотографирани и фиксирани во 4% формалин.

Методологија на анализирање

Во овој труд беше направена мултимодална анализа на регијата од интерес (делот на екстракциската рана) и целата долна вилица, а дополнително беа направени и серолошки анализи. Пред спроведува на анализата, кај сите стаорци беше измерена телесната тежина и уредно нотирана. Беше направена клиничка евалуација на вилиците и зоната на екстракциска рана, патохистолошка евалуација, тридимензионална компјутерска томографија со конусен зрак (CBCT), основни крвни анализи, проинфламаторни цитокини TNF-alpha и IL-1Beta, и антиоксидативните ензими каталаза, супероксид дизмутаза и глутатион редуктаза.

Клиничка евалуација

Клиничката евалуација ги опфати следните параметри: (1) степен и квалитет на зараснување на постекстракциската рана, (2) присуство на експонирана некротична коска и (3) присуство на инфекција и клинички знаци на воспаление. Проценката ја спроведе главниот истражувач (максилофацијален хирург) по принцип на слепа анализа, а резултатите беа валидирани од втор максилофацијален хирург со

повеќегодишно искуство. Параметрите беа оценувани на ординална скала од 0 до 3, каде што 0 означува целосно зарасната рана без експозиција и без воспаление; 1 означува делумно, но задоволително зараснување со минимална експозиција без знаци на инфекција; 2 означува несоодветно зараснување со експонирана некротична коска до третина од ширината на алвеоларната коска и благи до умерени знаци на воспаление/инфекција; 3 означува изразено неповолно зараснување со експозиција поголема од третина и јасно изразени знаци на воспаление и инфекција. Овој систем беше концептуално усогласен и приспособен на класификацијата на MRONJ предложена од AAOMS. (144)

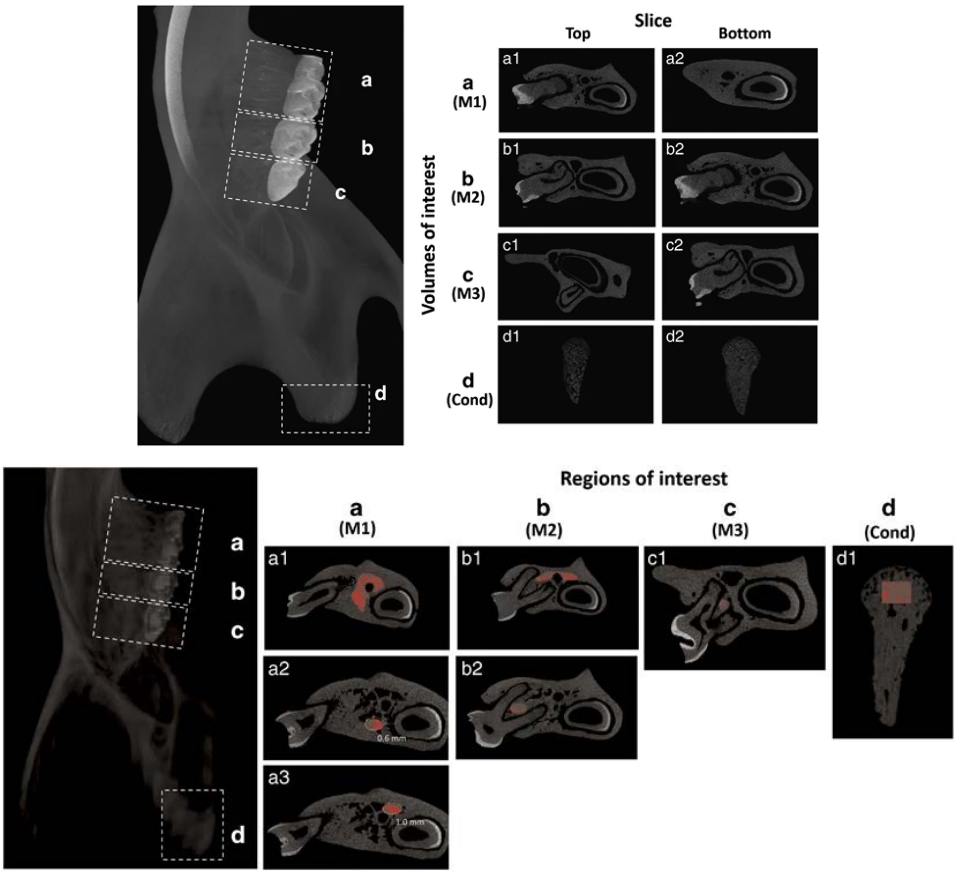
Патохистолошка анализа

За патохистолошка анализа, примероците беа подложени на декалцинација во мравја киселина до постигнување соодветна мекост на коскеното ткиво, по што следуваше процес на дехидратација, внесување во парафин и изработка на пресеци со дебелина од 4 до 5 μm. Пресеците беа боени со хематоксилин-еозин. Хистолошката анализа беше спроведена од искусен патолог по принцип на слепа проба, при што примероците беа кодирани од независно лице. Остеонекрозата беше дефинирана како присуство на повеќе од осум празни остеоцитни лакуни во едно видно поле. Дополнително беше оценуван степенот на воспалителна реакција на ординална скала од 1 до 3, со тоа што 1 означува отсуство или минимално присуство на воспалителен инфилтрат во зоната од интерес, 2 означува средно присуство на инфламаторен инфилтрат во зоната од интерес, и 3 означува силно присуство на инфламаторен инфилтрат во зоната од интерес. Со камера поврзана за светлосниот микроскоп беа направени фотографии од репрезентативните пресеци и истите беа понатамошно обработени во компјутерски софтвер.

Радиолошка анализа со CBCT

Радиолошката анализа беше извршена со конусно-зрачна компјутерска томографија (CBCT) на апарат Planmeca ProMax. Сликите беа обработени со софтвер Romexis

(Planmeca). Анализата беше спроведена во аксијална, коронална и трансверзална рамнина, со дополнителен 3D рендеринг и формирање на тридимензионален модел на долната вилица. Проценката беше направена по принцип на слепа проба и опфати полу-квантитативна анализа на волуменот на коскена деструкција во однос на волуменот на здрава коска, на скала од 1 до 3, со тоа што 1 означува коскена деструкција/некротична коска помала од третина од вкупниот волумен во вестибуло-орален и мезио-дистален правец, 2 означува волумен на коскена деструкција/некротична коска до две третини, а 3 означува волумен на коскена деструкција/некротична коска меѓу две третини и целосно вестибуло-орално или мезио-дистално растојание. Методологијата на квантифицирање на промените на коскените морфолошки промени беше направена во согласност со претходно објавена студија, со модификација во контекст на MRONJ. (480) Зоните од интерес што се анализираа се прикажани на Слика 10.



Слика 10. Зона од интерес (a – M1: прв молар) за мерење на зафатеноста на долната вилица со нарушено зараснување на постекстракциската рана на CBCT (480)

Проинфламаторни цитокини

TNF-α и IL-1β беа анализирани во серумски примероци. По земање на венска крв во туба со сепаратор за серум и по нејзиното коагулирање, примероците беа центрифугирани при 1000 × g во траење од 15 минути. За определување на количеството на целните молекули беа употребени комерцијални *sandwich* ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) комплети за TNF-α и IL-1β кај стаорци (Thermo Fisher Scientific), базирани на принцип на врзување помеѓу пар антитела, при што бунарчињата беа претходно обложени со антитело специфично за таргет-анализата. Лабораториската постапка беше спроведена согласно упатството на производителот. Накратко, во секое бунарче беа додадени 50 μL серумски примерок, по што беше формиран *sandwich* комплексот со додавање на второто (детекторско) антитело. На крај беше додаден супстратен раствор за овозможување на реакцијата помеѓу ензимот, антителото и таргет-анализатот, при што се создаде мерлив сигнал. Интензитетот на сигналот беше измерен со колориметриски микроплочест читач, при што апсорпцијата е директно пропорционална на концентрацијата на анализатот во првичниот примерок. Апсолутните вредности на добиените читања беа користени за понатамошна статистичка обработка.

Антиоксидативни ензими

Активноста на супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и глутатион редуктаза (GR) беше определена во плазма со комерцијални колориметриски комплети (Thermo Fisher Scientific), кои содржат стандарди и супстрати за секој параметар. Примероците беа разредени во соодветен дилуент, додадени во бунарчиња, по што следуваше додавање на супстрати и инкубација во текот на 20 минути на собна температура. Принципот на тестовите е следен: GR тестот се базира на сопствена не-флуоресцентна реакција што ковалентно се врзува за слободната сулфхидрилна група на глутатионот создаден при редукција на оксидираниот глутатион, со што се формира високофлуоресцентен производ. Во SOD тестот, ксантин оксидазата генерира супероксидни радикали во присуство на кислород, кои го претвораат безбојниот супстрат во жолт продукт; со зголемување на активноста на SOD се намалува концентрацијата на супероксид, што резултира со помала жолта обоеност. Тестот за

CAT користи разредена пероксидаза, која ја катализира реакцијата помеѓу водород пероксид и безбојниот супстрат, при што се создава розов производ; зголемената активност на каталазата ја намалува концентрацијата на пероксидот и соодветно го намалува интензитетот на розовата боја. Резултатите беа прочитани на автоматизиран флуоресцентен микроплочест читач.

Основни крвни анализи

Основните крвни анализи беа направени во полна крв непосредно по нејзината колекција по извршената еутаназија. Анализиран беше бројот на еритроцити, леукоцити, тромбоцити, хематокрит, хемоглобин, лимфоцити и неутрофили.

Статистичка анализа

Статистичката обработка на податоците беше извршена со користење на софтверскиот пакет SPSS Statistics 31.0.2.0 (126) (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Пред почнување на инференцијалната анализа, беше спроведена детална проверка на податоците во однос на нивната распределба, присуство на екстремни вредности и тип на варијабли (континуирани, ординални или категоријални). Нормалноста на распределбата на континуираните варијабли беше проценета со Шапиро-Вилков тест (Shapiro-Wilk), со оглед на релативно малата големина на примерокот во поединечните групи. Дополнително, хомогеноста на варијансите беше проверена со Левенов тест (Levene), со цел да се потврдат претпоставките за примена на параметарски тестови. Континуираните варијабли со нормална распределба беа презентирани како средна вредност ± стандардна девијација, додека варијаблите со ненормална распределба или ординалните параметри беа изразени како медијана и интерквартилен опсег.

За споредба на параметарските континуирани варијабли помеѓу повеќе од две независни групи беше применета еднофакторска анализа на варијанса (One-way ANOVA). Во случај на статистички значајна разлика, беше спроведена пост-хок анализа со Такиев тест (Tukey) за повеќекратни споредби, со цел идентификација на групите меѓу кои постои разлика. За варијабли што не ја исполнуваа претпоставката за

нормална распределба или беа од ординален карактер (клинички скор, CBCT скор, степен на воспалителна реакција), беше применет непараметарскиот Крускал-Волисов тест (Kruskal-Wallis). При утврдена статистички значајна разлика, беа спроведени дополнителни парни споредби со соодветна корекција за повеќекратни тестирања.

Корелациската анализа беше спроведена со цел испитување на степенот и насоката на поврзаност помеѓу воспалителните маркери (TNF-α, IL-1β), параметрите на оксидативен стрес (SOD, каталаза, глутатион редуктаза) и клиничките и радиолошките исходи. За континуирани варијабли со нормална распределба беше користен Пирсоновиот корелациски коефициент, додека за варијабли кај кои не се регистрира нормална распределба или се ординален карактер, беше применет Спирманов ранг корелациски коефициент. Јачината на корелацијата беше интерпретирана според вредноста на коефициентот (слаба, умерена или силна поврзаност).

Со цел да се идентификуваат независните предиктори на клиничкиот и радиолошкиот исход, беше спроведена мултипна линеарна регресиска анализа. Во регресискиот модел како зависни варијабли беа вклучени клиничкиот и CBCT скорот, додека како независни варијабли беа внесени воспалителните и оксидативните биохемиски параметри. Пред имплементацијата на регресискиот модел беше проверена мултиколинеарноста помеѓу независните варијабли, како и исполнетоста на претпоставките за линеарност, хомоскедастичност и нормална распределба на резидуалите. Квалитетот на моделот беше оценет преку коефициентот на детерминација (R^2) и статистичката значајност на поединечните регресиски коефициенти.

Нивото на статистичка значајност беше поставено на $p < 0,05$, со 95% интервал на доверба. Сите резултати се прикажани дескриптивно, табеларно и графички, во согласност со типот на податоците и природата на статистичката анализа.

5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

5.1. Тежина на стаорци

Телесната тежина беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група). Дескриптивната анализа покажа дека средната вредност на телесната тежина се движеше од 269,0 g до 323,0 g, со вкупна средна вредност од 299,94 ± 36,88 g (Табела 3). Проверката на дистрибуцијата на вредностите, извршена со Колмогоров-Смирновите (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Вилковите тестови, покажа дека нема статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една група ($p > 0,05$) (Табела 4 и Графикон 1). Хомогеноста на варијансите беше потврдена со Левенов тест ($F = 0,596$; $p = 0,731$), што укажува на еднаквост на варијансите помеѓу групите (Табела 5).

Резултатите од анализата на варијансата (ANOVA) не покажаа статистички значајна разлика во телесната тежина помеѓу групите, $F(6, 28) = 1,195$; $p = 0,338$ (Табела 6 и Графикон 2). Дополнителната пост-хок анализа со Такиевиот ХСД тест потврди дека не постојат статистички значајни разлики помеѓу ниту еден пар групи ($p > 0,05$) (Табела 7). Овие резултати укажуваат дека, иако се забележуваат нумерички разлики во средните вредности, варијабилноста внатре во групите е поголема од варијабилноста помеѓу групите, поради што припадноста на стаорците во одредена група не претставува статистички значаен фактор во однос на телесната тежина во испитуваниот примерок.

Табела 3. Дескриптивна статистичка анализа на тежината на стаорците во сите испитувани групи

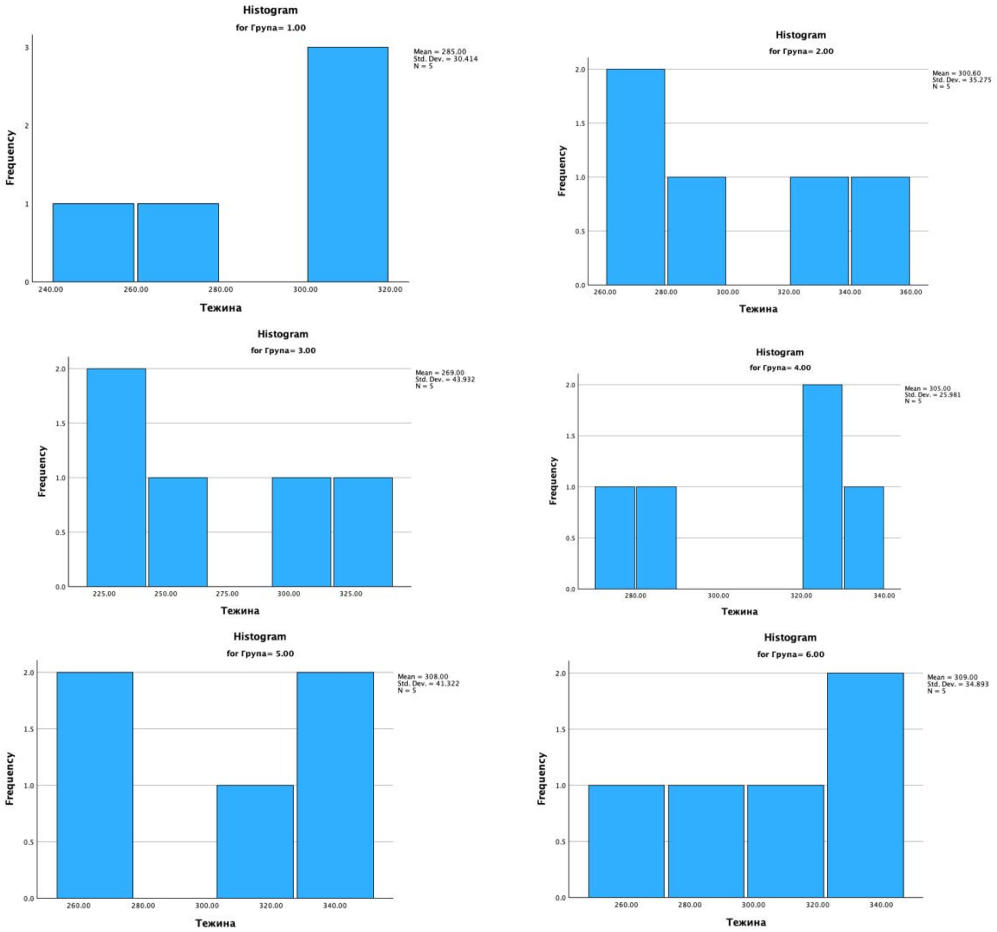
Група	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1,00	5	285,00	30,41	13,60	247,24	322,76	245,00	310,00
2,00	5	300,60	35,27	15,78	256,80	344,40	265,00	350,00
3,00	5	269,00	43,93	19,65	214,45	323,55	230,00	330,00
4,00	5	305,00	25,98	11,62	272,74	337,26	270,00	330,00
5,00	5	308,00	41,32	18,48	256,69	359,31	265,00	350,00
6,00	5	309,00	34,89	15,60	265,68	352,33	260,00	345,00

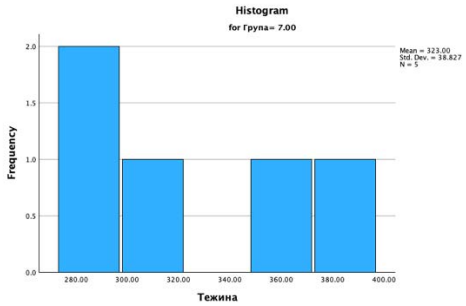
Група	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
7,00	5	323,00	38,83	17,36	274,79	371,21	285,00	375,00
Total	35	299,94	36,88	6,23	287,27	312,61	230,00	375,00

Табела 4. Тест на дистрибуција на вредностите на телесната тежина на стаорците (нормалност)

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група		Statistic	Df.	Sig.	Statistic	Df.	
Тежина	1,00	0,29	5	0,20	0,83	5	0,13
	2,00	0,22	5	0,20	0,93	5	0,61
	3,00	0,27	5	0,20	0,87	5	0,28
	4,00	0,32	5	0,11	0,87	5	0,25
	5,00	0,25	5	0,20	0,84	5	0,17
	6,00	0,21	5	0,20	0,93	5	0,61
	7,00	0,20	5	0,20	0,92	5	0,50

a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс (Lilliefors).

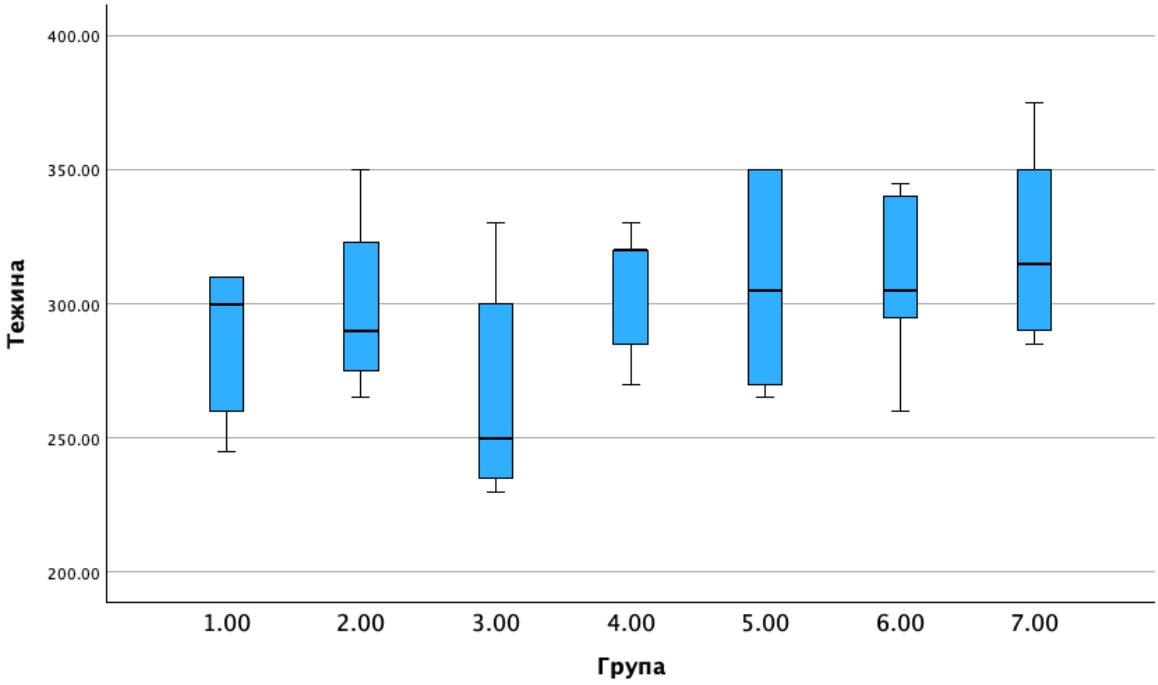




Графикон 1. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на тежина на стаорците во сите испитувани групи

Табела 5. Резултати од тестовите на хомогеност на варијансите за тежината на стаорците во испитуваните групи

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Тежина	Based on Mean	0,60	6	28	0,73
	Based on Median	0,25	6	28	0,96
	Based on Median and with adjusted df	0,25	6	24,48	0,96
	Based on trimmed mean	0,57	6	28	0,75



Графикон 2. Столбест дијаграм на распределбата на тежината кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 6. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за тежината на стаорците во и меѓу испитуваните групи

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9426,69	6	1571,11	1,20	0,34
Within Groups	36827,20	28	1315,26		
Total	46253,89	34			

Табела 7. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на тежината на стаорците

Примарна гр.	Споредувана гр.	Средна разлика	Стандардна грешка	Сигниф.	95% ниво на доверба	
					Долен квартил	Горен квартил
1,00	2,00	-15,60	22,94	0,99	-88,36	57,16
	3,00	16,00	22,94	0,99	-56,76	88,76
	4,00	-20,00	22,94	0,97	-92,76	52,76
	5,00	-23,00	22,94	0,95	-95,76	49,76
	6,00	-24,00	22,94	0,94	-96,76	48,76
	7,00	-38,00	22,94	0,65	-110,76	34,76
2,00	1,00	15,60	22,94	0,99	-57,16	88,36
	3,00	31,60	22,94	0,81	-41,16	104,36
	4,00	-4,40	22,94	1,00	-77,16	68,36
	5,00	-7,40	22,94	1,00	-80,16	65,36
	6,00	-8,40	22,94	1,00	-81,16	64,36
	7,00	-22,40	22,94	0,96	-95,16	50,36
3,00	1,00	-16,00	22,94	0,99	-88,76	56,76
	2,00	-31,60	22,94	0,81	-104,36	41,16
	4,00	-36,00	22,94	0,70	-108,76	36,76
	5,00	-39,00	22,94	0,62	-111,76	33,76
	6,00	-40,00	22,94	0,59	-112,76	32,76
	7,00	-54,00	22,94	0,26	-126,76	18,76
4,00	1,00	20,00	22,94	0,97	-52,76	92,76
	2,00	4,40	22,94	1,00	-68,36	77,16
	3,00	36,00	22,94	0,70	-36,76	108,76
	5,00	-3,00	22,94	1,00	-75,76	69,76
	6,00	-4,00	22,94	1,00	-76,76	68,76
	7,00	-18,00	22,94	0,99	-90,76	54,76
5,00	1,00	23,00	22,94	0,95	-49,76	95,76
	2,00	7,40	22,94	1,00	-65,36	80,16
	3,00	39,00	22,94	0,62	-33,76	111,76
	4,00	3,00	22,94	1,00	-69,76	75,76
	6,00	-1,00	22,94	1,00	-73,76	71,76
	7,00	-15,00	22,94	0,99	-87,76	57,76
6,00	1,00	24,00	22,94	0,94	-48,76	96,76
	2,00	8,40	22,94	1,00	-64,36	81,16

Примарна гр.	Споредувана гр.	Средна разлика	Стандардна грешка	Сигниф.	95% ниво на доверба	
					Долен квартил	Горен квартил
	3,00	40,00	22,94	0,59	-32,76	112,76
	4,00	4,00	22,94	1,00	-68,76	76,76
	5,00	1,00	22,94	1,00	-71,76	73,76
	7,00	-14,00	22,94	1,00	-86,76	58,76
7,00	1,00	38,00	22,94	0,65	-34,76	110,76
	2,00	22,40	22,94	0,96	-50,36	95,16
	3,00	54,00	22,94	0,26	-18,76	126,76
	4,00	18,00	22,94	0,99	-54,76	90,76
	5,00	15,00	22,94	0,99	-57,76	87,76
	6,00	14,00	22,94	1,00	-58,76	86,76

Медикаментозната остеонекроза на вилиците (MRONJ) претставува комплексна патолошка состојба чија етиопатогенеза сè уште не е целосно разјаснета, што ја прави неопходна употребата на валидни и репродуцибилни анимални модели како основа за експериментално истражување. Развојот на анимални модели во изминатите две децении значително придонесе кон разбирање на биолошките механизми на болеста, но истовремено ја отвори и дебатата за нивната вистинска транслациска релевантност. Експериментите со стаорци претставуваат најчесто користена платформа за индукција на MRONJ, иако ниту еден модел не успева целосно да ја реплицира хуманата клиничка слика.

Основната концептуална рамка на класичниот анимален модел се темели на комбинирање на системски ризик-фактор – најчесто администрација на антиресорптивен лек – и локален ризик-фактор, најчесто екстракција на заб. Овој двоен пристап директно ја рефлектира клиничката реалност, каде што MRONJ најчесто се јавува кај пациенти под терапија со бисфосфонати или анти-RANKL лекови, по извршена инвазивна орално-хируршка интервенција. Во овој докторски труд е применет токму ваков класичен модел: системска интраперитонеална апликација на золедронска киселина во доза од 0,66 mg/kg еднаш неделно во текот на седум недели, проследена со екстракција на прв долен молар на 21. ден. Овој протокол во суштина се вклопува во најширокоприфатените методолошки принципи опишани во литературата, каде што золедронатот се смета за најсоодветен индукциски агенс поради неговата

силна клиничка поврзаност со MRONJ и неговиот висок афинитет кон коскеното ткиво. Дополнително, ваков анимален модел е искористен и во едно наше претходно истражување, со што се валидира методологијата. (67)

Изборот на Wistar стаорци на возраст од три месеци и телесна тежина околу 250 g е во согласност со повеќето публикации во областа. (481) Предностите на стаорците во однос на глувците вклучуваат поголема телесна маса, полесна хируршка манипулација, подобра толеранција на подолги протоколи и помала варијабилност во зараснувањето. Возраста од околу 12 недели одговара на зрел организам со стабилизиран коскен метаболизам, што овозможува релевантна проценка на нарушувањата во коскеното ремоделирање. Дополнително, користењето на хомоген вид и возраст придонесува кон намалување на биолошката варијабилност и зголемување на интерната валидност на моделот.

Во однос на дозирањето, литературата покажува значајна хетерогеност, со пријавени дози на золедронат што варираат од 0,0075 до 2,25 mg/kg, но постојат и протоколи со повисоки дози или со комбинирана администрација со кортикостероиди како дексаметазон за зголемување на инциденцијата на остеонекроза. (482) Во овој докторски труд е избрана доза од 0,66 mg/kg еднаш неделно, што претставува релативно повисока поединечна експозиција. Овој пристап овозможува акумулација на лекот во коскениот матрикс, што е во согласност со фармакодинамичките карактеристики на золедронатот и неговата долготрајна ретенција во хидроксиапатитот. (184, 186) За разлика од некои модели што вклучуваат дополнителен имуномодулаторен или кортикостероиди, во овој протокол не е применета комбинирана терапија, што овозможува изолирана проценка на ефектот на бисфосфонатот како примарен системски ризик-фактор. Ова ја намалува комплексноста и потенцијалните грешки, иако може да резултира со нешто пониска инциденција во споредба со агресивните комбинирани модели.

Изборот за екстракција на долен прв молар има посебна клиничка релевантност. Иако во многу експериментални студии се преферира максиларен молар поради технички поедноставно изведување, клинички MRONJ почесто се јавува во долната вилица, што се поврзува со поголема кортикална густина и релативно послаба васкуларизација. Оттука, изборот на долен молар ја зголемува транслациската вредност на моделот, иако хируршката процедура е технички посложена и потенцијално потрауматска.

Времетраењето на системската администрација од седум недели и екстракцијата на 21 ден овозможуваат доволна експозиција, што е во согласност со препораките во литературата за максимизирање на лековната акумулација пред локалната траума.

Особено значајна предност на моделот е мултимодалната евалуација. Литературните податоци укажуваат на тоа дека една соодветна проценка на MRONJ треба да опфати макроскопска проценка, хистолошка анализа, радиолошка евалуација и серолошки параметри. Во ова истражување се применува ординална клиничка скала, хистолошка детекција на повеќе од осум празни остеоцитни лакуни како критериум за остеонекроза и присуство на воспаление, 3D CBCT анализа на волуменот на коскена деструкција, како и анализа на инфламаторни цитокини во серум и антиоксидативни ензими. Овој интегриран пристап овозможува не само детекција на макроскопска експонирана коска туку и идентификација на супклинички хистолошки и радиолошки промени, што ја зголемува сензитивноста и специфичноста на моделот.

Во споредба со модифицираните модели опишани во литературата, кои вклучуваат и инфекција (пулпитис, периодонтитис), воспаление индуцирано од жичана лигатура или механички стимули како хипероклузија, овој модел е методолошки поедноставен. Недостатокот на претходна инфекција може да се смета за ограничување во смисла на непотполно реплицирање на тројниот концепт (лек + воспаление + хируршка траума). Од друга страна, тоа овозможува прецизно испитување на улогата на антиресорптивниот лек како доминантен етиолошки фактор, без дополнителни воспалителни варијабли што би ја отежнале интерпретацијата на резултатите.

Критички гледано, како и кај сите анимални модели, постојат одредени ограничувања. Стаорците немаат идентична хистолошка архитектура на коската како луѓето, нивниот коскен метаболизам е побрз, а времетраењето на експериментот е релативно кратко во однос на хроничниот тек на MRONJ кај пациентите. Дополнително, не се инкорпорирани коморбидитети како дијабетес, имуносупресија или онколошка состојба. Сепак, според критериумите наведени во современата литература, класичниот модел на стаорци, со системска администрација на золедронат и екстракција на заб останува златен стандард за експериментално индуцирање MRONJ поради неговата висока повторливост и јасна патофизиолошка логика.

Оттука, може да се заклучи дека анималниот модел применет во ова истражување ги исполнува суштинските критериуми за валиден MRONJ модел: користи клинички релевантен антиресорптивен лек, комбинира системски и локален ризик фактор, применува адекватно времетраење и доза, користи соодветен вид и возраст на животни и обезбедува мултимодална проценка на лезијата. Иако не ја реплицира целосната комплексност на хуманата болест, моделот претставува стабилна, контролирана и научно оправдана експериментална платформа што е соодветна за понатамошни патофизиолошки и терапевтски анализи.

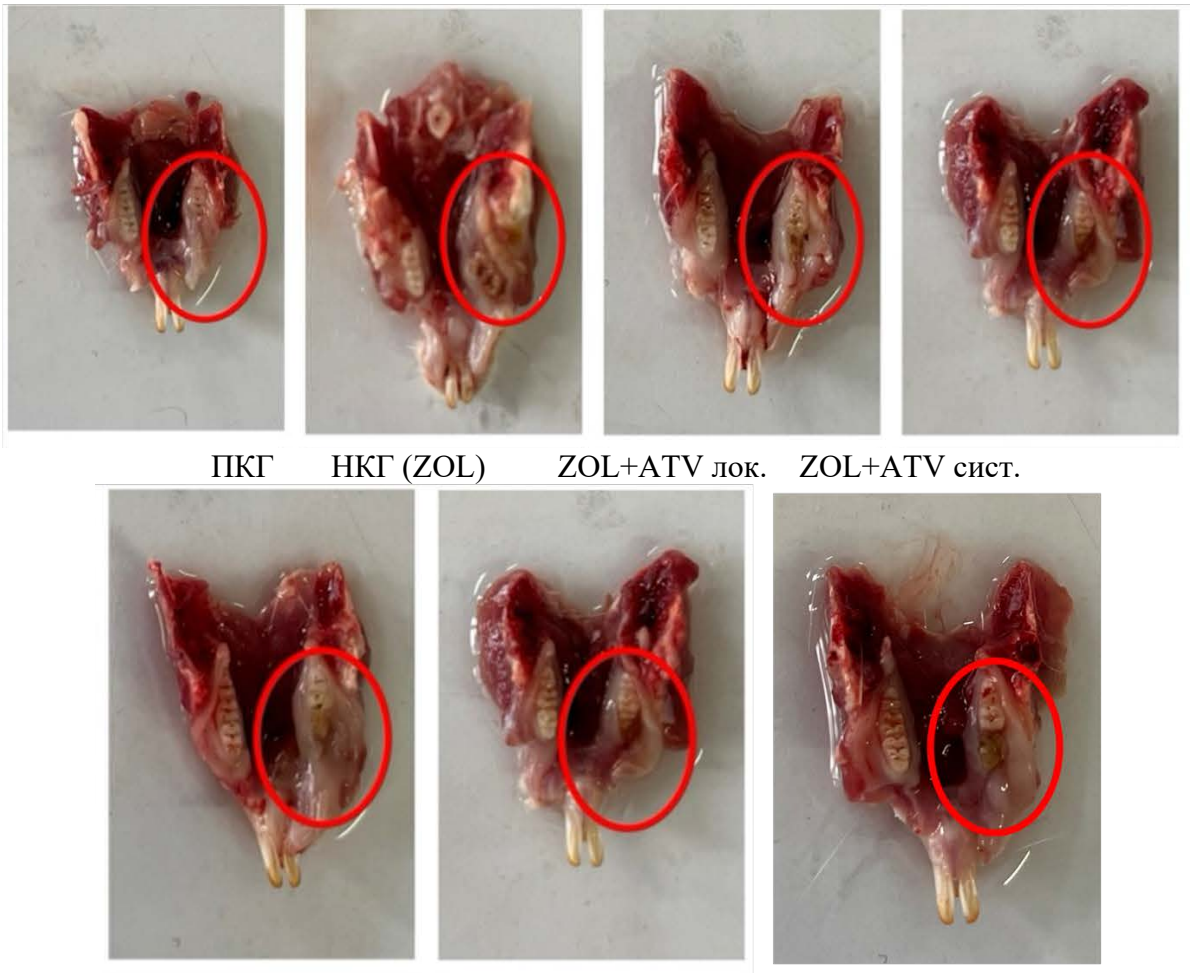
5.2. Клиничка оценка на заздравување на раната и постоење на медикаментозна остеонекроза

Клиничката оценка на заздравување на раната беше анализирана како ординална варијабла (скала 0-3), каде што 0 означува целосно и соодветно зараснување без експонирана некротична коска и без знаци на воспаление или инфекција, додека 3 означува изразено неповолно зараснување со значајна експонирана коска (повеќе од третина од ширината на алвеоларната коска) и присутни силни знаци на воспаление и инфекција (Слика 11 и Табела 8). Со оглед на ординалната природа на податоците и отстапувањето од параметарските претпоставки, беше применет непараметарскиот Крускал-Волисов тест за независни примероци. Анализата покажа статистички значајна разлика во распределбата на клиничките оценки помеѓу групите ($H(5) = 13,029$; $p = 0,023$), што укажува на тоа дека најмалку една група се разликува од другите во однос на степенот на заздравување. Резултатите се прикажани во Табела 9 и 10 и Графикон 3.

Медијанските вредности покажаа најповолна клиничка состојба во ПКГ групата ($Me = 0$), додека НКГ групата имаше најнеповолна клиничка слика ($Me = 3$). Другите експериментални групи имаа медијана од 1, што укажува на задоволително зараснување на постекстракциската рана и минимални знаци на остеонекроза.

Пост-хок анализата со Данов тест (Dunn) покажа повеќе статистички значајни парни разлики. Статистички значајна разлика беше утврдена помеѓу: ПКГ и НКГ ($p = 0,001$), ATV_локал. и НКГ ($p = 0,005$), ATV_систем. и НКГ ($p = 0,012$), ZOL+ATV_локал. и НКГ ($p = 0,012$) и ZOL+ATV_систем. и НКГ ($p = 0,012$). Овие резултати укажуваат дека НКГ групата статистички значајно се разликува од сите други групи, односно покажува значително полош клинички исход. Меѓу другите експериментални групи не

беа утврдени статистички значајни разлики (p > 0,05), што сугерира дека нивниот ефект врз процесот на заздравување е меѓусебно сличен.



Слика 11. Репрезентативни фотографии од клиничката оценка на примероците

Табела 8. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на клиничкото зараснување на раната и постоење на остеонекроза

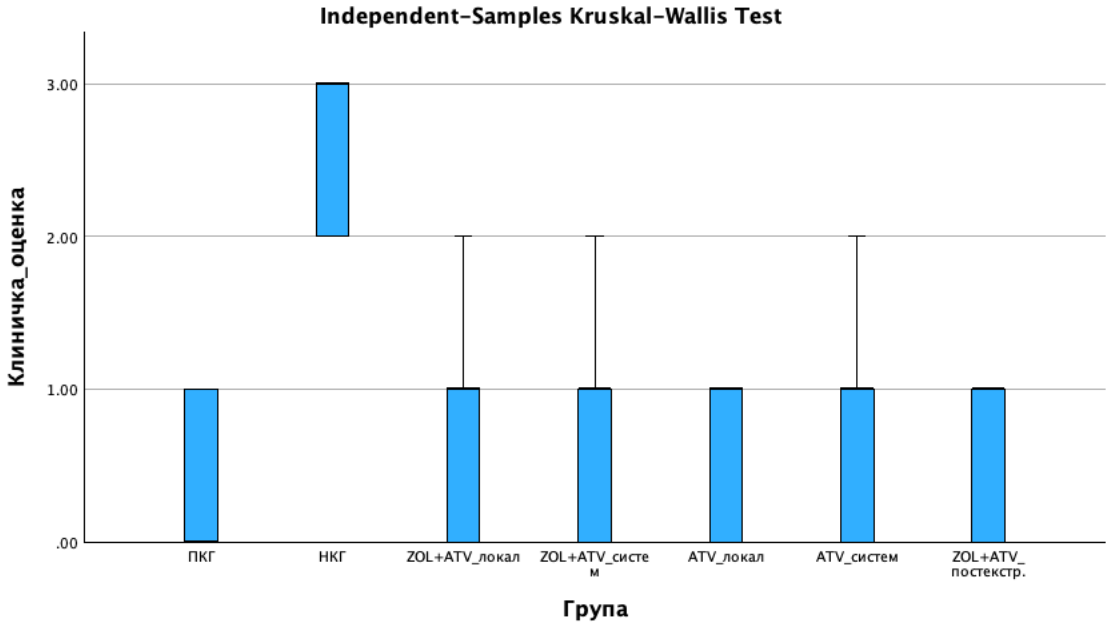
Група	Медијана Клиничка_оценка
ПКГ	0,00
НКГ	3,00
ZOL+ATV_локал.	1,00
ZOL+ATV_систем.	1,00
ATV_локал.	1,00
ATV_систем.	1,00
ZOL+ATV_постекстр.	1,00
Total	1,00

Сумирано, непараметарската анализа укажува дека третманските протоколи доведуваат до значително подобро клиничко заздравување во споредба со негативната контролна група, додека разликите помеѓу активните третмани не се статистички потврдени.

Табела 9. Приказ на резултатот од спроведениот Крускал-Волисов тест за независни параметри во однос на оценките од клиничката анализа на постекстракциската рана

Total N	35
Test Statistic	13,960[a]
Degree Of Freedom	6
Asymptotic Sig.(2-sided test)	0,030

a. Тестот е приспособен за еднакви вредности



Графикон 3. Столбест дијаграм за приказ на вредностите на клиничката оценка на зараснување на постекстракциската рана во сите испитувани групи

Табела 10. Последователна анализа на разликите во вредностите на клиничкото зараснување на постекстракциската рана меѓу групите (Данов пост-хок тест)

Споредени групи	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.
ПКГ-ATV_локал	-2,700	6,086	-0,444	0,657
ПКГ-ZOL+ATV_постекстр.	-2,700	6,086	-0,444	0,657
ПКГ-ZOL+ATV_локал	-4,600	6,086	-0,756	0,450
ПКГ-ZOL+ATV_систем	-4,600	6,086	-0,756	0,450
ПКГ-ATV_систем	-4,600	6,086	-0,756	0,450
ПКГ-НКГ	-20,000	6,086	-3,286	0,001
ZOL+ATV_постекстр.-ZOL+ATV_локал	1,900	6,086	0,312	0,755

Споредени групи	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.
ZOL+ATV_постекстр.-НКГ	17,300	6,086	2,843	0,004
ATV_локал-ZOL+ATV_постекстр.	0,000	6,086	0,000	1,000
ATV_локал-ATV_систем	-1,900	6,086	-0,312	0,755
ATV_локал-НКГ	17,300	6,086	2,843	0,004
ZOL+ATV_постекстр.-ZOL+ATV_систем	1,900	6,086	0,312	0,755
ATV_локал-ZOL+ATV_локал	1,900	6,086	0,312	0,755
ATV_локал-ZOL+ATV_систем	1,900	6,086	0,312	0,755
ZOL+ATV_постекстр.-ATV_систем	1,900	6,086	0,312	0,755
ZOL+ATV_локал-ATV_систем	0,000	6,086	0,000	1,000
ZOL+ATV_систем-ATV_систем	0,000	6,086	0,000	1,000
ZOL+ATV_локал-ZOL+ATV_систем	0,000	6,086	0,000	1,000
ZOL+ATV_локал-НКГ	15,400	6,086	2,530	0,011
ATV_систем-НКГ	15,400	6,086	2,530	0,011
ZOL+ATV_систем-НКГ	15,400	6,086	2,530	0,011

Секој ред во табелата го прикажува тестирањето на нултата хипотеза дека дистрибуцијата меѓу двете испитувани вредности е иста. Прикажан е двостран тест. Нивото на сигнификантна разлика е 0,05.

5.3. Патохистолошка анализа

5.3.1. Присуство на остеонекроза

Анализата на поврзаноста помеѓу појавата на медикаментозна остеонекроза (Остеонекроза_ПХ) и припадноста кон одредена група покажа статистички значајна асоцијација, што укажува дека ризикот за развој на остеонекроза значајно варира во зависност од режимот на третман што е спроведен. Вкрстената анализа на табелите покажува јасна дистрибуција на појавата на остеонекроза: во ПКГ, ATV_локал. и ATV_систем. не беше регистрирана појава на остеонекроза (0%), додека во НКГ појавата беше 100% (5/5 случаи). Во рамките на комбинираните ZOL+ATV групи се забележува интермедијарна фреквенција: ZOL+ATV_локал. има 40% појава (2/5), ZOL+ATV_систем. 20% (1/5), додека ZOL+ATV_постекстр. има највисока фреквенција од 60% (3/5) (Слика 12).

Пирсоновиот χ^2 тест беше статистички значаен ($\chi^2(6) = 20,152$; $p = 0,003$), а тестот на соодносите на веројатноста исто така покажа висока значајност ($p < 0,001$). Затоа што

100% од ќелиите имаат очекувани фреквенции помали од 5 (минимална очекувана вредност = 1,57), најрелевантен е Фишер-Фримен-Халтоновиот тест (Fisher-Freeman-Halton exact test), кој потврди статистички значајна асоцијација (p = 0,001), што укажува на тоа дека распределбата на остеонекрозата не е независна од групата во која припаѓаат стаорците. Линеарната асоцијација не беше статистички значајна (p = 0,590), што сугерира на тоа дека разликите не следат едноставен линеарен тренд, туку се структурно поврзани со специфичниот терапевтски режим. Резултатите се прикажани во Табела 11 и 12 и Графикон 4, 5 и 6.

Во однос на ZOL+ATV групите, резултатите укажуваат на варијабилен протективен ефект на ATV во присуство на ZOL. Најизразена редукција на ризикот се забележува кај ZOL+ATV_систем. (20%), следена од ZOL+ATV_локал. (40%), додека постекстракцискиот режим во последната испитувана група (60%) покажува значително повисока фреквенција. Овој образец укажува дека системската и локалната комбинирана апликација имаат потенцијално поголем модифицирачки ефект врз патогенезата на остеонекрозата во споредба со одложената постекстракциска интервенција. Сумирано, иако присуството на ZOL останува доминантен ризик-фактор во однос на контролните групи без ZOL (0%), комбинираната терапија со ATV значајно го намалува ризикот во однос на НКГ (100%), при што степенот на заштита зависи од начинот и времето на апликација.

Табела 11. Анализа на вкрстени табели во однос на присуството или отсуството на патохистолошки потврдена остеонекроза

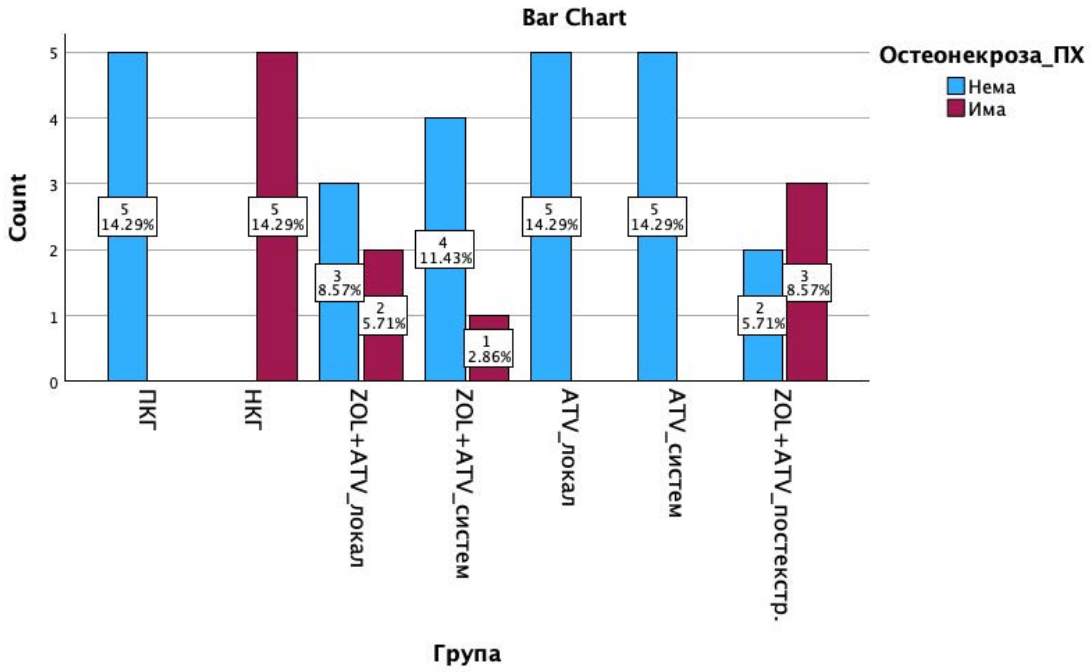
			Група							
			ПКГ	НКГ	ZOL+ATV_локал.	ZOL+ATV_систем.	ATV_локал.	ATV_систем.	ZOL+ATV_постекстр.	Total
НЕКРОЗА	Нема	Count	5	0	3	4	5	5	2	24
		% within Група	100%	0%	60%	80%	100%	100%	40%	68%
	Има	Count	0	5	2	1	0	0	3	11
		% within Група	0%	100%	40%	20%	0%	0%	60%	31%
Total		Count	5	5	5	5	5	5	5	35
		% within Група	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Табела 12. Резултати од Хи-квадрат тестот во однос на хистолошки потврдена остеонекроза меѓу испитуваните групи

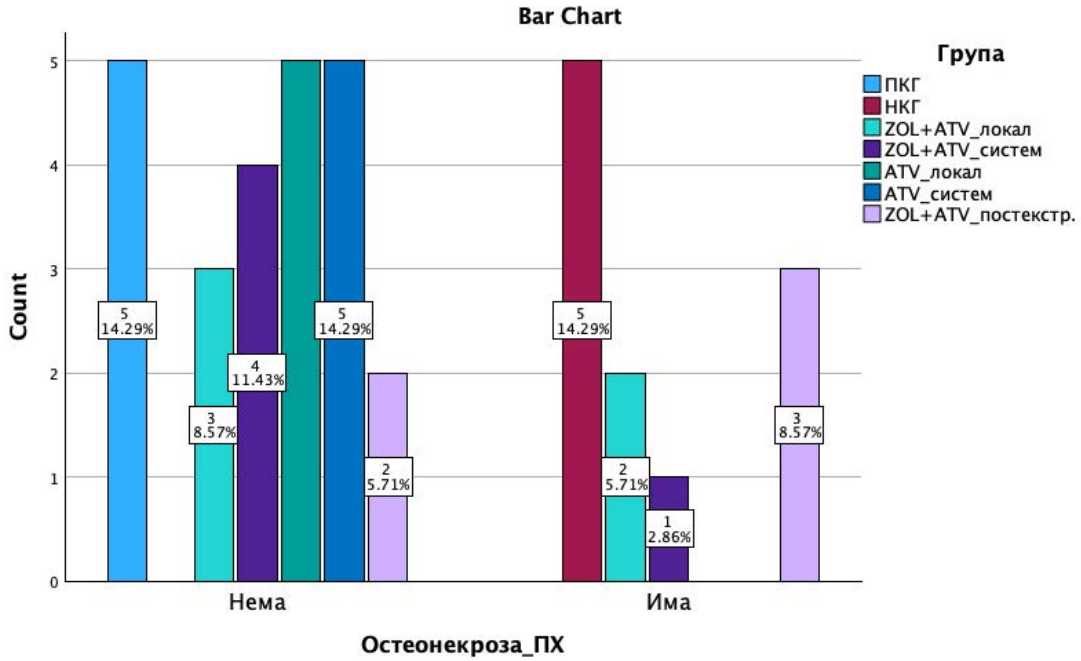
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	20,15[a]	6	0,00	0,00		
Likelihood Ratio	25,11	6	< 0,00	0,00		
Fisher-Freeman-Halton Exact Test	17,74			0,00		
Linear-by-Linear Association	0,29[b]	1	0,59	0,66	0,33	0,06
N of Valid Cases	35					

а. 14 ќелии (100,00%) имаат очекувана вредност помала од 5. Минималната очекувана вредност е 1,57.

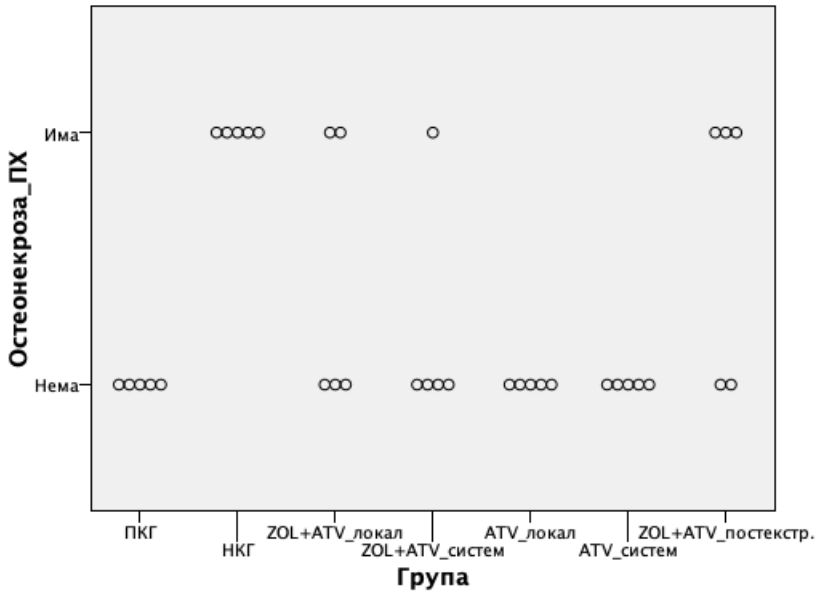
б. Стандардизираната статистичка вредност е -0,54.
Статистички сигнификантна вредност < 0,05.



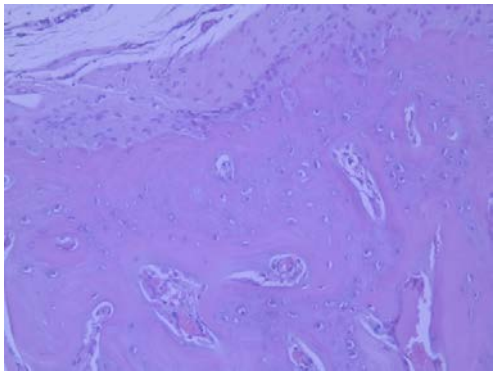
Графикон 4. Столбест дијаграми на распределбата на фреквенциите на присуството и отсуството на хистолошки потврдена остеонекроза во сите испитувани групи



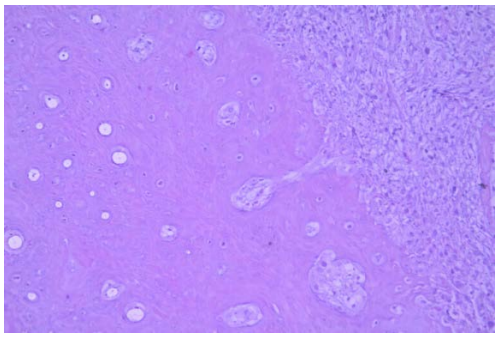
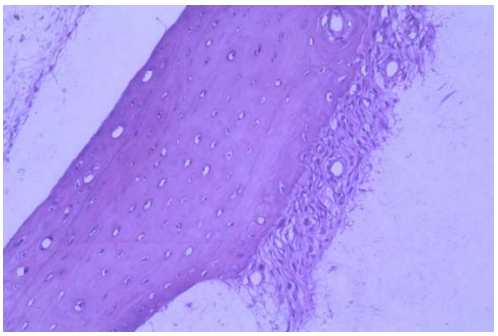
Графикон 5. Столбест дијаграм на распределбата на фреквенциите на присуството и отсуството на хистолошки потврдена остеонекроза во сите испитувани групи



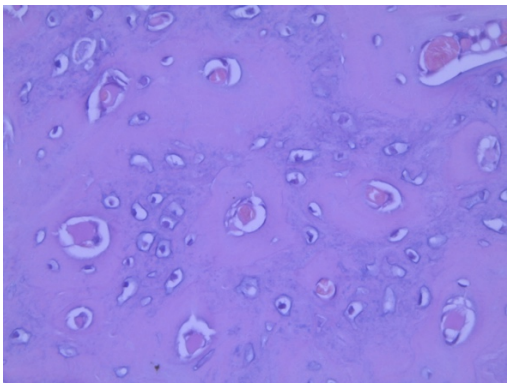
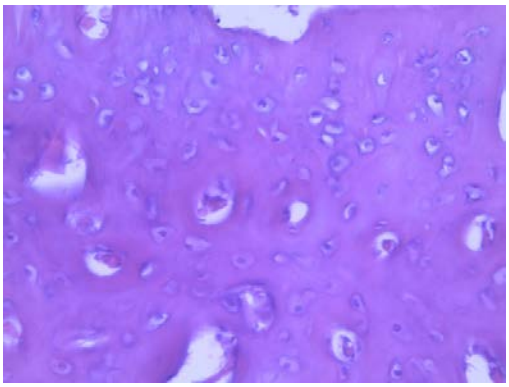
Графикон 6. Дијаграм со расејување на распределбата на фреквенциите на присуството и отсуството на хистолошки потврдена остеонекроза во сите испитувани групи



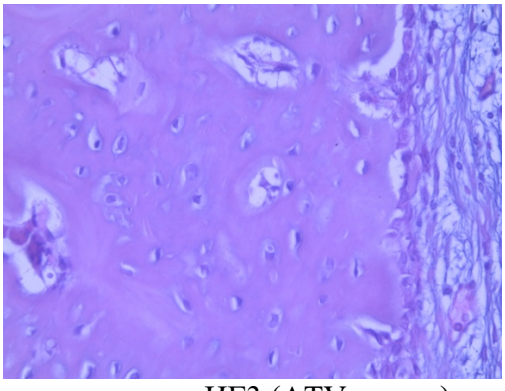
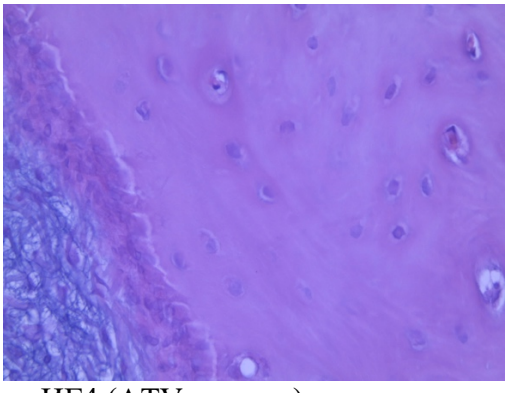
ПКГ (позитивна контролна група)

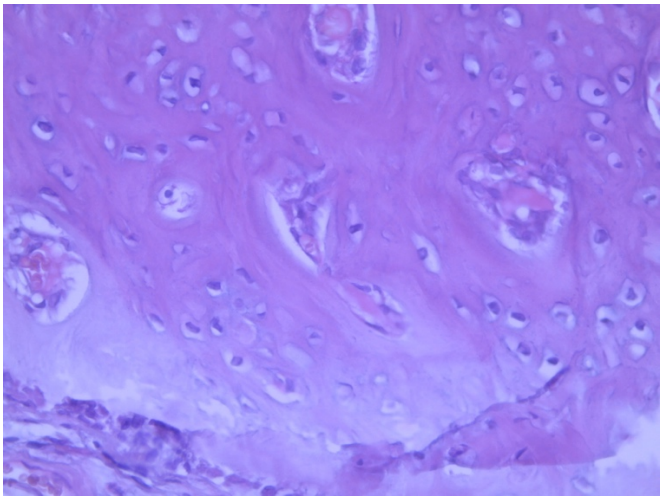
НКГ (ZOL)

ИГ1 (ZOL+ATV локал.) ИГ2 (ZOL+ATV систем.)

ИГ3 (ATV локал.) ИГ4 (ATV систем.)



ИГ5 (ZOL+ATV постекстр.)

Слика 12. Микрофотографии од патохистолошката анализа по групи

5.3.2. Степен на воспаление

Анализата на разликите во воспалението забележано на патохистолошките препарати (Воспаление_ПХ) помеѓу експерименталните групи беше спроведена со непараметарски тестови, со оглед на ординалната природа на варијаблата. Тестот на независните примероци прикажан преку медијаната покажа статистички значајна разлика во медијаните помеѓу групите ($p = 0,013$), при што нултата хипотеза беше отфрлена. Дополнително, Крускал-Волисовиот тест покажа статистички високозначајна разлика во распределбата на воспалението помеѓу групите ($H = 18,346$; $df = 6$; $p = 0,005$), што укажува дека најмалку една група статистички се разликува од другите. Парните споредби покажуваат дека најизразени разлики се јавуваат во однос на НКГ. Имено, ATV_локал. и ATV_систем. имаат статистички значајно пониско воспаление во споредба со НКГ ($p < 0,001$ за двете споредби), што укажува на изразен протективен ефект на ATV во однос на воспалителниот одговор потврден со патохистолошка анализа. Исто така, ПКГ покажува значајно пониско воспаление во однос на НКГ ($p = 0,003$). Во рамките на ZOL-комбинираните групи, ZOL+ATV_систем. ($p = 0,013$) и ZOL+ATV_локал. ($p = 0,024$) имаат статистички значајно пониско воспаление во споредба со НКГ, додека разликата помеѓу ZOL+ATV_постекстр и НКГ не достигнува статистичка значајност ($p = 0,082$), што сугерира дека постекстракцискиот режим има помал протективен ефект. Меѓу другите групи не се утврдени статистички значајни разлики ($p > 0,05$), што укажува дека

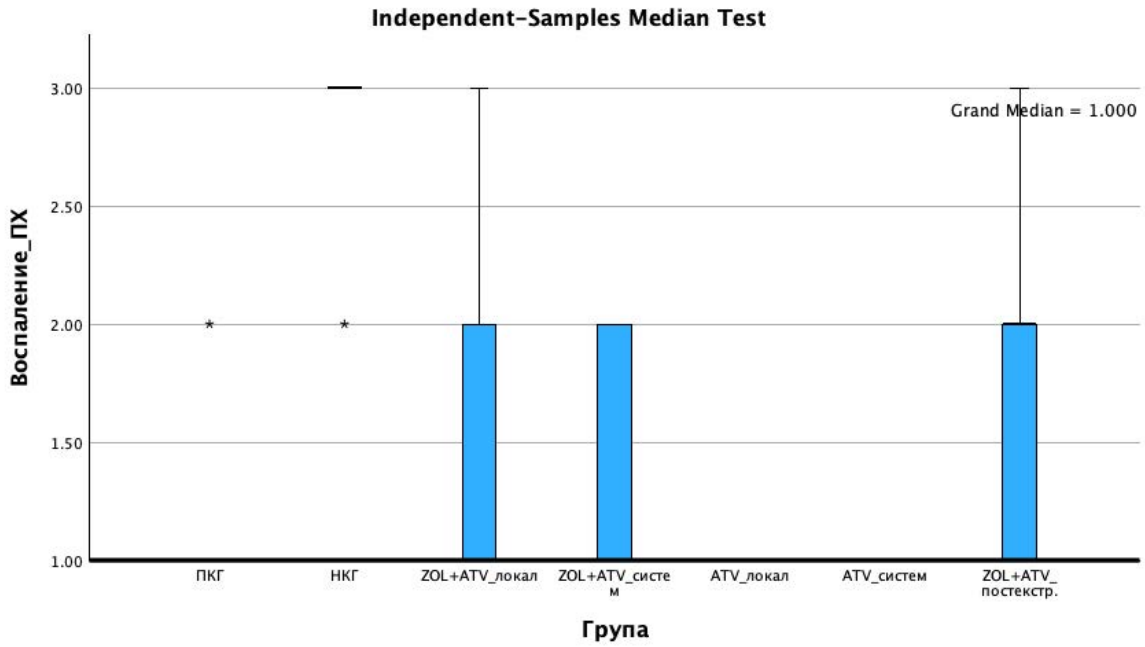
распределбата на воспалението е слична помеѓу ATV-базираните режими и дел од комбинираните ZOL+ATV групи. Особено е значајно што не се детектирани разлики помеѓу ATV_локал. и ATV_систем. (p = 1,000), што укажува на споредлив антиинфламаторен ефект на двата начина на апликација. Во рамките на ZOL-комбинираните групи, не се утврдени значајни меѓусебни разлики, што сугерира дека модификацијата на воспалението во присуство на ZOL е ограничена и нецелосна. Резултатите се прикажани во Табела 13 и 14 и Графикон 7 и 8.

Сумирано, резултатите укажуваат дека патохистолошки анализираното воспаление значајно варира помеѓу групите, при што НКГ има најнеповолен воспалителен профил. ATV терапијата, и самостојно и во комбинација со ZOL, е поврзана со значајна редукција на воспалителниот одговор во однос на негативната контрола, но степенот на редукција е најизразен кај самостојната ATV апликација, додека постекстракцискиот комбиниран режим покажува најограничен ефект.

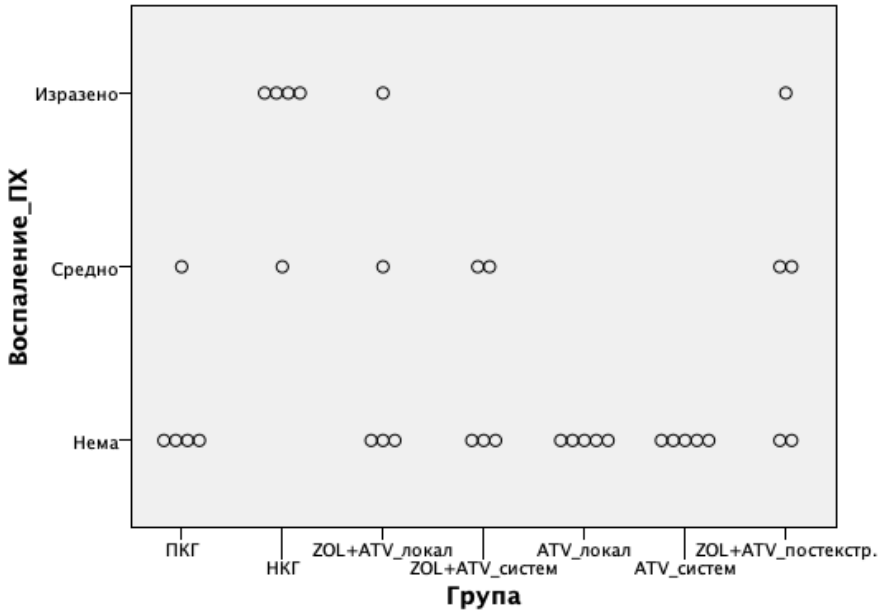
Табела 13. Резултат од спроведениот Крускал-Волисов тест за патохистолошкиот степен на воспаление во испитуваните групи

Total N	35
Test Statistic	18,35[a]
Degree Of Freedom	6
Asymptotic Sig.(2-sided test)	0,01

a. Тестот е приспособен за еднаквите вредности.



Графикон 7. Столбест дијаграм за приказ на распределбата на оценките за тежината на воспалението со патохистолошка група во испитуваните групи



Графикон 8. Дијаграм со расејување за приказ на распределбата на оценките за тежината на воспалението со патохистолошка група во испитуваните групи

Табела 14. Парни (вкрстени) пост-хок споредби на вредностите на тежината на воспалението со патохистолошка анализа меѓу испитуваните групи

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.
ATV_систем.-ZOL+ATV_постекстр.	-10,00	5,57	-1,80	0,07
ATV_локал.-ATV_систем.	0,00	5,57	0,00	1,00
ATV_локал.-ПКГ	2,90	5,57	0,52	0,60
ATV_локал.-ZOL+ATV_постекстр.	-10,00	5,57	-1,80	0,07
ATV_систем.-ПКГ	2,90	5.57	0,52	0,60
ATV_систем.-ZOL+ATV_систем.	5,80	5,57	1,04	0,30
ATV_локал.-ZOL+ATV_систем.	5,80	5,57	1,04	0,30
ATV_систем.-ZOL+ATV_локал.	7,10	5,57	1,27	0,20
ATV_локал.-НКГ	19,70	5,57	3,54	< 0,00
ATV_систем.-НКГ	19,70	5,57	3,54	< 0,00
ATV_локал.-ZOL+ATV_локал.	7,10	5,57	1,27	0,20
ПКГ-ZOL+ATV_систем.	-2,90	5,57	-0,52	0,60
ПКГ-ZOL+ATV_локал.	-4,20	5,57	-0,75	0,45
ПКГ-ZOL+ATV_постекстр.	-7,10	5,57	-1,27	0,20
ПКГ-НКГ	-16,80	5,57	-3,02	0,00
ZOL+ATV_систем.-ZOL+ATV_локал.	1,30	5,57	0,23	0,82
ZOL+ATV_систем.-ZOL+ATV_постекстр.	-4,20	5,57	-0,75	0,45

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.
ZOL+ATV_систем.-НКГ	13,90	5,57	2,50	0,01
ZOL+ATV_локал.-ZOL+ATV_постекстр.	-2,90	5,57	-0,52	0,60
ZOL+ATV_локал.-НКГ	12,60	5,57	2,26	0,02
ZOL+ATV_постекстр.-НКГ	9,70	5,57	1,74	0,08

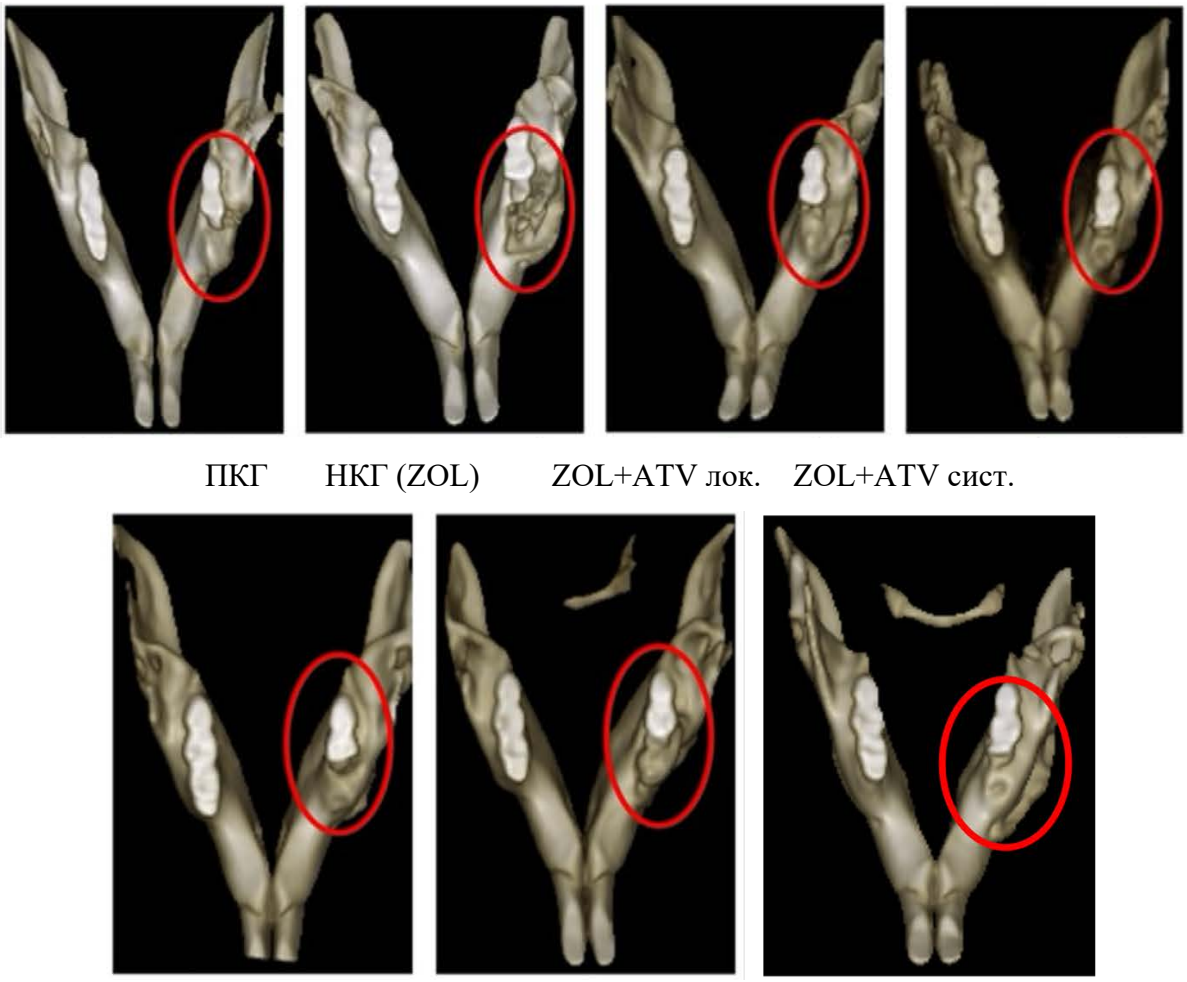
Секој ред во табелата го прикажува тестирањето на нултата хипотеза дека дистрибуцијата меѓу двете испитувани вредности е иста. Прикажан е двостран тест. Нивото на сигнификантна разлика е 0,05.

5.4. Тридимензионална компјутерска томографија со конусен зрак (CBCT)

Квантификацијата на коскените промени беше извршена врз основа на волуменот на коскена деструкција/некротична коска во однос на вкупниот волумен на алвеоларната коска, при што степенувањето беше направено на ординална скала од 1 до 3. Вредност 1 означува коскена деструкција помала од третина од вкупниот волумен, 2 означува зафатеност до две третини, а 3 означува деструкција поголема од две третини до целосно вестибуло-орално или мезио-дистално растојание.

Со оглед на ординалната природа на податоците, беше применет непараметарскиот Крускал-Волисов тест за споредба на повеќе независни групи. Анализата покажа високостатистички значајна разлика во распределбата на CBCT оценките помеѓу групите ($H(6) = 23,600$; $p < 0,001$), што укажува на постоење на значајни разлики во степенот на коскена деструкција кај најмалку една од групите. Резултатите се прикажани во Табела 15 и 16 и Графикон 9.

Медијанските вредности покажаа дека ПКГ и сите терапевтски групи (ZOL+ATV локал, ZOL+ATV_систем., ATV_локал., ATV_систем. и ZOL+ATV_постекстракциско) имаат медијана од 1, што укажува на минимален степен на коскена деструкција. Наспроти тоа, НКГ групата има медијана од 3, што означува изразена и обемна коскена деструкција (Слика 13). Пост-хок анализата со Дановиот тест покажа дека НКГ групата статистички значајно се разликува од повеќето други групи. Статистички значајни разлики беа утврдени помеѓу: ПКГ и НКГ ($p < 0,001$); ZOL+ATV_систем. и НКГ ($p < 0,001$); ATV_локал. и НКГ ($p < 0,001$); ATV_систем. и НКГ ($p < 0,001$); ZOL+ATV_локал. и НКГ ($p = 0,013$); ZOL+ATV_постекстр. и НКГ ($p = 0,013$)



Слика 13. Репрезентативни фотографии од спроведената анализа на коскената морфологија и деструкција со CBCT

Меѓу другите групи не беа утврдени статистички значајни разлики ($p > 0,05$), што укажува дека нивниот степен на коскена деструкција е меѓусебно сличен и значително поповолен во однос на негативната контролна група.

Сумирано, резултатите од тридимензионалната компјутерска томографија покажуваат дека негативната контролна група има значително поголем степен на коскена деструкција во споредба со сите терапевтски групи и позитивната контролна група. Ова укажува дека применетите терапевтски протоколи се поврзани со значително намалување на волуменот на коскена деструкција, односно со поповолен морфолошки исход на заздравувањето.

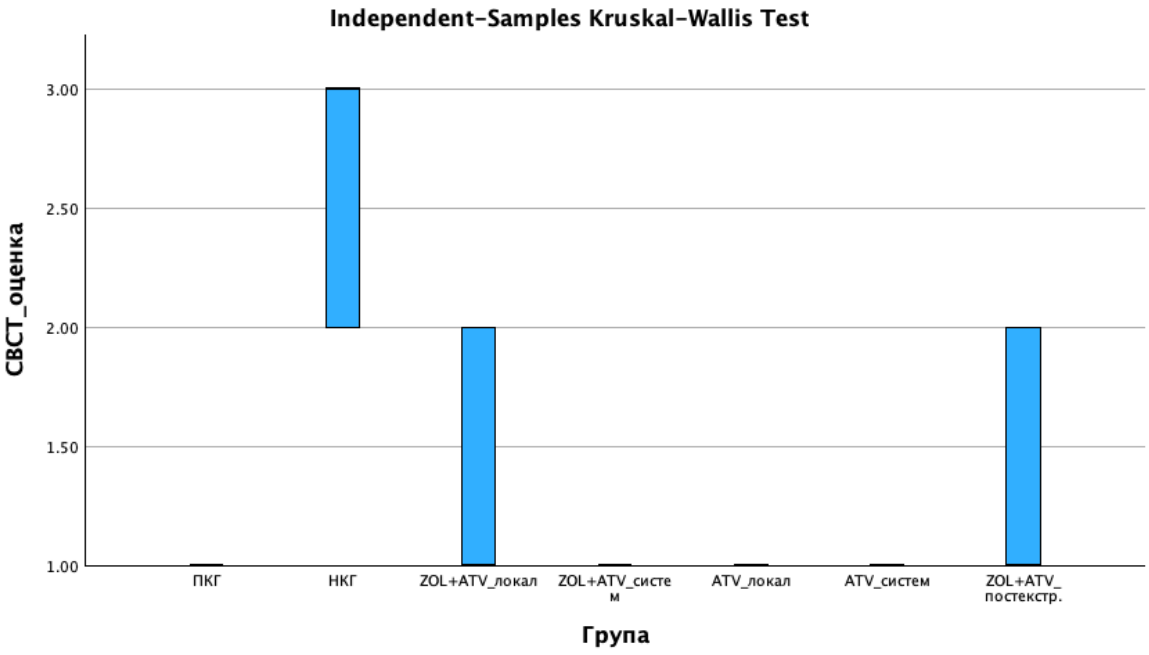
Табела 15. Дескриптивна анализа на степенот на коскена деструкција нотиран со CBCT

	Median
Група	CBCT_оценка
ПКГ	1,00
НКГ	3,00
ZOL+ATV_локал.	1,00
ZOL+ATV_систем.	1,00
ATV_локал.	1,00
ATV_систем.	1,00
ZOL+ATV_постекстр.	1,00
Total	1,00

Табела 16. Резултати од Крускал-Волисовиот тест за степенот на коскена деструкција постекстракциско детектирана со CBCT

Total N	35
Test Statistic	23,60[a]
Degree Of Freedom	6
Asymptotic Sig.(2-sided test)	< 0,00

a. Тестот е приспособен за еднаквите вредности.



Графикон 9. Столбест дијаграм за приказ на распределбата на оценките за коскената деструкција забележана со CBCT во испитуваните групи

Табела 17. Парни (вкрстени) пост-хок споредби на вредностите на коскената деструкција забележана со CBCT меѓу испитуваните групи

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.
ПКГ-ZOL+ATV_систем.	0,00	4,96	0,00	1,00
ПКГ-ATV_локал.	0,00	4,96	0,00	1,00
ПКГ-ATV_систем.	0,00	4,96	0,00	1,00
ПКГ-ZOL+ATV_локал.	-6,40	4,96	-1,29	0,20
ПКГ-ZOL+ATV_постекстр.	-6,40	4,96	-1,29	0,20
ПКГ-НКГ	-18,70	4,96	-3,77	< 0,00
ATV_локал.-ZOL+ATV_постекстр.	-6,40	4,96	-1,29	0,20
ZOL+ATV_систем.-НКГ	18,70	4,96	3,77	< 0,00
ATV_локал.-НКГ	18,70	4,96	3,77	< 0,00
ATV_систем.-ZOL+ATV_постекстр.	-6,40	4,96	-1,29	0,20
ATV_систем.-НКГ	18,70	4,96	3,77	< 0,00
ZOL+ATV_систем.-ZOL+ATV_локал.	6,40	4,96	1,29	0,20
ATV_локал.-ZOL+ATV_локал.	6,40	4,96	1,29	0,20
ATV_систем.-ZOL+ATV_локал.	6,40	4,96	1,29	0,20
ATV_локал.-ATV_систем.	0,00	4,96	0,00	1,00
ZOL+ATV_систем.-ATV_локал.	0,00	4,96	0,00	1,00
ZOL+ATV_систем.-ATV_систем.	0,00	4,96	0,00	1,00
ZOL+ATV_систем.-ZOL+ATV_постекстр.	-6,40	4,96	-1,29	0,20
ZOL+ATV_локал.-ZOL+ATV_постекстр.	0,00	4,96	0,00	1,00
ZOL+ATV_локал.-НКГ	12,30	4,96	2,48	0,01
ZOL+ATV_постекстр.-НКГ	12,30	4,96	2,48	0,01

Секој ред во табелата го прикажува тестирањето на нултата хипотеза дека дистрибуцијата меѓу двете испитувани вредности е иста. Прикажан е двостран тест. Нивото на сигнификантна разлика е 0,05.

5.5. Корелација меѓу клиничкото зараснување на раната, патохистолошката анализа и CBCT

Спроведената корелациска анализа со Спирманов коефициент (rho), со оглед на ординалната природа на варијаблите, покажа статистички значајна позитивна поврзаност помеѓу клиничката оценка и CBCT оценката ($\rho = 0,420$; $p = 0,012$; $N = 35$). Добиената вредност укажува на умерена позитивна корелација, односно повисоките вредности на клиничката оценка (што означуваат понеповолно клиничко заздравување) се поврзани со повисоки вредности на CBCT оценката (поголем волумен

на коскена деструкција). Статистичката значајност на ниво $p < 0,05$ укажува дека постои реална асоцијација помеѓу клиничките и радиолошките параметри, а не случајна варијација во примерокот.

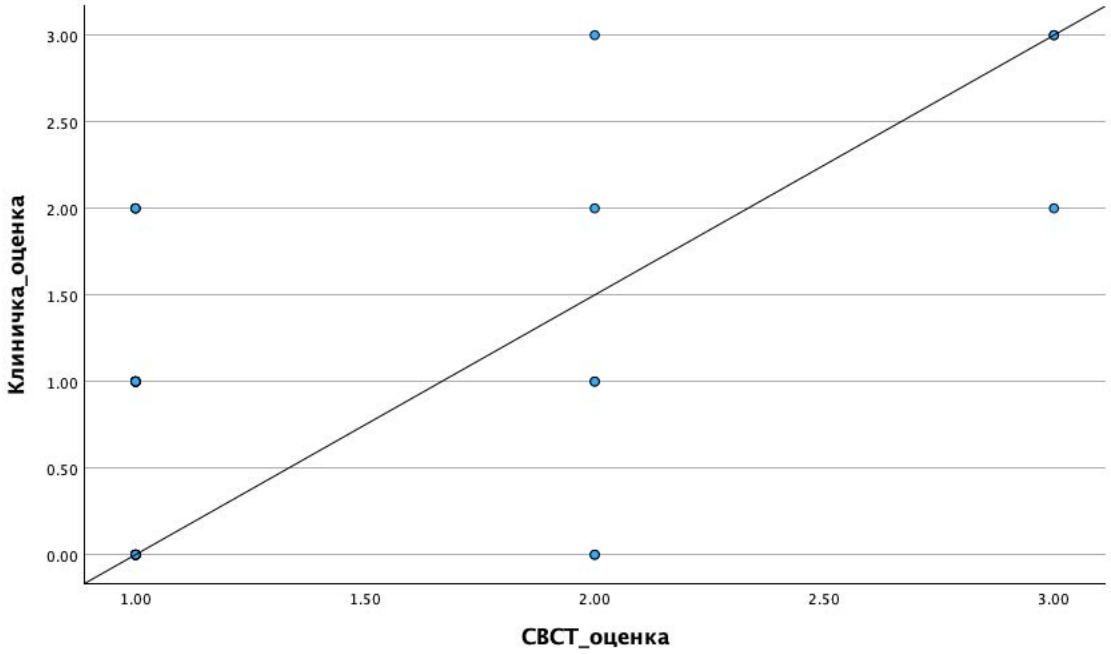
Иако корелацијата е умерена по јачина, нејзината насока и значајност имаат клиничка и дијагностичка релевантност, бидејќи укажуваат на тоа дека субјективната клиничка проценка на заздравувањето кореспондира со објективните тридимензионални радиолошки наоди. Вредноста на коефициентот ($p = 0,420$) сугерира дека клиничките параметри делумно ја рефлектираат морфолошката состојба на коскеното ткиво, но истовремено укажува дека постојат и дополнителни фактори што влијаат врз радиолошката слика, а не се целосно опфатени со клиничката проценка (Табела 17 и Графикон 10).

Сумирано, добиената статистички значајна умерена позитивна корелација ја потврдува конзистентноста помеѓу клиничките и CBCT наодите и укажува дека клиничката оценка може да се смета за релевантен, но не и целосно доволен индикатор за степенот на коскена деструкција, што ја нагласува важноста на комбиниран клинички-радиолошки пристап во проценката на состојбата.

Табела 17. Резултати од спроведена анализа на корелација меѓу клиничката оценка и CBCT

			Клиничка_оценка	CBCT_оценка
Spearman's rho	Клиничка_оценка	Correlation Coefficient	1,00	0,42*
		Sig. (2-tailed)	.	0,01
		N	35	35
	CBCT_оценка	Correlation Coefficient	0,42*	1,00
		Sig. (2-tailed)	0,01	.
		N	35	35

* Корелацијата е статистички значајна за ниво на коефициентот помало од 0,05.



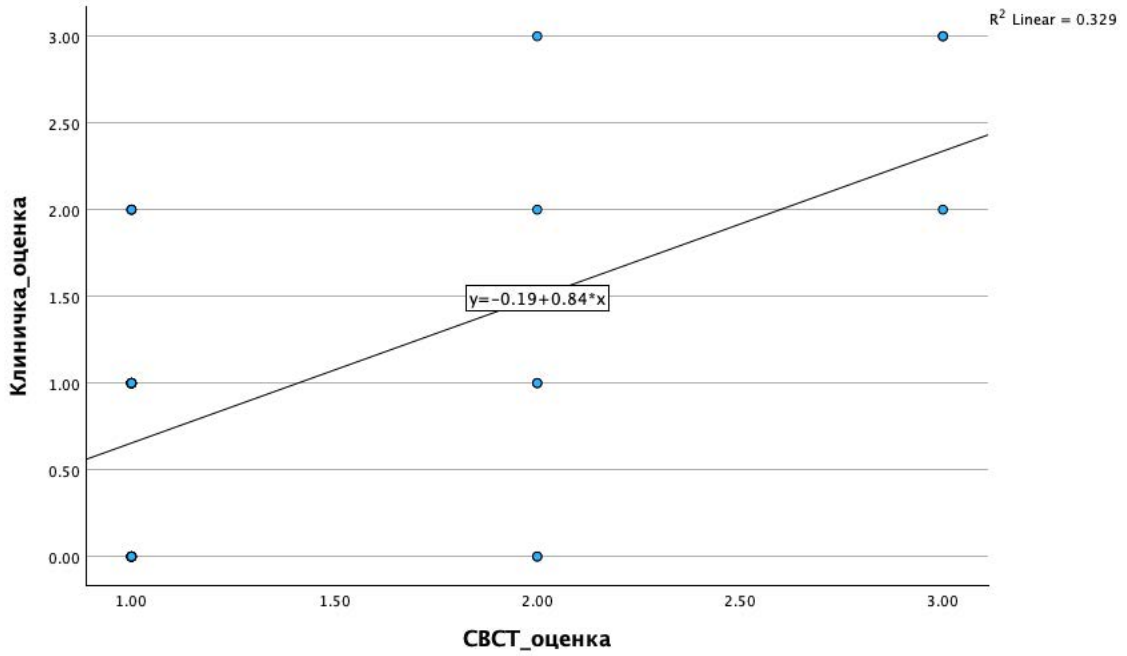
Графикон 10. Приказ на резултатот од анализата на корелацијата меѓу клиничката оценка и CBCT

Во однос на корелацијата меѓу клиничката и патохистолошката слика за присуство на остеонекроза, тестот покажа позитивна, но статистички незначајна поврзаност помеѓу клиничката оценка и патохистолошки потврдената остеонекроза ($\rho = 0{,}302$; $p = 0{,}078$; $N = 35$). Вредноста на коефициентот укажува на слаба до умерена позитивна асоцијација, односно повисоките клинички оценки (понеповолен клинички тек) имаат тенденција да бидат поврзани со присуство на остеонекроза, но оваа поврзаност не достигнува конвенционално ниво на статистичка значајност ($p < 0{,}05$) (Табела 18 и Графикон 11). Отсуството на статистичка значајност сугерира дека, во рамките на испитуваниот примерок, клиничката проценка не може со доволна сигурност да ја предвиди патохистолошката потврда на остеонекроза. Овој наод укажува дека клиничките манифестации и хистопатолошките промени не се целосно конгруентни и дека супклинички или рани морфолошки промени можат да постојат без изразена клиничка експресија.

Сумирано, иако постои тенденција кон позитивна поврзаност помеѓу клиничката тежина и патохистолошкиот наод, добиените резултати не обезбедуваат доволно статистички докази за силна или сигурна корелација, што ја нагласува потребата од комбиниран клиничко-патохистолошки пристап при проценката на состојбата.

Табела 18. Резултати од спроведена анализа на корелација меѓу клиничката оценка и патохистолошки потврдената остеонекроза

			Клиничка_оценка	Остеонекроза_ПХ
Spearman's rho	Клиничка_оценка	Correlation Coefficient	1,000	0,302
		Sig. (2-tailed)	.	0,078
		N	35	35
	Остеонекроза_ПХ	Correlation Coefficient	0,302	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,078	.
		N	35	35



Графикон 11. Приказ на резултатот од анализата на корелацијата меѓу клиничката оценка и патохистолошката анализа

Понатаму, анализата на корелацијата покажа статистички високозначајна и умерено до силна позитивна поврзаност помеѓу радиолошката оценка (CBCT) и патохистолошки потврдената остеонекроза ($p = 0,606$; $p < 0,001$; $N = 35$). Вредноста на коефициентот укажува дека повисоките CBCT оценки, кои рефлектираат поголем степен на коскена деструкција, се значајно поврзани со присуство на патохистолошки верифицирана остеонекроза (Табела 19 и Графикон 12). Статистичката значајност на ниво $p < 0,001$ укажува дека веројатноста оваа асоцијација да биде резултат на случајност е исклучително мала, со што се потврдува стабилноста и конзистентноста на наодот. Јачината на корелацијата ($p = 0,606$) укажува на клинички релевантна поврзаност, при што радиолошките промени детектирани со CBCT имаат значајна корелација со

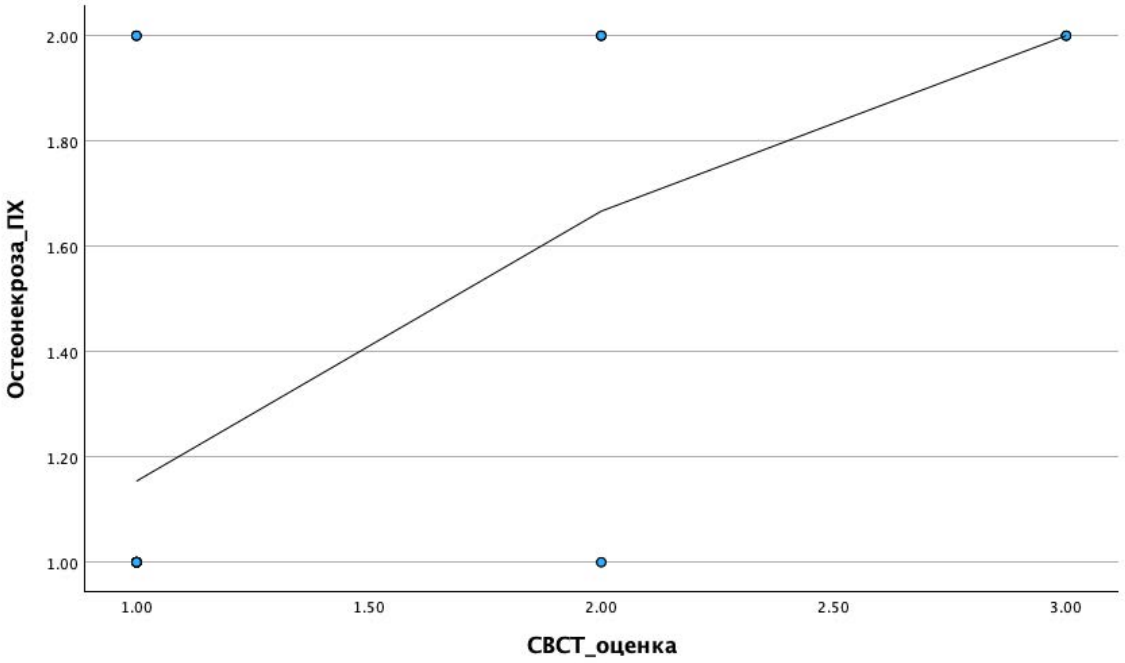
морфолошките промени потврдени хистопатолошки. Овој наод сугерира дека CBCT оценката претставува валиден и релевантен индикатор за структурна коскена зафатеност и има добра дијагностичка конгруентност со патохистолошкиот наод.

Сумирано, добиената умерено до силна и статистички високозначајна позитивна корелација потврдува дека радиолошката проценка преку CBCT е во значителна мера усогласена со патохистолошката верификација на остеонекрозата, што ја нагласува нејзината дијагностичка вредност во проценката на степенот на коскена деструкција и присуството на некротични промени.

Табела 19. Резултати од спроведена анализа на корелација меѓу CBCT и патохистолошки потврдената остеонекроза

			CBCT_оценка	Остеонекроза_ПХ
Spearman's rho	CBCT_оценка	Correlation Coefficient	1,000	0,606***
		Sig. (2-tailed)	.	< 0,001
		N	35	35
	Остеонекроза_ПХ	Correlation Coefficient	0,606***	1,000
		Sig. (2-tailed)	< 0,001	.
		N	35	35

***. Корелацијата е статистички значајна на ниво од 0,001 (двонасочно тестирање).



Графикон 12. Приказ на резултатот од анализата на корелацијата меѓу CBCT и патохистолошката анализа

Одредувањето на стадиумот на MRONJ според обновените насоки на AAOMS од 2022 г. се базира на јасно дефинирани критериуми: присуство на експонирана/некротична коска или фистула што комуницира со коска, присуство или отсуство на инфекција и воспаление, како и степенот на екстензија на лезијата. Оваа класификација ги разграничува асимптоматските случаи без воспаление (стадиум 1), симптоматските случаи со инфекција (стадиум 2) и напреднатите форми со проширена деструкција и компликации (стадиум 3), додека стадиумот 0 ги опфаќа неспецифичните клиничко-радиолошки наоди без експонирана коска. (144) Во оваа докторска теза, клиничката евалуација на MRONJ во животинскиот модел е концептуално усогласена со овие принципи, бидејќи се темели на истите основни параметри: степен на заздравување на постекстракциската рана, присуство и обем на експонирана некротична коска и присуство на воспаление/инфекција. Овие параметри се операционализирани во ординална скала 0-3, приспособена на AAOMS класификацијата, што овозможува градуирање на тежината на клиничката слика во експериментален контекст. Оттука, клиничката методологија во оваа докторска теза не само што е усогласена со меѓународно прифатеното одредување на стадиумот на MRONJ туку претставува и негов соодветен и робустен превод во базичен анимален модел.

Резултатите од истражувањето во овој докторски труд покажуваат дека негативната контролна група третирана со золедронска киселина развива клинички, хистолошки и радиолошки карактеристики конзистентни со медикаментозна остеонекроза. Клиничката медијана од 3 во НКГ групата укажува на изразена експонирана некротична коска и присутна воспалителна реакција, додека позитивната контролна група (Me = 0) демонстрира физиолошко зараснување. Статистички значајната разлика помеѓу НКГ и сите третмански групи, потврдена со Крускал-Волисова и Данова анализа, укажува дека апликацијата на аторвастатин, без разлика дали е локална или системска, значајно го подобрува клиничкиот исход. Хистопатолошката анализа дополнително ја потврдува оваа тенденција преку редукција на бројот на празни остеоцитни лакуни, намалување на степенот на коскена некроза и редукција на воспалителниот инфилтрат во третманските групи.

Во студијата на de Sousa et al. е искористен експериментален модел на MRONJ кај Wistar стаорци со системска апликација на золедронска киселина и екстракција на молар во горната вилица, при што аторвастатинот се администрира орално, преку

гаважа, превентивно и постоперативно. (478) Нивните резултати покажуваат значајно зголемување на бројот на витални остеоцити и намалување на каспаза-3 позитивните клетки, што укажува на редукција на апоптозата. Особено значајно е нивното молекуларно истражување на Wnt сигналната патека, со зголемена експресија на Wnt10b и β-катенин и редукција на DKK1, што ја поддржува тезата дека аторвастатинот има директен анаболен ефект врз коскеното ткиво. За разлика од овој докторски труд, кој се сосредоточува на клиничко-хистолошки и биохемиски параметри, студијата на de Sousa вклучува и имунохистохемиска и Раманова спектроскопска анализа (Raman), што овозможува подлабока карактеризација на минералниот матрикс и кристалинитетот на коската. Од друга страна, Adachi et al. развиваат MRONJ модел со комбинирана апликација на золедронат и дексаметазон, со локална инјекција на флувастатин во екстракциската рана. (479) Овој модел симулира клиничка ситуација кај пациенти кои примаат и кортикостероиди, што претставува дополнителен ризик фактор. Нивните резултати покажуваат дека високата доза на флувастатин значајно го намалува обемот на некротична коска, ја подобрува епителната континуитет и го зголемува BV/TV на μ-CT анализа. За разлика од de Sousa et al., кои применуваат системска терапија, Adachi et al. применуваат локален фармаколошки пристап со еднократна апликација, што може да има директна клиничка импликација. Методолошките разлики помеѓу овие истражувања и нашето истражување се значајни. Во овој докторски труд се користи дизајн со седум групи, со комбинација на локална и системска апликација на аторвастатин, што овозможува споредба на фармакокинетичкиот ефект на различните начини на апликација. De Sousa et al. применуваат временски разграничен превентивен и постоперативен протокол, додека Adachi et al. применуваат еднократна локална апликација. Дополнително, дозирањето на золедронската киселина варира, како и времетраењето на експериментот и видот на екстракцијата (молар во горна и долна вилица), што може да влијае врз локалната васкуларизација и коскената густина. Биолошки, резултатите од сите три студии се конвергентни во заклучокот дека статините ја намалуваат инциденцијата и тежината на медикаментозната остеонекроза преку мултимодален механизам: намалување на воспалението, заштита на остеоцитната виталност, стимулирање на остеобластната активност и подобрување на ангиогенезата. De Sousa et al. демонстрираат директна молекуларна активација на Wnt патеката, додека Adachi акцентот го стават на клиничко-хистоморфометриски параметри и μ-CT анализа. Нашето истражување е во согласност со наодите од овие истражување и додава

дополнителна вредност преку вклучување на системски инфламаторни и оксидативни маркери, што ја проширува патофизиолошката интерпретација.

Во овој докторски труд, хистолошката детекција на зголемен број празни остеоцитни лакуни во негативната контролна група ја потврдува апоптотската и некротичната компонента на патогенезата на MRONJ. Иако директна имунохистохемиска анализа на каспаза-3 не беше изведена, намалувањето на клиничката и хистолошката тежина во третманските групи индиректно укажува на редукција на апоптозните процеси. Овој наод е во согласност со резултатите на de Sousa et al., кои покажуваат значајно намалување на каспаза-3 позитивните клетки по системска администрација на аторвастатин. Нивните резултати дополнително демонстрираат активација на Wnt/β-катенин патеката, со зголемена експресија на Wnt10b и β-катенин и редукција на DKK1, што укажува на директен анаболен стимул врз остеобластите. Оттука, аторвастатинот може да дејствува не само антиинфламаторно туку и како молекуларен модулатор на коскената формација, што ја објаснува зголемената виталност на остеоцитите и подобрената минерална композиција детектирана со Raman спектроскопија во посочената студија.

Критички гледано, анималните модели не ја рефлектираат целосно хроничноста и коморбидитетите кај хуманата популација. Дозите на лековите се релативно високи во однос на клиничките еквиваленти, а времетраењето на следење е ограничено. Дополнително, недостигаат долгорочни податоци за стабилноста на новоформираната коска. Како и да е, интегралната анализа укажува дека аторвастатинот има значаен потенцијал како адјувантна терапија во превенција или модификација на MRONJ. Разликите во дизајнот, дозирањето и начинот на апликација влијаат врз специфичните исходи, но основниот биолошки ефект е конзистентен. Овие наоди отвораат можност за транслациска примена, особено во контекст на локална апликација при екстракции кај пациенти под бисфосфонатна терапија, но секако се потребни дополнителни студии за дефинитивна верификација.

Употребата на компјутерската томографија со конусен зрак (CBCT) во експерименталните модели на MRONJ претставува методолошки важен чекор кон објективизација и квантификација на коскените промени што се развиваат по антиресорптивна експозиција и хируршката траума. Во рамките на анималните модели, каде што класичната клиничка дефиниција на MRONJ кај човек (експонирана коска ≥ 8

недели) не може директно да се примени, валидноста на моделот се потпира на конвергенција на клинички, хистолошки и радиолошки индикатори. Во таа смисла, CBCT обезбедува тридимензионална визуализација на кортикалната и трабекуларната архитектура, со можност за проценка на степенот на коскена деструкција, секвестрација, склеротични промени и нарушување на анатомските граници, што ја прави релевантна алатка за морфолошка верификација на MRONJ.
Во оваа докторска теза, CBCT е интегрирана како постмортем 3Д-евалуација на екстирпираните мандибули, со фокус на регијата на екстракциската рана и квантификација на промените преку односот на волумен на коскена деструкција/некротична коска во однос на волумен на здрава коска, степенувано на ординална скала од 1 до 3. Овој пристап претставува методолошко решение на добро документираниот проблем со варијабилноста на дензитометриските вредности кај CBCT. Во литературата е нагласено дека вредностите на HU кај CBCT не се апсолутно стандардизирани и зависат од позицијата на објектот, од геометријата на зракот и од експозициските параметри, што може да резултира со различни вредности на една иста структура во различни делови од скенираниот регион. (483) Оттука, употребата на ординална, волуметриска категоризација наместо апсолутни дензитометриски бројки ја зголемува релевантноста на споредбите меѓу групите и ја намалува опасноста од лажни резултати.

Резултатите добиени во оваа докторска теза покажуваат статистички значајна разлика во CBCT оценката помеѓу групите (Kruskal-Wallis $H(6) = 23{,}600$; $p < 0{,}001$), при што негативната контролна група има медијана 3, односно најизразена коскена деструкција, додека позитивната контрола и другите групи имаат медијана 1. Овој јасен радиолошки градиент е во конзистентна корелација со клиничките и хистолошките параметри: клиничката оценка на заздравување покажува најнеповолна состојба токму во негативната контрола (Me = 3), наспроти Me = 0 во позитивната контрола и Me = 1 во другите групи, со статистички значајни разлики главно во однос на негативната контролна група. Дополнително, патохистолошката анализа покажува 100% присуство на остеонекроза во негативната контролна група и 0% во позитивната контрола и во групите без золедронска експозиција, со значајна асоцијација меѓу групата и присуството на остеонекроза ($\chi^2(6) = 20{,}152$; $p = 0{,}003$; Fisher-Freeman-Halton $p = 0{,}001$). Ваквата триангулација – клиничка, хистолошка и радиолошка – ја засилува

конструктивната валидност на моделот и укажува дека CBCT наодите не претставуваат изолирана морфолошка варијација, туку се одраз на реална некротична патологија. Во една студија посветена на евалуација на примената на CBCT кај анимални модели на MRONJ, се потенцира дека CBCT има висока чувствителност за детекција на рани и суптилни промени кај MRONJ, вклучително остеосклероза, задебелување на lamina dura, нарушување на трабекуларниот образец, кортикална ерозија и секвестрација, како и дека обезбедува подобра просторна дефиниција во споредба со конвенционалната радиографија. (484) Истовремено, се укажува на значајна варијабилност во протоколите и параметрите на снимање меѓу различни студии, што ја ограничува директната споредливост на резултатите. Овој аспект е особено релевантен во анималните модели, каде што малите анатомски димензии и различните параметри можат да влијаат врз интерпретацијата. Во оваа докторска теза, стандардизацијата е постигната преку фиксирана анатомска регија на интерес (екстракциската рана на долниот прв молар), постмортем позиционирање на примероците и унифициран апарат и протокол на снимање, што ја минимизира техничката варијабилност и овозможува репродуцибилни споредби меѓу групите. Анализата во овој труд е направена во согласност со претходно посочената студија. (484)

Во однос на корелацијата со другите параметри, CBCT наодите се конзистентни со клиничката слика: групата со највисока CBCT оценка е истата група со најнеповолен клинички исход на зараснување, што ја поддржува валидноста на радиолошката проценка како структурен корелат на клиничката тежина. Истовремено, CBCT оценката е во согласност со патохистолошката дистрибуција на остеонекроза, каде што негативната контрола покажува универзално присуство на остеонекроза, додека во другите групи таа е отсутна или интермедијарна, што сугерира дека кога хистолошката некроза е масивна и широкораспространета, тоа се преведува во мерлива волуметриска деструкција на CBCT, а кога некрозата е ограничена, CBCT може да остане во пониски категории на скалата. Оваа појава не е методолошки недостаток, туку очекувана последица од различната сензитивност на методите: хистологијата детектира микронекротични полиња според клеточни критериуми (> 8 празни лакуни), додека CBCT дава увид кога некрозата и воспалителната остеолиза достигнуваат праг што се манифестира како мерлив волуменски дефект и архитектонско нарушување.

Во однос на интерпретацијата на ефектот на аторвастатин преку CBCT, резултатите сугерираат дека во присуство на золедронат, различните режими со аторвастатин се асоцирани со значајно намалување на радиолошката коскена деструкција во споредба со негативната контрола, односно се приближуваат кон морфолошки профил сличен на позитивната контрола. Ова треба да се сфати како силен сигнал дека аторвастатинот ја модифицира макроструктурната компонента на MRONJ (обем и волумен на деструкција), но не нужно ја елиминира секоја ткивна некроза, што е особено важно, бидејќи хистолошки може да постојат интермедијарни фокуси на некроза дури и кога CBCT резултатот е во најниската категорија. Овој аспект на пониска CBCT деструкција во присуство на преостаната хистолошка некроза е всушност научно корисен, бидејќи имплицира дека аторвастатин може да има изразен ефект врз воспалително-остеолитичната и ремоделирачката динамика што ја генерира обемната архитектонска деструкција, додека микроскопските промени можат да бидат поотпорни или зависни од временскиот прозорец и дозната експозиција.

Во оваа докторска теза, споредбата помеѓу ZOL, ZOL+ATV_локал., ZOL+ATV_систем. и ZOL+ATV_постекстракц. групите покажува дека аторвастатинот дејствува како модификатор на MRONJ, односно дека клиничките, патохистолошките и CBCT знаци се значајно редуцирани токму кога ATV се додава во контекст на ZOL-индуцирани нарушувања. Клинички, ZOL групата е фенотипски најтешка, додека комбинираните ZOL+ATV режими се поместуваат кон значајно поблага клиничка оценка (со статистички значајна разлика меѓу групите и парни разлики каде ZOL има полоши оценки од ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем.). Исто така, хистолошки потврдена остеонекроза е присутна кај сите животни во ZOL групата, а фреквенцијата се редуцира во комбинираните режими (најниска кај ZOL+ATV_систем.), со значајна асоцијација меѓу режимот на аплициран аторвастатин и присуството на некроза.

5.6. TNF-алфа

Концентрацијата на тумор-некротизирачки фактор алфа (TNF-α), како клучен проинфламаторен цитокин и маркер на воспалителен одговор, беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група). Дескриптивната анализа покажа изразени разлики во средните вредности помеѓу групите. Највисока средна концентрација беше регистрирана во негативната контролна група (НКГ: 273,80 ±

25,59), додека најниска во ATV_локал. групата (93,40 ± 10,74). Позитивната контролна група (ПКГ) имаше средна вредност од 107,40 ± 9,02, додека другите терапевтски групи се движеа во интервал од 110,20 до 159,40. Вкупната средна вредност на примерокот изнесуваше 143,03 ± 61,86, што укажува на значителна меѓугрупна варијабилност. Резултатите се прикажани во Табела 20 до 23 и Графикон 13 до 16.

Проверката на нормалноста на распределбата со Колмогоров-Смирновите и Шапиро-Вилковите тестови не покажа статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една од групите ($p > 0,05$), што ја оправдува примената на параметарски методи. Тестот на еднофакторската анализа на варијансата (ANOVA) покажа високостатистички значајна разлика помеѓу групите во однос на концентрацијата на TNF-α, $F(6, 28) = 31,016$; $p < 0,001$. Овој резултат укажува дека припадноста на стаорците во одредена група има значително влијание врз нивото на проинфламаторниот одговор.

Анализата на ефектната големина дополнително ја нагласува јачината на овој ефект. Вредноста на η^2 изнесува 0,869, што значи дека 86,9% од вкупната варијабилност во концентрацијата на TNF-α може да се објасни со припадноста на одредена група. Ова претставува исклучително голем ефект според конвенционалните критериуми за интерпретација. Слично, ε^2 (0,841) и ω^2 за фиксни ефекти (0,837) укажуваат на силна и стабилна поврзаност помеѓу третманот и нивото на TNF-α, додека ω^2 за случајни ефекти (0,462) сугерира умерен до голем ефект при генерализација надвор од конкретниот примерок.

Пост-хок анализата со Такиев ХСД тест покажа дека негативната контролна група има статистички значајно повисоки вредности на TNF-α во споредба со сите други групи ($p < 0,001$), што укажува на изразен воспалителен одговор во отсуство на терапевтска интервенција. Дополнително, ZOL+ATV_локал. групата имаше статистички значајно повисоки вредности во споредба со ПКГ ($p = 0,034$) и ATV_локал. ($p = 0,004$), што укажува дека локалната примена на ATV самостојно доведува до пониски нивоа на TNF-α во споредба со комбинираната терапија во оваа форма. Другите парни споредби не покажаа статистички значајни разлики ($p > 0,05$).

Сумирано, резултатите јасно демонстрираат дека негативната контролна група има значително повисока концентрација на TNF-α, што корелира со поизразен

воспалителен процес. Терапевтските протоколи, особено ATV_локал., се асоцирани со значително намалување на нивото на TNF-α, што укажува на потенцијален антиинфламаторен ефект и подобра биолошка контрола на воспалителниот одговор. Високата ефектна големина дополнително ја потврдува клиничката и биолошката релевантност на овие наоди.

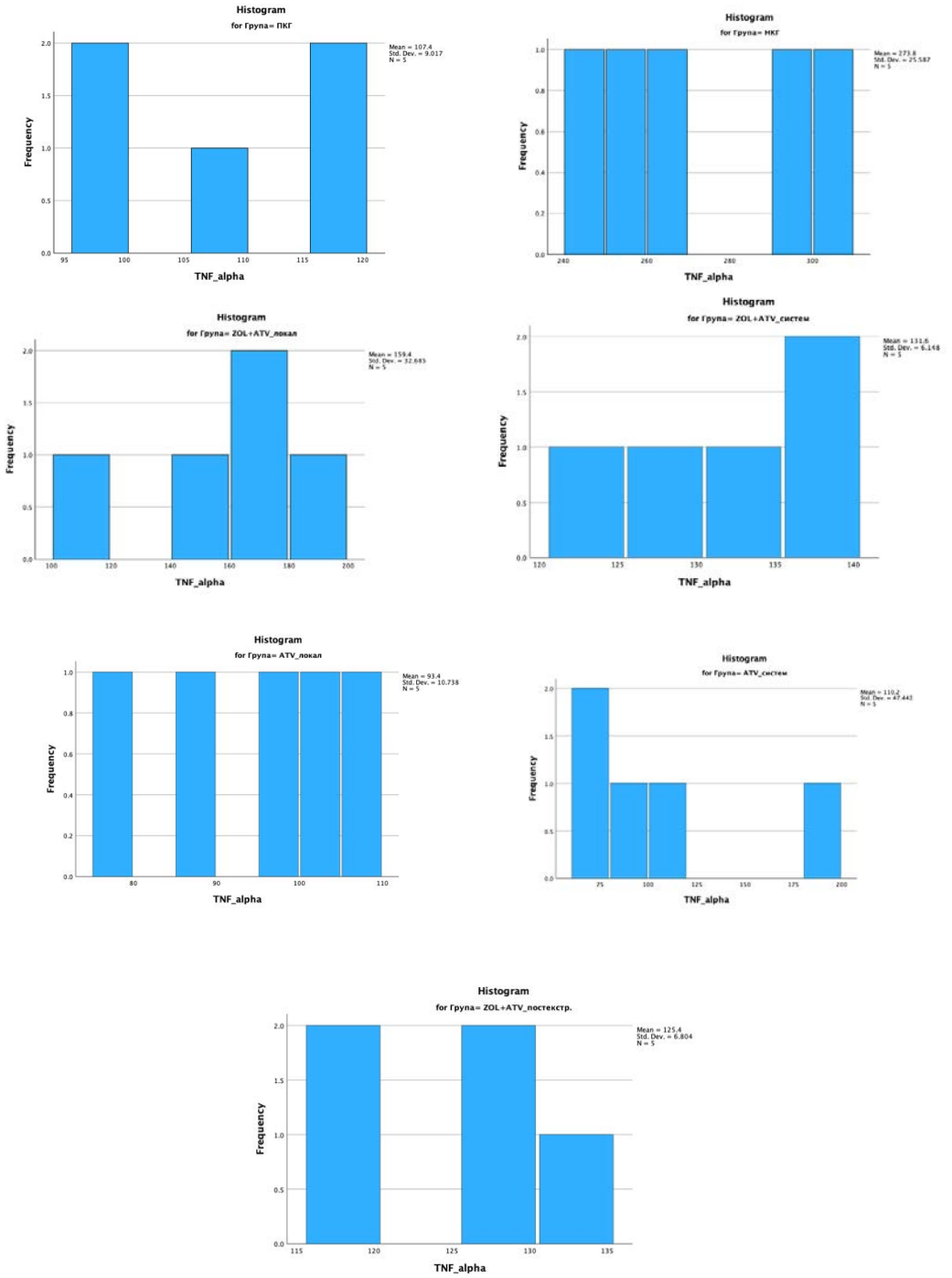
Табела 20. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на TNF-алфа во сите испитувани групи

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ПКГ	5	107,40	9,02	4,03	96,20	118,60	98	117
НКГ	5	273,80	25,59	11,44	242,03	305,57	249	304
ZOL+ATV_локал.	5	159,40	32,69	14,62	118,82	199,98	111	198
ZOL+ATV_систем.	5	131,60	6,15	2,75	123,97	139,23	123	138
ATV_локал.	5	93,40	10,74	4,80	80,07	106,73	78	105
ATV_систем.	5	110,20	47,44	21,22	51,29	169,11	74	191
ZOL+ATV_постекстр.	5	125,40	6,80	3,04	116,95	133,85	118	134
Total	35	143,03	61,86	10,46	121,78	164,28	74	304

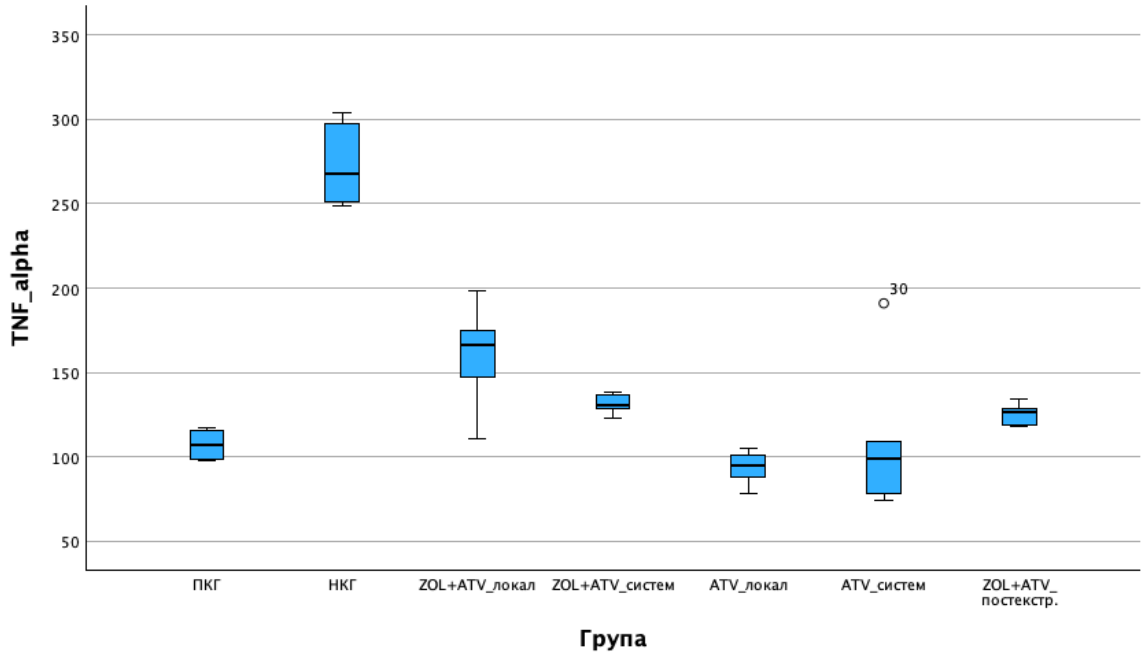
Табела 21. Тест на дистрибуција на вредностите на TNF-алфа кај стаорците (нормалност)

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TNF_alpha	ПКГ	0,23	5	0,20	0,86	5	0,23
	НКГ	0,22	5	0,20	0,87	5	0,26
	ZOL+ATV_локал.	0,18	5	0,20	0,98	5	0,91
	ZOL+ATV_систем.	0,21	5	0,20	0,94	5	0,64
	ATV_локал.	0,16	5	0,20	0,96	5	0,83
	ATV_систем.	0,31	5	0,13	0,81	5	0,09
	ZOL+ATV_постекстр.	0,23	5	0,20	0,92	5	0,53

a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс.



Графикон 13. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на TNF-алфа кај стаорците во сите испитувани групи



Графикон 14. Столбест дијаграм на распределбата на TNF-алфа кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 22. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на TNF-алфа кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	113103,37	6	18850,56	31,02	< 0,00
Within Groups	17017,60	28	607,77		
Total	130120,97	34			

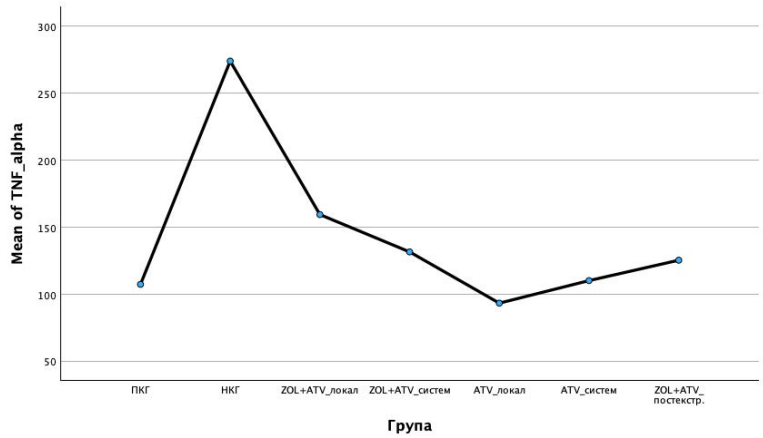
Табела 23. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на TNF-алфа

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Conf. Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ПКГ	НКГ	-166,40*	15,59	< 0,00	-215,86	-116,94
	ZOL+ATV_локал.	-52,00*	15,59	0,03	-101,46	-2,54
	ZOL+ATV_систем.	-24,20	15,59	0,71	-73,66	25,26
	ATV_локал.	14,00	15,59	0,97	-35,46	63,46
	ATV_систем.	-2,80	15,59	1,00	-52,26	46,66
	ZOL+ATV_постекстр.	-18,00	15,59	0,91	-67,46	31,46
НКГ	ПКГ	166,40*	15,59	< 0,00	116,94	215,86
	ZOL+ATV_локал.	114,40*	15,59	< 0,00	64,94	163,86

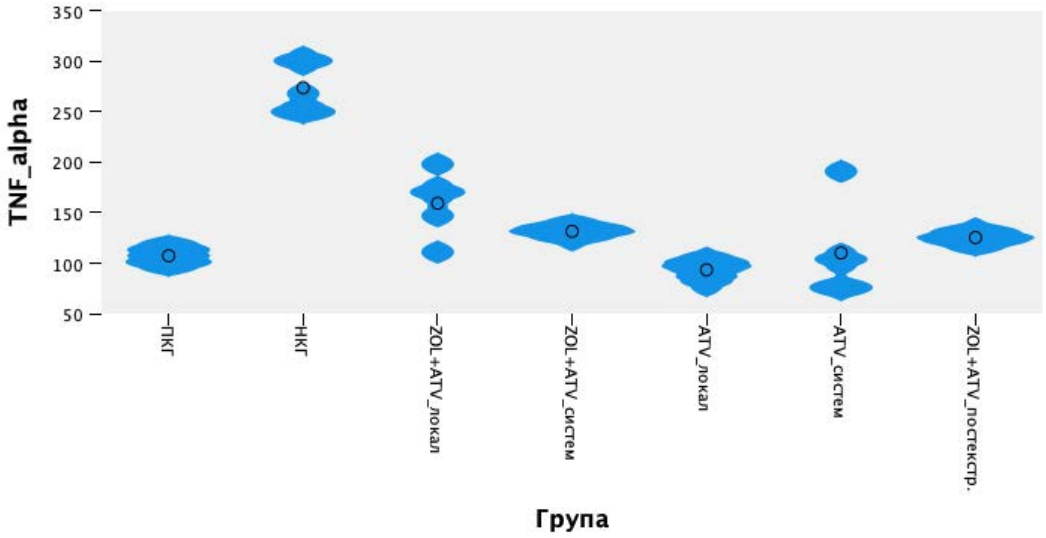
(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Conf. Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ZOL+ATV_систем.	142,20*	15,59	< 0,00	92,74	191,66
	ATV_локал.	180,40*	15,59	< 0,00	130,94	229,86
	ATV_систем.	163,60*	15,59	< 0,00	114,14	213,06
	ZOL+ATV_постекстр.	148,40*	15,59	< 0,00	98,94	197,86
ZOL+ATV_локал.	ПКГ	52,00*	15,59	0,03	2,54	101,46
	НКГ	-114,40*	15,59	< 0,00	-163,86	-64,94
	ZOL+ATV_систем.	27,80	15,59	0,57	-21,66	77,26
	ATV_локал.	66,00*	15,59	0,00	16,54	115,46
	ATV_систем.	49,20	15,59	0,05	-0,26	98,66
	ZOL+ATV_постекстр.	34,00	15,59	0,34	-15,46	83,46
ZOL+ATV_систем.	ПКГ	24,20	15,59	0,71	-25,26	73,66
	НКГ	-142,20*	15,59	< 0,00	-191,66	-92,74
	ZOL+ATV_локал.	-27,80	15,59	0,57	-77,26	21,66
	ATV_локал.	38,20	15,59	0,22	-11,26	87,66
	ATV_систем.	21,40	15,59	0,81	-28,06	70,86
	ZOL+ATV_постекстр.	6,20	15,59	1,00	-43,26	55,66
ATV_локал.	ПКГ	-14,00	15,59	0,97	-63,46	35,46
	НКГ	-180,40*	15,59	< 0,00	-229,86	-130,94
	ZOL+ATV_локал.	-66,00*	15,59	0,00	-115,46	-16,54
	ZOL+ATV_систем.	-38,20	15,59	0,22	-87,66	11,26
	ATV_систем.	-16,80	15,59	0,93	-66,26	32,66
	ZOL+ATV_постекстр.	-32,00	15,59	0,41	-81,46	17,46
ATV_систем.	ПКГ	2,80	15,59	1,00	-46,66	52,26
	НКГ	-163,60*	15,59	< 0,00	-213,06	-114,14
	ZOL+ATV_локал.	-49,20	15,59	0,05	-98,66	0,26
	ZOL+ATV_систем.	-21,40	15,59	0,81	-70,86	28,06
	ATV_локал.	16,80	15,59	0,93	-32,66	66,26
	ZOL+ATV_постекстр.	-15,20	15,59	0,96	-64,66	34,26
ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	18,00	15,59	0,91	-31,46	67,46

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Conf. Interval Lower Bound	Upper Bound
	НКГ	-148,40*	15,59	< 0,00	-197,86	-98,94
	ZOL+ATV_локал.	-34,00	15,59	0,34	-83,46	15,46
	ZOL+ATV_систем.	-6,20	15,59	1,00	-55,66	43,26
	ATV_локал.	32,00	15,59	0,41	-17,46	81,46
	ATV_систем.	15,20	15,59	0,96	-34,26	64,66

*. Разликата е сигнификантна за p вредност < 0,05.



Графикон 15. Линеарен приказ на вредностите на TNF-алфа во сите испитувани групи



Графикон 16. Виолински приказ на вредностите на TNF-алфа во сите испитувани групи

5.7. IL-1Beta

Концентрацијата на интерлеукин-1 бета (IL-1β), како значаен проинфламаторен цитокин вклучен во патогенезата на воспалителните и остеолитичните процеси, беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група). Дескриптивната анализа покажа изразени разлики во средните вредности помеѓу групите. Највисока средна концентрација беше регистрирана во негативната контролна група (НКГ: 247,00 ± 49,28), додека најниска во ATV_систем. групата (88,00 ± 9,35). Позитивната контролна група (ПКГ) имаше средна вредност од 103,20 ± 3,70, додека другите терапевтски групи се движеа во интервал од 100,80 до 160,20. Вкупната средна вредност изнесуваше 137,74 ± 54,62, што укажува на значителна меѓугрупна варијабилност. Тестирањето на нормалноста со Колмогоров-Смирновите и Шапиро-Вилковите тестови не покажа статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една група ($p > 0,05$).

Тестот на еднофакторската анализа на варијансата (ANOVA) покажа високостатистички значајна разлика помеѓу групите во однос на концентрацијата на IL-1β, $F(6, 28) = 29,655$; $p < 0,001$. Овој резултат укажува дека експерименталниот третман има значајно влијание врз нивото на воспалителниот одговор. Пост-хок анализата со Такиев ХСД тест овозможи подетална евалуација на меѓугрупните разлики. Негативната контролна група (НКГ) имаше статистички значајно повисоки вредности во споредба со сите други групи ($p < 0,001$), што укажува на значително поизразен воспалителен одговор во отсуство на терапевтска интервенција. Дополнително, ZOL+ATV_локал. групата имаше статистички значајно повисоки вредности во споредба со ПКГ ($p = 0,006$), ATV_локал. ($p = 0,004$) и ATV_систем. ($p < 0,001$), што укажува дека оваа комбинирана локална терапија е поврзана со повисоки нивоа на IL-1β во однос на самостојната ATV терапија. Исто така, беше утврдена статистички значајна разлика помеѓу ZOL+ATV_систем. и ATV_систем. ($p = 0,048$), што сугерира дека системската комбинација на ZOL и ATV доведува до повисоко ниво на IL-1β во споредба со системската примена на ATV самостојно. Хомогените подгрупи дополнително покажуваат јасна стратификација: најниски вредности имаат ATV_систем., ATV_локал. и ПКГ; средни вредности имаат ZOL+ATV_систем. и ZOL+ATV_постекстр.; повисоки вредности има ZOL+ATV_локал.; додека НКГ претставува изразено одвоена група со највисоки вредности.

Сумирано, резултатите јасно демонстрираат дека негативната контролна група има значително повисока концентрација на IL-1β, што корелира со интензивен воспалителен процес и изразена ткивна деструкција. Терапевтските протоколи, особено ATV_систем. и ATV_локал., се поврзани со значително пониски нивоа на IL-1β, што укажува на потенцијален антиинфламаторен ефект и поповолен биолошки одговор. Комбинираните протоколи со ZOL покажуваат повисоки вредности во однос на самостојната ATV терапија, што може да укажува на посложена интеракција помеѓу лековите и воспалителниот одговор. Резултатите се прикажани во Табела 24 до 27 и Графикон 17 до 21.

Табела 24. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на IL-1бета во сите испитувани групи

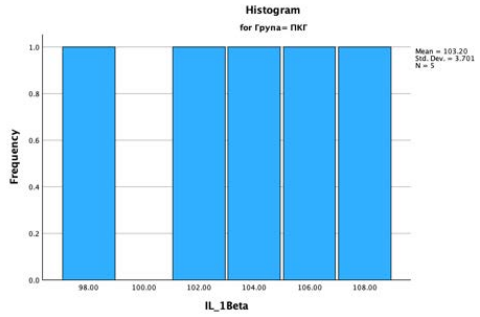
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ПКГ	5	103,20	3,70	1,65	98,60	107,79	98,00	108
НКГ	5	247,00	49,27	22,03	185,81	308,18	198	307
ZOL+ATV_локал.	5	160,20	23,37	10,45	131,18	189,21	128	185
ZOL+ATV_систем.	5	132,80	10,54	4,71	119,70	145,89	119	145
ATV_локал.	5	100,80	11,30	5,05	86,76	114,83	87	114
ATV_систем.	5	88,00	9,35	4,18	76,38	99,61	78	99,00
ZOL+ATV_постекстр	5	132,20	11,54	5,16	117,86	146,53	119	146
Total	35	137,74	54,62	9,23	118,98	156,50	78	307

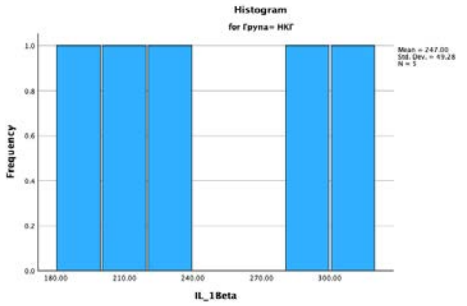
Табела 25. Тест на дистрибуција на вредностите на IL-1бета кај стаорците (нормалност)

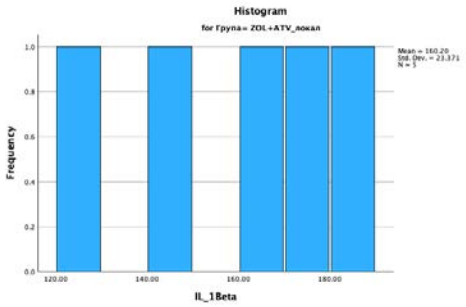
		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
IL_1Beta	ПКГ	0,17	5	0,20*	0,99	5	0,98
	НКГ	0,23	5	0,20*	0,88	5	0,31
	ZOL+ATV_локал.	0,18	5	0,20*	0,95	5	0,75
	ZOL+ATV_систем.	0,26	5	0,20*	0,94	5	0,65
	ATV_локал.	0,18	5	0,20*	0,95	5	0,75

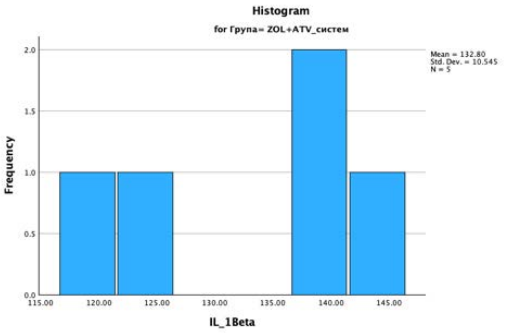
		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
	ATV_систем.	0,20	5	0,20*	0,91	5	0,45
	ZOL+ATV_постекстр.	0,21	5	0,20*	0,93	5	0,61

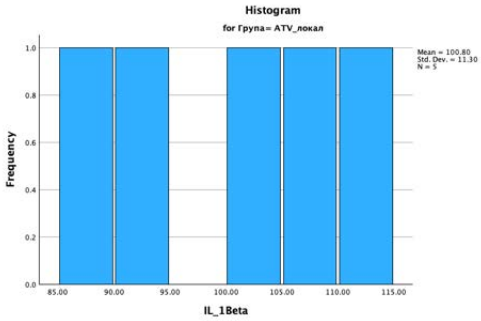
a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс.

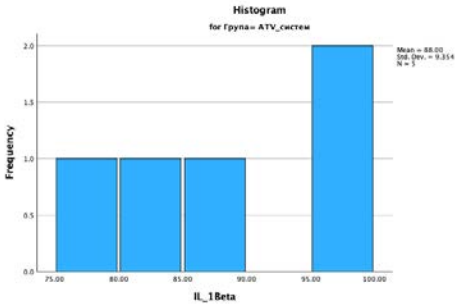


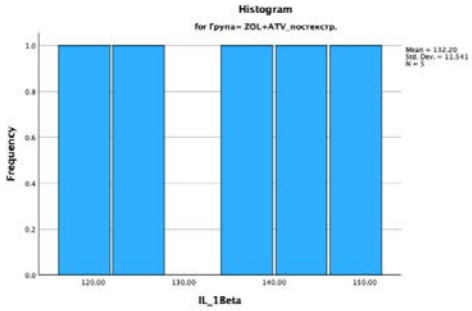




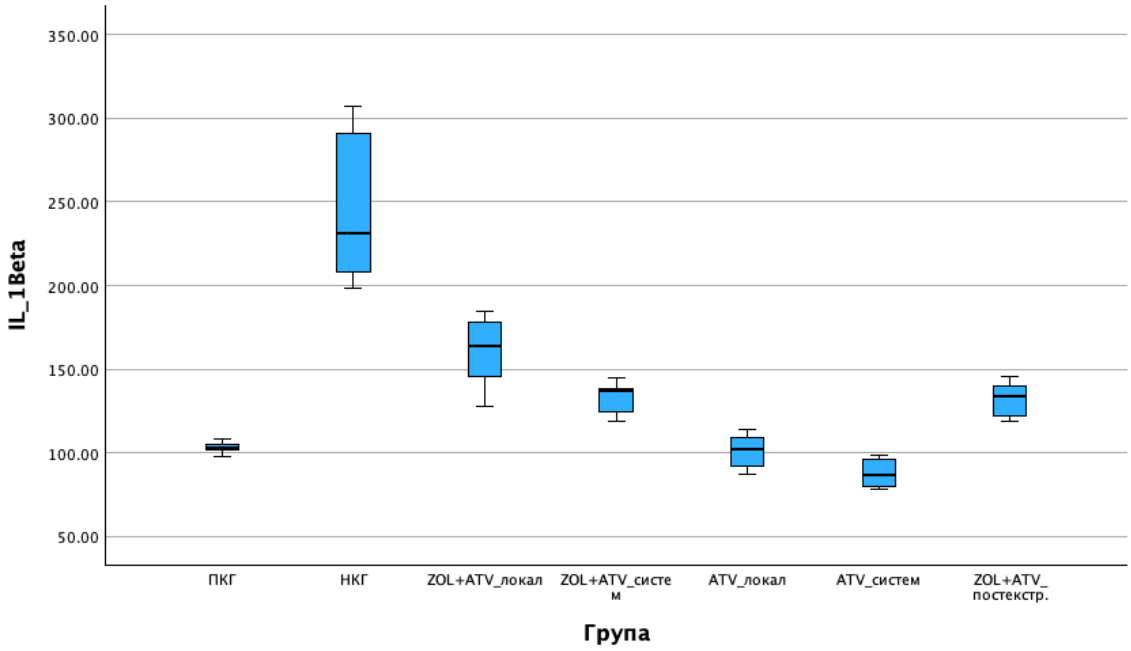








Графикон 17. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на IL-1бета кај стаорците во сите испитувани групи



Графикон 18. Столбест дијаграм на распределбата на IL-1бета кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 26. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на IL-1бета кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

Хомогеност на варијанса

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
IL_1Beta	Based on Mean	12,80	6	28	< 0,00
	Based on Median	4,14	6	28	0,00
	Based on Median and with adjusted df	4,14	6	7,03	0,04
	Based on trimmed mean	12,24	6	28	< 0,00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	87644,69	6	14607,45	29,66	< 0,00
Within Groups	13792,00	28	492,57		

ANOVA

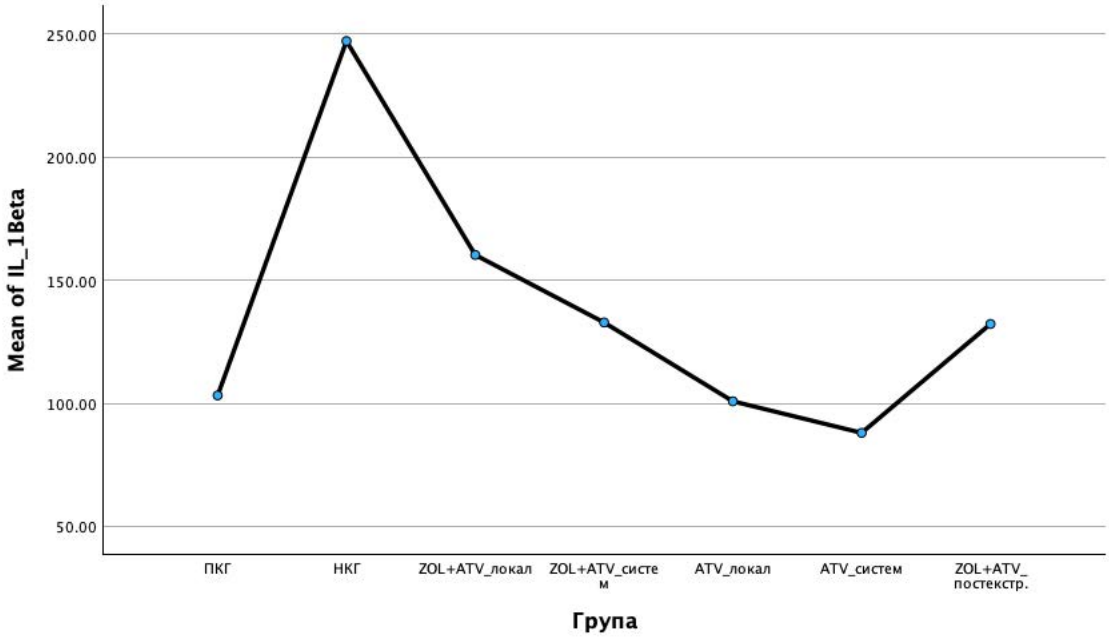
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total	101436,69	34			

Табела 27. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на IL-1бета

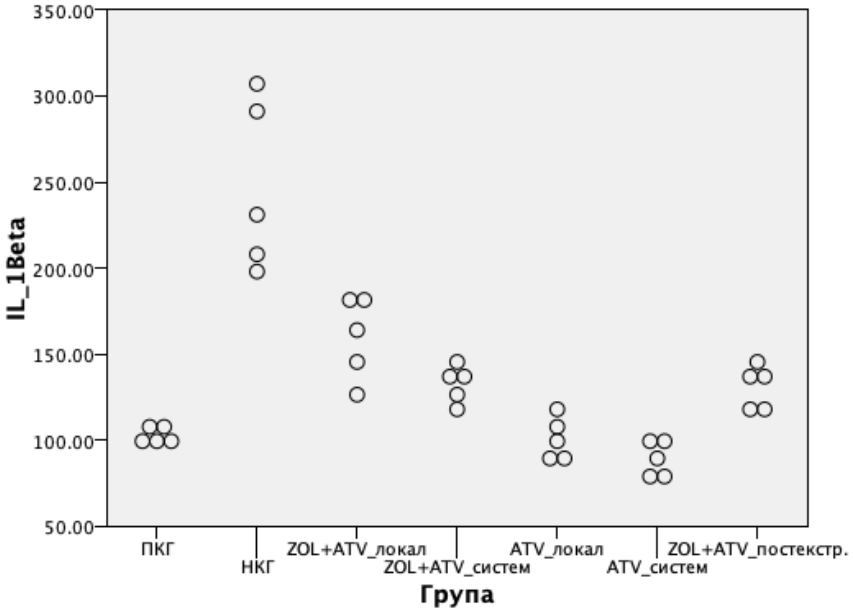
(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ПКГ	НКГ	-143,80*	14,04	< 0,00	-188,33	-99,27
	ZOL+ATV_локал.	-57,00*	14,04	0,01	-101,53	-12,47
	ZOL+ATV_систем.	-29,60	14,04	0,38	-74,13	14,93
	ATV_локал.	2,40	14,04	1,00	-42,13	46,93
	ATV_систем.	15,20	14,04	0,93	-29,33	59,73
	ZOL+ATV_постекстр.	-29,00	14,04	0,40	-73,53	15,53
НКГ	ПКГ	143,80*	14,04	< 0,00	99,27	188,33
	ZOL+ATV_локал.	86,80*	14,04	< 0,00	42,27	131,33
	ZOL+ATV_систем.	114,20*	14,04	< 0,00	69,67	158,73
	ATV_локал.	146,20*	14,04	< 0,00	101,67	190,73
	ATV_систем.	159,00*	14,04	< 0,00	114,47	203,53
	ZOL+ATV_постекстр.	114,80*	14,04	< 0,00	70,27	159,33
ZOL+ATV_локал.	ПКГ	57,00*	14,04	0,01	12,47	101,53
	НКГ	-86,80*	14,04	< 0,00	-131,33	-42,27
	ZOL+ATV_систем.	27,40	14,04	0,47	-17,13	71,93
	ATV_локал.	59,40*	14,04	0,00	14,87	103,93
	ATV_систем.	72,20*	14,04	< 0,00	27,67	116,73
	ZOL+ATV_постекстр.	28,00	14,04	0,44	-16,53	72,53
ZOL+ATV_систем.	ПКГ	29,60	14,04	0,38	-14,93	74,13
	НКГ	-114,20*	14,04	< 0,00	-158,73	-69,67
	ZOL+ATV_локал.	-27,40	14,04	0,47	-71,93	17,13
	ATV_локал.	32,00	14,04	0,29	-12,53	76,53
	ATV_систем.	44,80*	14,04	0,05	0,27	89,33

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ZOL+ATV_постекстр.	0,60	14,04	1,00	-43,93	45,13
ATV_локал.	ПКГ	-2,40	14,04	1,00	-46,93	42,13
	НКГ	-146,20*	14,04	< 0,00	-190,73	-101,67
	ZOL+ATV_локал.	-59,40*	14,04	0,00	-103,93	-14,87
	ZOL+ATV_систем.	-32,00	14,04	0,29	-76,53	12,53
	ATV_систем.	12,80	14,04	0,97	-31,73	57,33
	ZOL+ATV_постекстр.	-31,40	14,04	0,31	-75,93	13,13
ATV_систем.	ПКГ	-15,20	14,04	0,93	-59,73	29,33
	НКГ	-159,00*	14,04	< 0,00	-203,53	-114,47
	ZOL+ATV_локал.	-72,20*	14,04	< 0,00	-116,73	-27,67
	ZOL+ATV_систем.	-44,80*	14,04	0,05	-89,33	-0,27
	ATV_локал.	-12,80	14,04	0,97	-57,33	31,73
	ZOL+ATV_постекстр.	-44,20	14,04	0,05	-88,73	0,33
ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	29,00	14,04	0,40	-15,53	73,53
	НКГ	-114,80*	14,04	< 0,00	-159,33	-70,27
	ZOL+ATV_локал.	-28,00	14,04	0,44	-72,53	16,53
	ZOL+ATV_систем.	-0,60	14,04	1,00	-45,13	43,93
	ATV_локал.	31,40	14,04	0,31	-13,13	75,93
	ATV_систем.	44,20	14,04	0,05	-0.,33	88,73

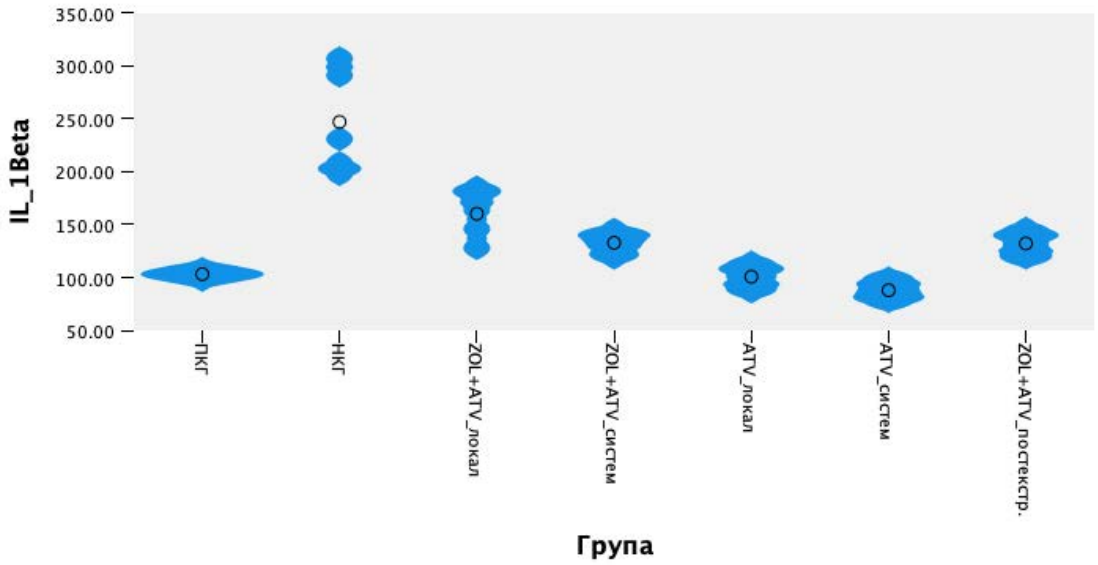
*. Сигнификантно за $p < 0,05$.



Графикон 19. Линеарен приказ на вредностите на IL-1бета во сите испитувани групи



Графикон 20. Графикон со расејување за приказ на вредностите на IL-1бета во сите испитувани групи



Графикон 21. Виолински приказ на вредностите на IL-1бета во сите испитувани групи

5.8. Корелација меѓу TNF-алфа и IL-1бета

Со цел да се испита поврзаноста помеѓу двата клучни проинфламаторни цитокини, беше спроведена Пирсонова корелациска анализа. Резултатите покажаа силна позитивна корелација помеѓу концентрациите на TNF-α и IL-1β ($r = 0,861$; $p < 0,001$; $N = 35$). Вредноста на корелацискиот коефициент укажува на многу силна линеарна зависност помеѓу двете варијабли, при што повисоките вредности на TNF-α се поврзани со пропорционално повисоки вредности на IL-1β. Статистичката значајност на ниво $p < 0,001$ укажува дека веројатноста ваквата поврзаност да биде резултат на случајна варијација е исклучително мала, со што се потврдува стабилноста и репродуцибилноста на наодот во рамките на испитуваниот примерок. Дополнително, квадратот на корелацискиот коефициент ($r^2 = 0,741$) покажува дека приближно 74,1% од варијабилноста на едниот цитокин може да се објасни со варијабилноста на другиот, што претставува висок степен на заедничка варијанса и укажува на тесна биолошка поврзаност и координирана регулација. Резултатите се прикажани во Табела 28 и Графикон 22 и 23.

Од патофизиолошки аспект, добиената силна позитивна корелација е во согласност со познатите механизми на воспалителниот одговор, имајќи предвид дека TNF-α и IL-1β

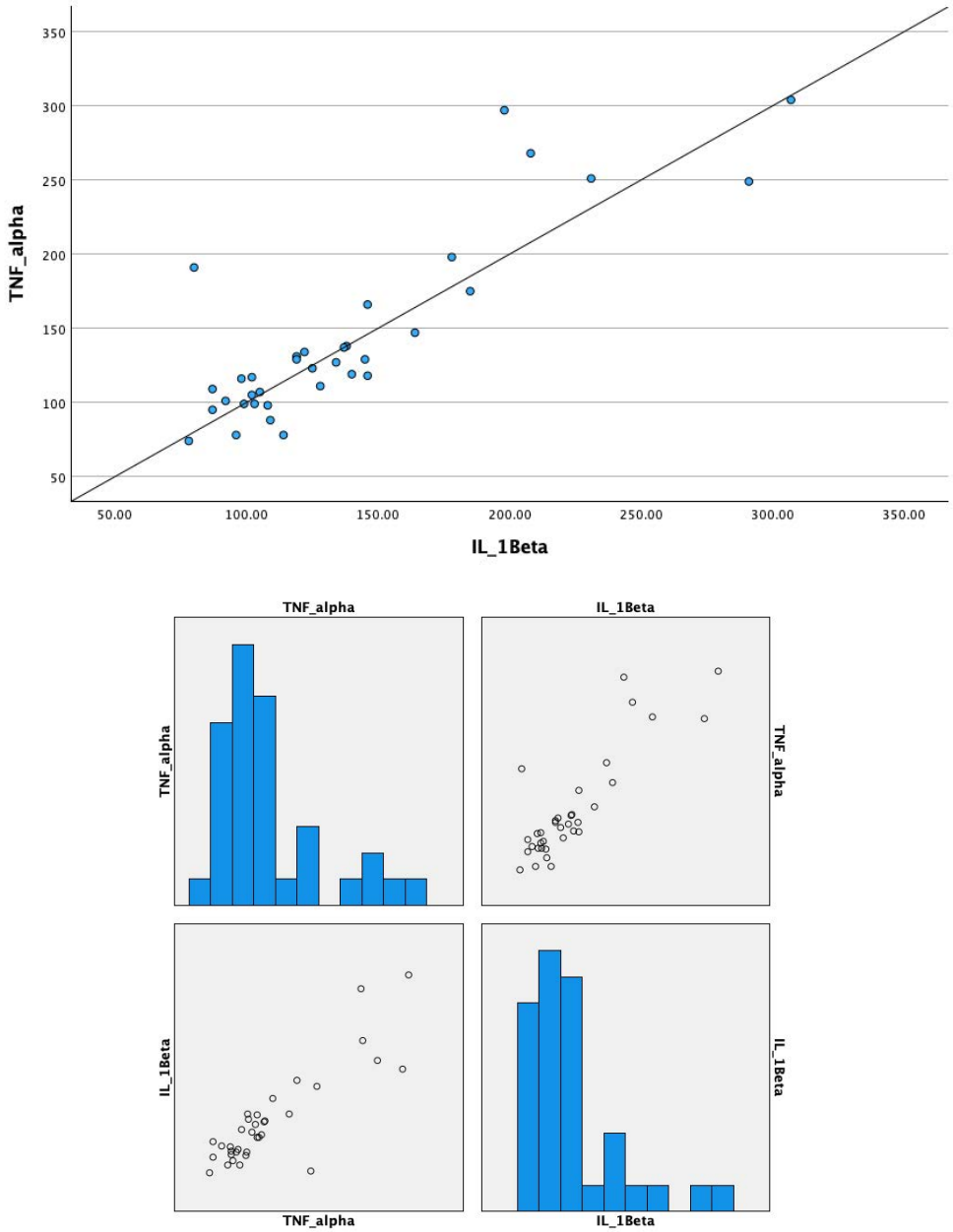
се клучни проинфламаторни цитокини што се синтетизираат и се ослободуваат од активирани имунокомпетентни клетки, особено макрофаги, и учествуваат во активацијата на заеднички сигнални патеки, вклучително и NF-κB сигналниот систем. Нивната ко-регулација доведува до амплификација на инфламаторниот каскаден одговор, зголемена експресија на атхезивни молекули, индукција на други медијатори на воспаление и потенцирање на ткивната деструкција. Високиот степен на корелација укажува дека во рамките на експерименталниот модел воспалителниот процес се одвива синхронизирано, при што промените во концентрацијата на еден цитокин се тесно поврзани со динамиката на другиот.

Иако корелациската анализа не дозволува директен заклучок за каузалност, силата на асоцијацијата, заедно со биолошката логичност на резултатот, укажува дека TNF-α и IL-1β функционираат како дел од интегриран и меѓусебно поврзан воспалителен систем. Овие наоди ја потврдуваат конзистентноста на биохемиските параметри како маркери на воспалителниот одговор и дополнително ја зајакнуваат валидноста на нивната употреба во проценката на степенот на воспаление и ткивна реакција во рамките на испитуваниот експериментален модел.

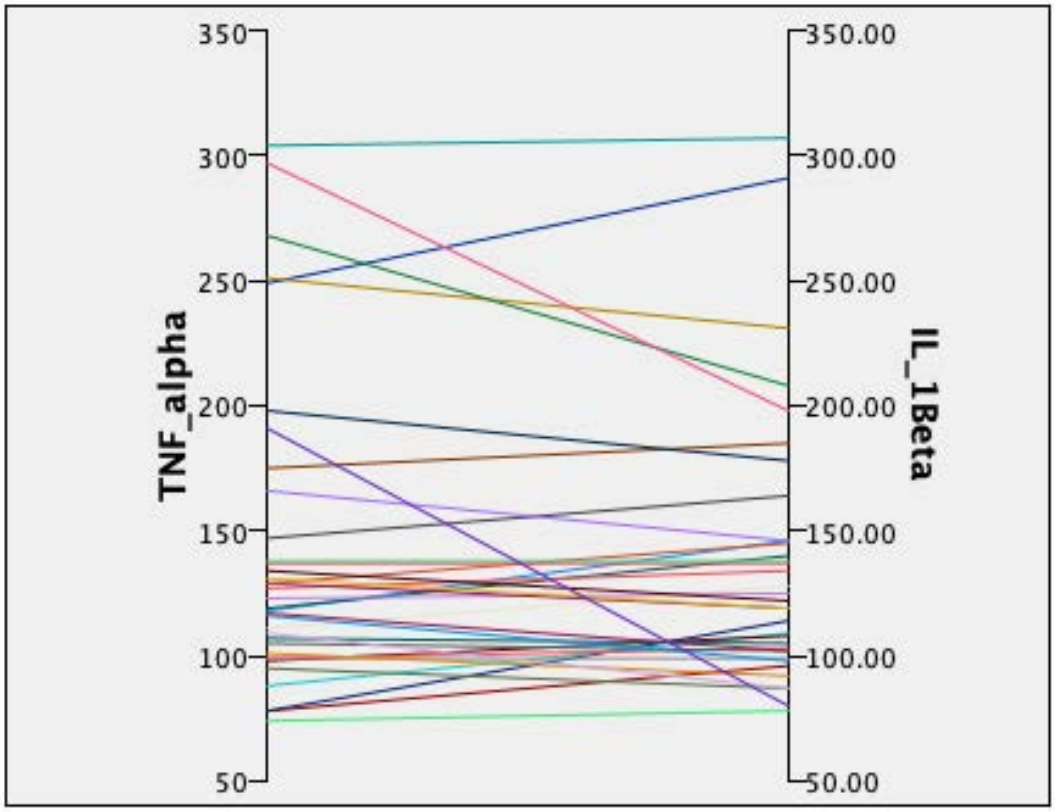
Табела 28. Резултат од спроведената Пирсонова корелациска анализа меѓу TNF-алфа и IL-1beta

		TNF_alpha	IL_1Beta
TNF_alpha	Pearson Correlation	1	0,86***
	Sig. (2-tailed)		< 0,00
	N	35	35
IL_1Beta	Pearson Correlation	0,86***	1
	Sig. (2-tailed)	< 0,00	
	N	35	35

***. Корелација на 0,00 (двонасочна).



Графикон 22. Линеарен приказ и приказ со расејување на корелацијата меѓу TNF-алфа и IL-1бета



Графикон 23. Паралелен приказ на корелацијата меѓу TNF-алфа и IL-1бета

TNF-α и IL-1β претставуваат клучни проинфламаторни цитокини во регулацијата на коскениот метаболизам и се централни медијатори на т.н. остеоимуна интеракција помеѓу имунолошкиот систем и коскеното ремоделирање. Во физиолошки услови, коската е динамично ткиво во кое рамнотежата помеѓу остеокластната ресорпција и остеобластната формација е под суптилна контрола на цитокински сигнали. TNF-α, преку врзување за TNFR1/TNFR2, активира NF-κB и MAPK сигнални патишта и ја зголемува експресијата на RANKL, истовремено намалувајќи го OPG, со што го зголемува односот RANKL/OPG и ја олеснува диференцијацијата и активацијата на остеокласти. (37, 462) IL-1β, преку IL-1R1 и MyD88-зависна сигнализација, исто така го активира NF-κB и ја засилува остеокластната активност, не само преку индукција на RANKL туку и преку директно зголемување на ресорптивниот капацитет и преживувањето на остеокластите. (377, 379) Во услови на хронична инфламација, овие два цитокини дејствуваат синергистички и создаваат позитивна повратна спрега што води кон перзистентна остеолиза и нарушена коскена микроархитектура.

Покрај проостеокластогената улога, TNF-α и IL-1β имаат и значајни инхибиторни ефекти врз остеобластната линија. Хронично покачени нивоа на TNF-α ја потиснуваат експресијата на RUNX2 и други транскрипциски фактори клучни за остеобластна диференцијација, ја намалуваат синтезата на матриксни протеини и можат да индуцираат апоптоза на проостеобласти (113, 256, 379). IL-1β ја нарушува минерализацијата и ја стимулира продукцијата на матрикс-разградувачки ензими, со што дополнително го компромитира квалитетот на новоформираната коска. (40) Така, во општ контекст на коскената биологија, перзистентната експозиција на TNF-α и IL-1β резултира со дисбаланс во корист на ресорпција и со квалитативно нарушена коскена регенерација.

Во патогенезата на MRONJ, улогата на овие цитокини е уште поизразена и добива специфична патофизиолошка тежина. Современите концепти ја дефинираат MRONJ како остеоимуно-инфламаторно нарушување во кое антиресорптивната супресија на коскениот метаболизам се преклопува со локална воспалителна и микробиолошка стимулација по примената орално-хируршка траума или при присуство на инфекција и воспаление. Бисфосфонатите, како што е золедронската киселина, не само што ја инхибираат остеокластната функција преку мевалонскиот пат, туку можат да индуцираат и дисрегулација на вродениот имунитет, со перзистентна активација на NF-κB и зголемена продукција на IL-1β. (377). Активирањето на NLRP3 доведува до процесирање на про-IL-1β во биолошки активна форма, што го засилува локалниот воспалителен одговор и го нарушува нормалното заздравување на постекстракциската рана. Во истата рамка, TNF-α дејствува како амплификатор на воспалението, промовира ендотелна активација, зголемена васкуларна пропустливост и регрутирање на неутрофили и макрофаги, со што се одржува хронична инфламаторна компонента во екстракциската зона. (144)

Клучен аспект во MRONJ е нарушената транзиција од M1 кон M2 макрофаген фенотип. При нормално заздравување на раните, почетната M1-фаза со продукција на TNF-α и IL-1β е привремена, по што следува фаза на M2, која овозможува репарација и ангиогенеза. Кај MRONJ, постои тенденција кон перзистентна M1-доминација и одложена или нецелосна M2-конверзија, што резултира со хронично покачени нивоа на проинфламаторни цитокини и нарушено ткивно ремоделирање. (370-372) Во услови на супримиран коскен метаболизам, каков што е случајот со золедронатна експозиција, ваквата воспалителна средина не води кон ефективна регенерација, туку кон

акумулација на микронекротични полиња, перзистентна експозиција на коска и клиничка манифестација на MRONJ.

Дополнително, TNF-α и IL-1β имаат потенцијално влијание врз ангиогенезата. Иако во акутна фаза можат да стимулираат васкуларен одговор, хроничната експозиција може да придонесе кон дисфункционална васкуларизација и нарушен микроваскуларен интегритет, што е релевантно во контекст на MRONJ, каде што компромитираната васкуларизација е дел од патогенетскиот спектар. (163) Така, улогата на овие цитокини во MRONJ е мултидимензионална: тие не само што ја засилуваат остеокластната активност и го нарушуваат остеобласниот одговор туку и ја одржуваат воспалителната и васкуларната дисфункција што ја попречува репарацијата на алвеоларната коска.

Во согласност со оваа теоретска рамка, во моделот прикажан во тезата, негативната контролна група (ZOL-индуцирана лезија) покажува највисоки концентрации на двата цитокини (TNF-α: 273,80 ± 25,59; IL-1β: 247,00 ± 49,28), што е биолошки конзистентно со клинички потешка презентација и поголема коскена деструкција, додека групите со додаден ATV во контекст на ZOL (ZOL+ATV_локал., ZOL+ATV_систем., ZOL+ATV_постекстр.) имаат изразено пониски вредности: кај TNF-α приближно до нивото на позитивната контролна група (ПКГ: 107,40 ± 9,02) и далеку под НКГ, со средни вредности околу 159,40 (ZOL+ATV_локал.), 131,60 (ZOL+ATV_систем.) и 125,40 (ZOL+ATV_постекстр.), а кај IL-1β исто така значајно редуцирани во однос на НКГ (приближно 160,20; 132,80; 132,20 наспроти 247,00), при што ANOVA потврдува дека разликите меѓу групите се статистички значајни (за IL-1β: $F = 29,66$; $p < 0,001$), а пост-хок анализата укажува на јасен градиент со највисок воспалителен товар во НКГ и значајно пониски вредности во групите каде ATV е комбиниран со ZOL. Биолошката тежина на овие наоди се засилува со фактот дека и TNF-α и IL-1β покажуваат силни корелации со клиничката оценка ($r = 0,67$ и $r = 0,69$; $p < 0,001$) и меѓусебно ($r = 0,86$), што е очекувано ако двата цитокини се дел од истата проинфламаторна каскада и ја рефлектираат тежината на лезијата клинички, но и структурно. Особено важно за дискусија е тоа дека CBCT_оценката корелира уште посилно со IL-1β ($r = 0,88$) и значајно со TNF-α ($r = 0,76$), а во мултиваријантен модел IL-1β се издвојува како единствен независен предиктор на радиолошкиот исход ($\beta = 0,834$; $p < 0,001$), додека TNF-α губи независна предиктивност ($p = 0,583$), што сугерира дека структурната коскена деструкција детектирана со CBCT е потесно врзана со IL-1β отколку за поширокиот TNF-α сигнал, кој може да дејствува повеќе како амплификатор и да биде колинеарен со IL-1β во рамките на истиот воспалителен фенотип.

Ова е концептуално усогласено со современата ставови спомнати погоре, во кои NLRP3-зависната секреција на IL-1β од макрофагите е опишана како механизам што го нарушува заздравувањето на оралната рана и придонесува за MRON. Токму тука критички се надоврзува прашањето за ATV: статините се инхибитори на HMG-CoA редуктаза и го модулираат мевалонскиот пат на различни нивоа, со плеотропни имуномодулаторни ефекти. Во многубројни модели се прикажува дека аторвастатин може да ја намали експресијата и секрецијата на IL-1β и/или TNF-α преку влијание врз TLR4/MyD88/NF-κB (485), иако ефектите на статините не се униформни и понекогаш зависат од клеточниот тип, стимулот и дозата. Во рамките на оваа докторска теза, профилот на TNF-α и IL-1β кај ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. е конзистентен со намалување на проинфламаторната компонента што ја создава ZOL, што е евидентно и на клинички и на CBCT анализата. Дополнително, фактот дека IL-1β е независно поврзан со CBCT-детектибилната деструкција ја поддржува тезата дека интервенциите што ја модулираат IL-1β-оска би можеле да имаат структурно клинички ефект, а не само лабораториски ефект. Во однос на ZOL+ATV_постекстракц., оваа група концептуално е третманска (интервенција по екстракција, односно по иницијалното ткивно оштетување), за разлика од другите ATV протоколи што се поставени повеќе превентивно и токму затоа е очекувано позитивниот ефект да биде помал, посебно во делот на воспалителните и хистолошките анализи. Како и да е, ZOL+ATV_постекстр. и понатаму има значајно подобар клинички и CBCT исход во однос на НКГ, а помалку конзистентно со воспалителните компоненти и хистолошката слика, што е во согласност со ставот дека еднаш активирана проинфалматорна каскада може да биде тешко да се нормализира.

5.9. Каталаза

Активноста на антиоксидативниот ензим каталаза беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група). Дескриптивната анализа покажа изразени разлики во средните вредности помеѓу групите. Највисока средна вредност беше регистрирана во позитивната контролна група (ПКГ: 3604,20 ± 256,81), додека најниска во негативната контролна група (НКГ: 1774,40 ± 125,49). Другите терапевтски групи покажаа вредности помеѓу 2641,60 и 3545,80, што укажува на варијации во степенот на антиоксидативна активност. Вкупната средна вредност изнесуваше 3021,06 ± 684,70.

Проверката на нормалноста на распределбата (Колмогоров-Смирнови и Шапиро-Вилкови тестови) не покажа статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една група ($p > 0,05$). Левеновиот тест за хомогеност на варијанси не покажа статистички значајна разлика ($p = 0,073$), што укажува дека претпоставката за еднаквост на варијансите е задоволена. Врз основа на исполнетите параметарски претпоставки беше спроведена еднофакторска ANOVA. Резултатите се прикажани во Табела 29 до 32 и Графикон 24 до 27.

ANOVA анализата покажа високостатистички значајна разлика помеѓу групите во однос на активноста на каталаза, $F(6, 28) = 18,035$; $p < 0,001$. Овој резултат укажува дека експерименталниот третман има значително влијание врз антиоксидативниот капацитет. Пост-хок анализата со Такиев ХСД тест овозможи детална евалуација на парните разлики. Негативната контролна група (НКГ) имаше статистички значајно пониска активност на каталаза во споредба со сите други групи ($p \leq 0,007$ во сите споредби), што укажува на изразено намален антиоксидативен одговор во оваа група. Позитивната контролна група (ПКГ) имаше статистички значајно повисока активност во споредба со НКГ ($p < 0,001$), ZOL+ATV_локал. ($p = 0,002$) и ZOL+ATV_систем. ($p = 0,045$), додека разликите во однос на ATV_локал., ATV_систем. и ZOL+ATV_постекстр. не беа статистички значајни. Дополнително, ZOL+ATV_локал. групата имаше статистички значајно пониска активност во споредба со ATV_локал. ($p = 0,004$) и ATV_систем. ($p = 0,025$), што укажува дека самостојната примена на ATV е поврзана со повисока антиоксидативна активност во споредба со комбинираната локална терапија со ZOL. Хомогените подгрупи покажуваат јасна градација: НКГ е изразено одвоена група со најниска ензимска активност; ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. формираат средна подгрупа; додека ATV_локал., ATV_систем. и ПКГ припаѓаат на подгрупа со највисоки вредности.

Сумирано, резултатите укажуваат дека негативната контролна група има значително намалена активност на каталаза, што може да рефлектира зголемен оксидативен стрес и нарушен антиоксидативен баланс. Терапевтските протоколи, особено оние базирани на ATV, се поврзани со повисока антиоксидативна активност, што сугерира потенцијален заштитен ефект во контекст на оксидативниот стрес и воспалителните процеси.

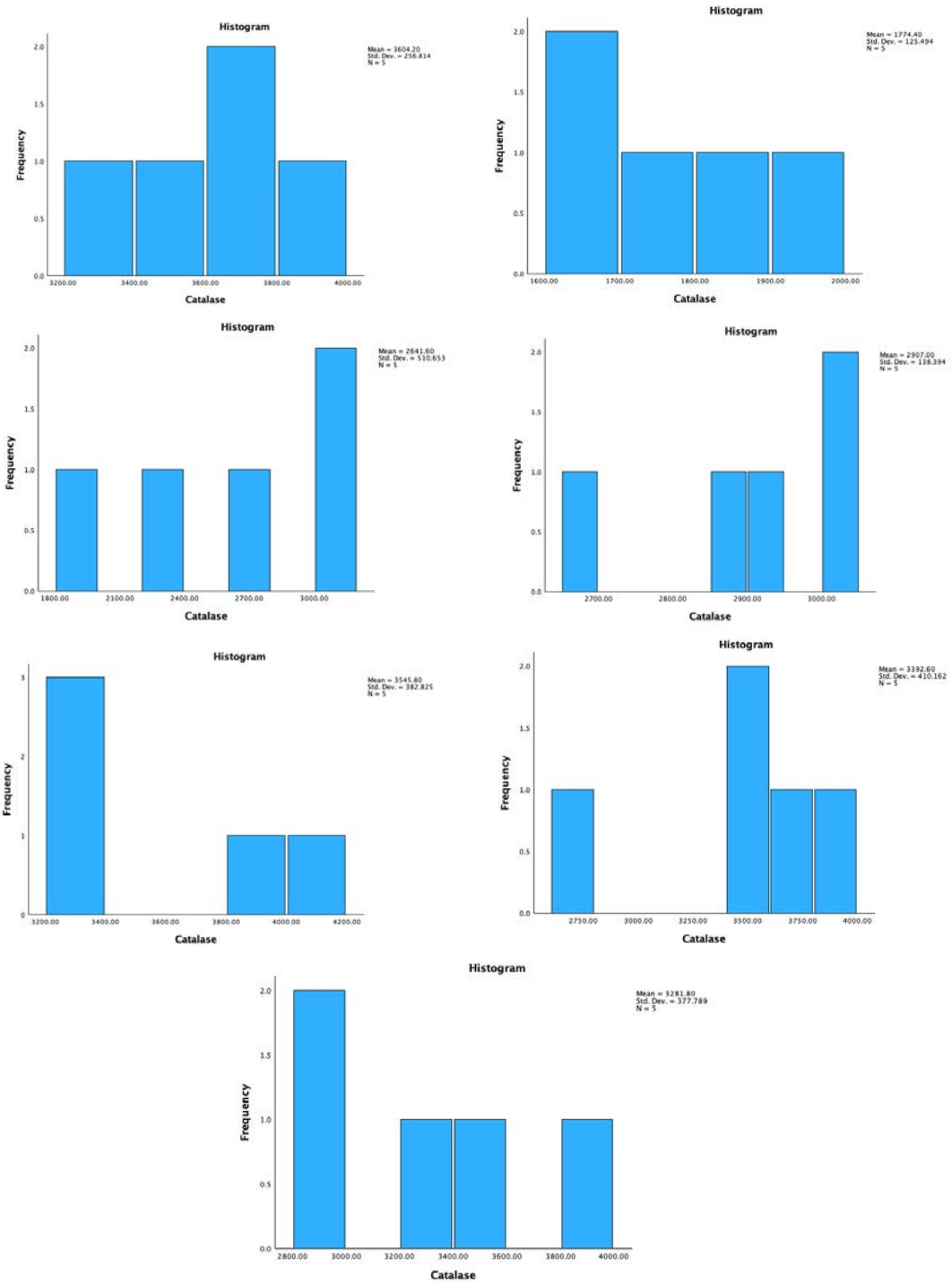
Табела 29. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на каталаза во сите испитувани групи

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ПКГ	5	3604,20	256,81	114,85	3285,32	3923,08	3234,00	3919,00
НКГ	5	1774,40	125,49	56,12	1618,58	1930,22	1676,00	1980,00
ZOL+ATV_локал.	5	2641,60	510,65	228,37	2007,54	3275,66	1898,00	3109,00
ZOL+ATV_систем.	5	2907,00	138,39	61,89	2735,16	3078,84	2692,00	3036,00
ATV_локал.	5	3545,80	382,82	171,20	3070,46	4021,14	3228,00	4008,00
ATV_систем.	5	3392,60	410,16	183,43	2883,32	3901,88	2726,00	3821,00
ZOL+ATV_постекстр.	5	3281,80	377,79	168,95	2812,71	3750,89	2904,00	3821,00
Total	35	3021,06	684,70	115,73	2785,86	3256,26	1676,00	4008,00

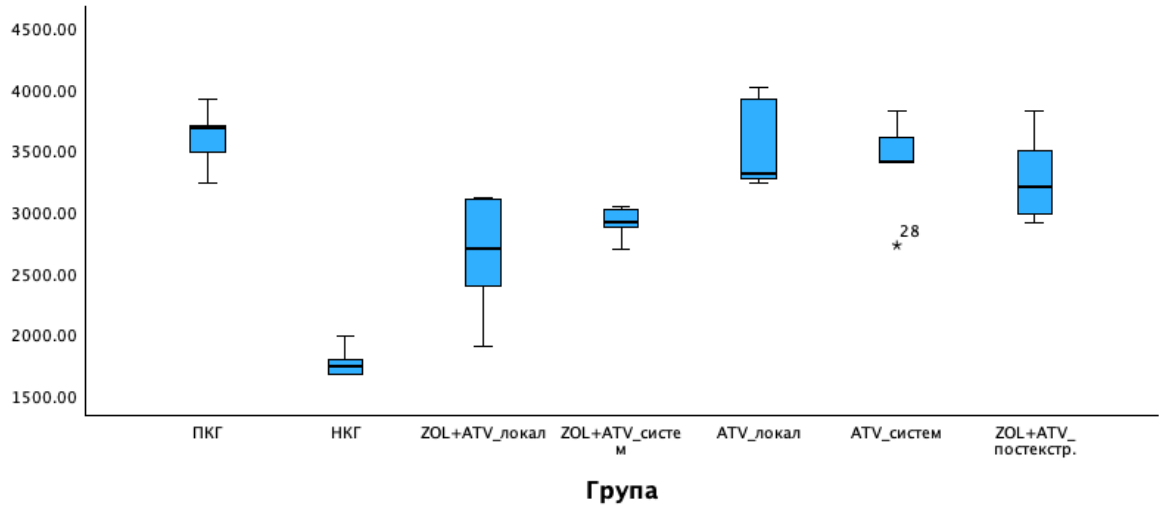
Табела 30. Тест на дистрибуција на вредностите на каталаза кај стаорците (нормалност)

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Каталаза	ПКГ	0,21	5	0,20*	0,97	5	0,88
	НКГ	0,22	5	0,20*	0,85	5	0,19
	ZOL+ATV_локал.	0,21	5	0,20*	0,91	5	0,46
	ZOL+ATV_систем.	0,21	5	0,20*	0,91	5	0,44
	ATV_локал.	0,33	5	0,08	0,78	5	0,05
	ATV_систем.	0,31	5	0,12	0,89	5	0,38
	ZOL+ATV_постекстр.	0,18	5	0,20*	0,94	5	0,65

a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс.



Графикон 24. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на каталаза кај стаорците во сите испитувани групи



Графикон 25. Столбест дијаграм на распределбата на каталаза кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 31. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на каталаза кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

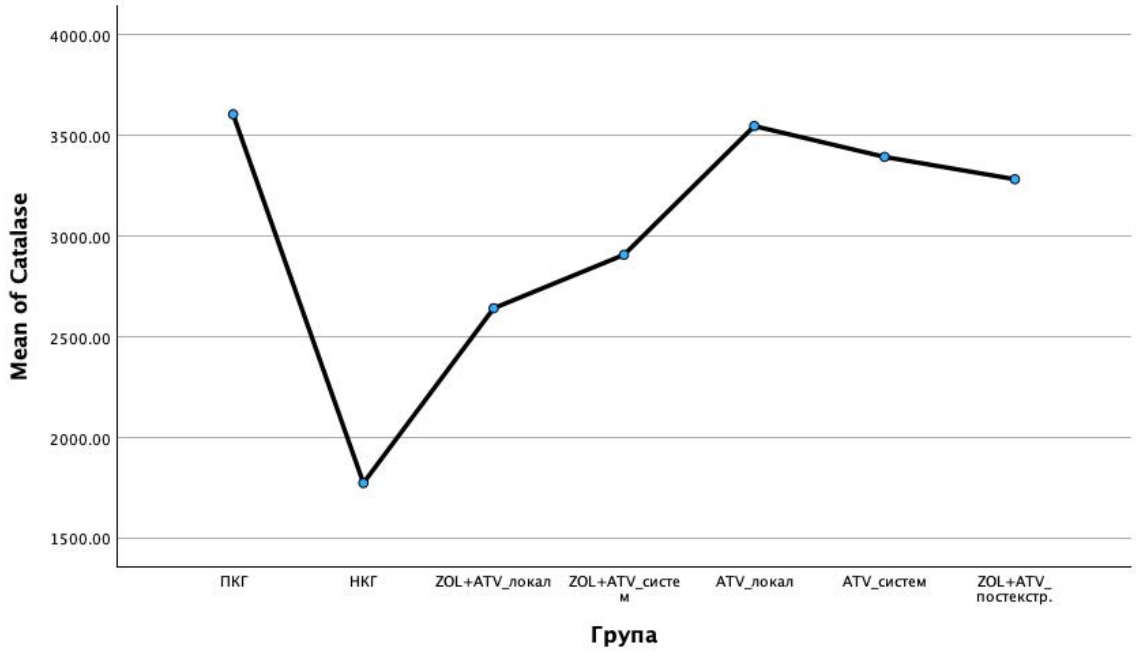
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12662961,89	6	2110493,65	18,04	< 0,00
Within Groups	3276532,00	28	117019,00		
Total	15939493,89	34			

Табела 32. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на каталаза

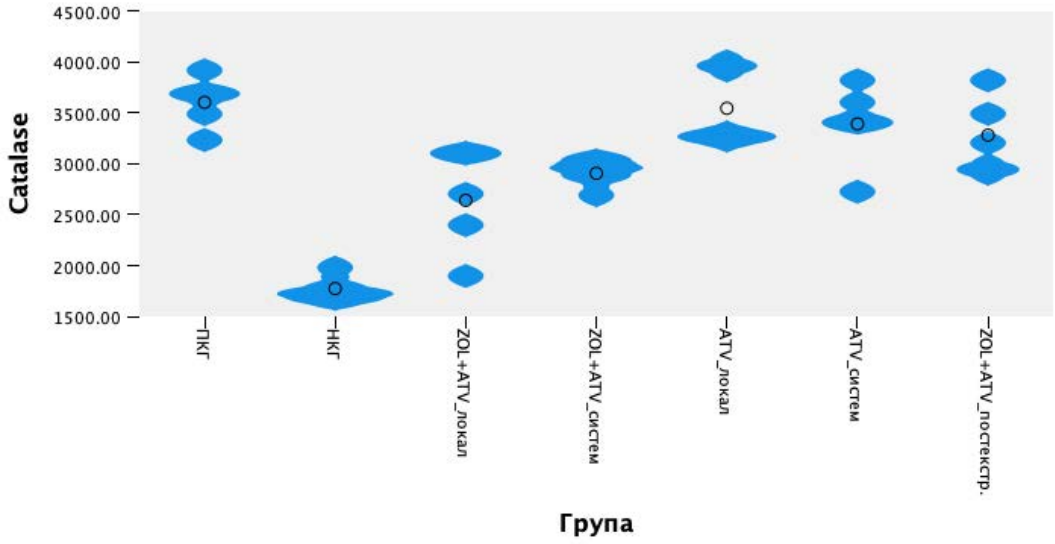
(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
ПКГ	НКГ	1829,80*	216,35	< 0,00	1143,51	2516,09
	ZOL+ATV_локал.	962,60*	216,35	0,00	276,31	1648,89
	ZOL+ATV_систем.	697,20*	216,35	0,05	10,91	1383,49
	ATV_локал.	58,40	216,35	1,00	-627,89	744,69
	ATV_систем.	211,60	216,35	0,96	-474,69	897,89
	ZOL+ATV_постекстр.	322,40	216,35	0,75	-363,89	1008,69
НКГ	ПКГ	-1829,80*	216,35	< 0,00	-2516,09	-1143,51
	ZOL+ATV_локал.	-867,20*	216,35	0,01	-1553,49	-180,91
	ZOL+ATV_систем.	-1132,60*	216,35	< 0,00	-1818,89	-446,31
	ATV_локал.	-1771,40*	216,35	< 0,00	-2457,69	-1085,11
	ATV_систем.	-1618,20*	216,35	< 0,00	-2304,49	-931,91
	ZOL+ATV_постекстр.	-1507,40*	216,35	< 0,00	-2193,69	-821,11
ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-962,60*	216,35	0,00	-1648,89	-276,31
	НКГ	867,20*	216,35	0,01	180,91	1553,49

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ZOL+ATV_систем.	-265,40	216,35	0,88	-951,69	420,89
	ATV_локал.	-904,20*	216,35	0,00	-1590,49	-217,91
	ATV_систем.	-751,00*	216,35	0,03	-1437,29	-64,71
	ZOL+ATV_постекстр.	-640,20	216,35	0,08	-1326,49	46,09
ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-697,20*	216,35	0,05	-1383,49	-10,91
	НКГ	1132,60*	216,35	< 0,00	446,31	1818,89
	ZOL+ATV_локал.	265,40	216,35	0,88	-420,89	951,69
	ATV_локал.	-638,80	216,35	0,08	-1325,09	47,49
	ATV_систем.	-485,60	216,35	0,31	-1171,89	200,69
	ZOL+ATV_постекстр.	-374,80	216,35	0,60	-1061,09	311,49
ATV_локал.	ПКГ	-58,40	216,35	1,00	-744,69	627,89
	НКГ	1771,40*	216,35	< 0,00	1085,11	2457,69
	ZOL+ATV_локал.	904,20*	216,35	0,00	217,91	1590,49
	ZOL+ATV_систем.	638,80	216,35	0,08	-47,49	1325,09
	ATV_систем.	153,20	216,35	0,99	-533,09	839,49
	ZOL+ATV_постекстр.	264,00	216,35	0,88	-422,29	950,29
ATV_систем.	ПКГ	-211,60	216,35	0,96	-897,89	474,69
	НКГ	1618,20*	216,35	< 0,00	931,91	2304,49
	ZOL+ATV_локал.	751,00*	216,35	0,03	64,71	1437,29
	ZOL+ATV_систем.	485,60	216,35	0,31	-200,69	1171,89
	ATV_локал.	-153,20	216,35	0,99	-839,49	533,09
	ZOL+ATV_постекстр.	110,80	216,35	1,00	-575,49	797,09
ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-322,40	216,35	0,75	-1008,69	363,89
	НКГ	1507,40*	216,35	< 000	821,11	2193,69
	ZOL+ATV_локал.	640,20	216,35	0,08	-46,09	1326,49
	ZOL+ATV_систем.	374,80	216,35	0,60	-311,49	1061,09
	ATV_локал.	-264,00	216,35	0,88	-950,29	422,29
	ATV_систем.	-110,80	216,35	1,00	-797,09	575,49

*. Сигнификантно за p < 0,05.



Графикон 26. Линеарен приказ на вредностите на каталаза во сите испитувани групи



Графикон 27. Виолински приказ на вредностите на каталаза во сите испитувани групи

5.10. Супероксид дизмутаза (СОД)

Активноста на супероксид дизмутаза (СОД), како клучен ензим во примарната антиоксидативна одбрана што ја катализира дизмутацијата на супероксидниот анјон во водороден пероксид и кислород, беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група). Дескриптивната анализа покажа изразени разлики во средните вредности помеѓу групите. Највисока средна активност беше регистрирана во

ATV_систем. групата (1805,40 ± 129,89) и ПКГ (1775,80 ± 99,45), додека најниска во НКГ (807,00 ± 256,39). Другите групи имаа интермедијарни вредности: ZOL+ATV_локал. (1131,40 ± 191,68), ZOL+ATV_систем. (1267,40 ± 165,40), ZOL+ATV_постекстр. (1449,80 ± 332,88) и ATV_локал. (1596,00 ± 297,50). Вкупната средна вредност изнесуваше 1404,69 ± 397,13.

Тестовите на распределбата (Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Вилк) не покажаа статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една група ($p > 0,05$). Левеновиот тест не покажа статистички значајна нееднаквост на варијансите ($p = 0,148$), што укажува дека претпоставката за хомогеност на варијансите е задоволена. Врз основа на исполнетите параметарски претпоставки беше применета еднофакторска ANOVA. (Табела 33 до 36 и Графикон 28 до 31.)

ANOVA анализата покажа високостатистички значајна разлика помеѓу групите во однос на активноста на СОД, $F(6, 28) = 12,910$; $p < 0,001$. Овој резултат укажува дека експерименталниот третман има значително влијание врз антиоксидативниот капацитет на ткивото. Пост-хок анализата со Такиев ХСД тест покажа дека негативната контролна група (НКГ) има статистички значајно пониска активност на СОД во споредба со ПКГ ($p < 0,001$), ZOL+ATV_систем. ($p = 0,044$), ATV_локал. ($p < 0,001$), ATV_систем. ($p < 0,001$) и ZOL+ATV_постекстр. ($p = 0,002$). Ова укажува на значително намален антиоксидативен одговор во услови на самостојна апликација на золендронска киселина. ПКГ имаше статистички значајно повисока активност во споредба со ZOL+ATV_локал. ($p = 0,002$) и ZOL+ATV_систем. ($p = 0,020$), но не и во однос на ATV_локал. и ATV_систем., што укажува на сличен антиоксидативен профил помеѓу овие групи. Дополнително, ZOL+ATV_локал. имаше статистички значајно пониска активност во споредба со ATV_локал. ($p = 0,041$) и ATV_систем. ($p = 0,001$), што сугерира дека самостојната примена на ATV е поврзана со повисок антиоксидативен капацитет во споредба со комбинираната терапија со ZOL. ATV_систем. покажа статистички значајно повисока активност во споредба со ZOL+ATV_систем. ($p = 0,012$) и ZOL+ATV_локал. ($p = 0,001$), што дополнително ја потврдува супериорноста на самостојната ATV терапија во однос на антиоксидативната активност. Хомогените подгрупи покажуваат јасна градација: НКГ формира изолирана подгрупа со најниска активност; ZOL-комбинираните групи имаат

интермедијарни вредности; додека ATV_локал., ATV_систем. и ПКГ се позиционирани во подгрупата со највисоки вредности.

Сумирано, резултатите укажуваат дека негативната контролна група има значително намалена активност на СОД, што е индикативно за изразен оксидативен стрес. Терапевтските протоколи, особено оние базирани на самостојна ATV апликација, се поврзани со значително повисок антиоксидативен капацитет, што укажува на потенцијален заштитен ефект врз оксидативниот баланс и подобрување на ткивната хомеостаза.

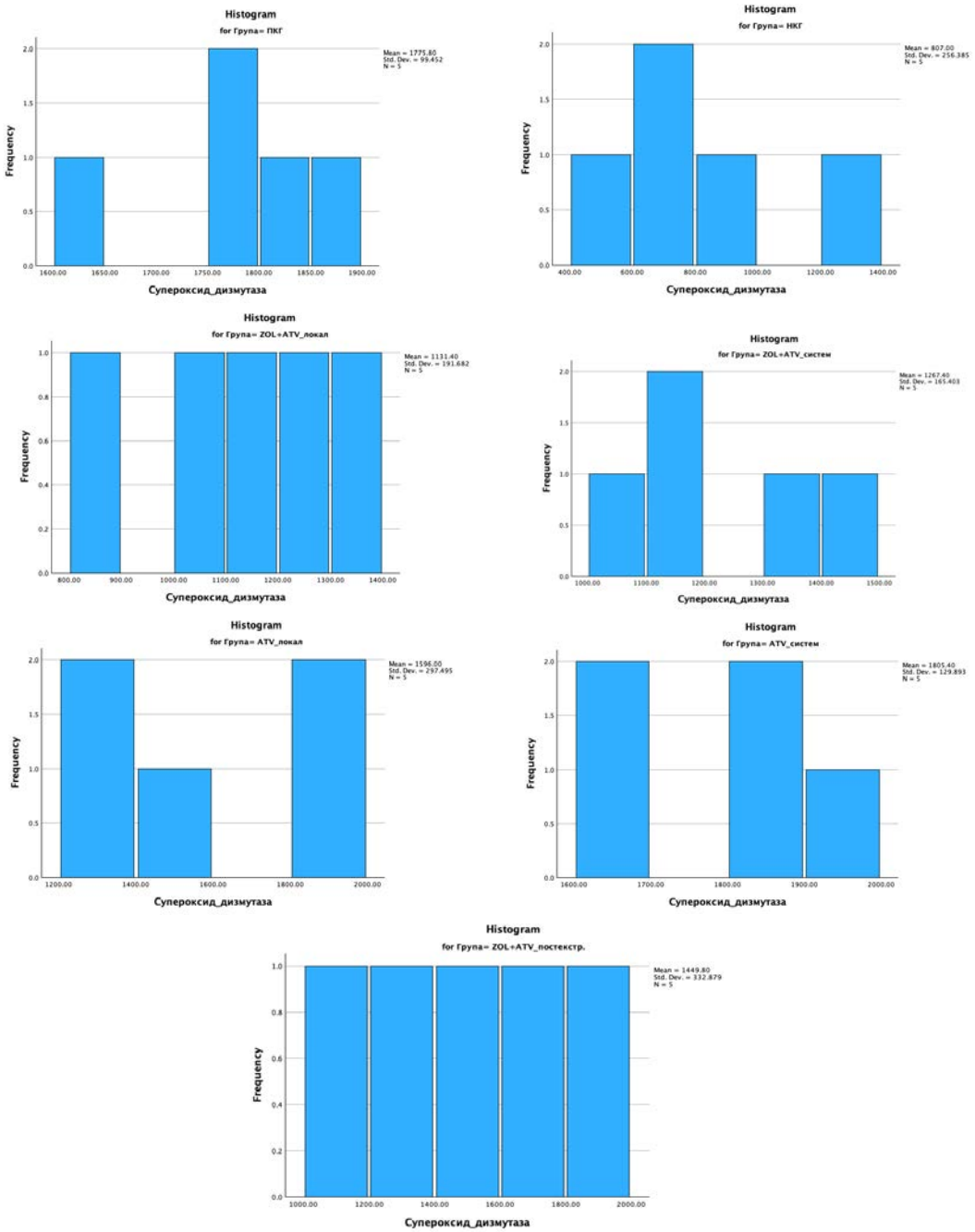
Табела 33. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на СОД во сите испитувани групи

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ПКГ	5	1775,80	99,45	44,48	1652,31	1899,29	1627	1898
НКГ	5	807,00	256,39	114,66	488,66	1125,34	497	1208
ZOL+ATV_локал.	5	1131,40	191,68	85,72	893,40	1369,40	858	1376
ZOL+ATV_систем.	5	1267,40	165,40	73,97	1062,02	1472,78	1078	1493
ATV_локал.	5	1596,00	297,50	133,04	1226,61	1965,39	1281	1972
ATV_систем.	5	1805,40	129,89	58,09	1644,12	1966,68	1677	1978
ZOL+ATV_постекстр.	5	1449,80	332,88	148,87	1036,48	1863,12	1026	1821
Total	35	1404,69	397,13	67,13	1268,27	1541,10	497	1978

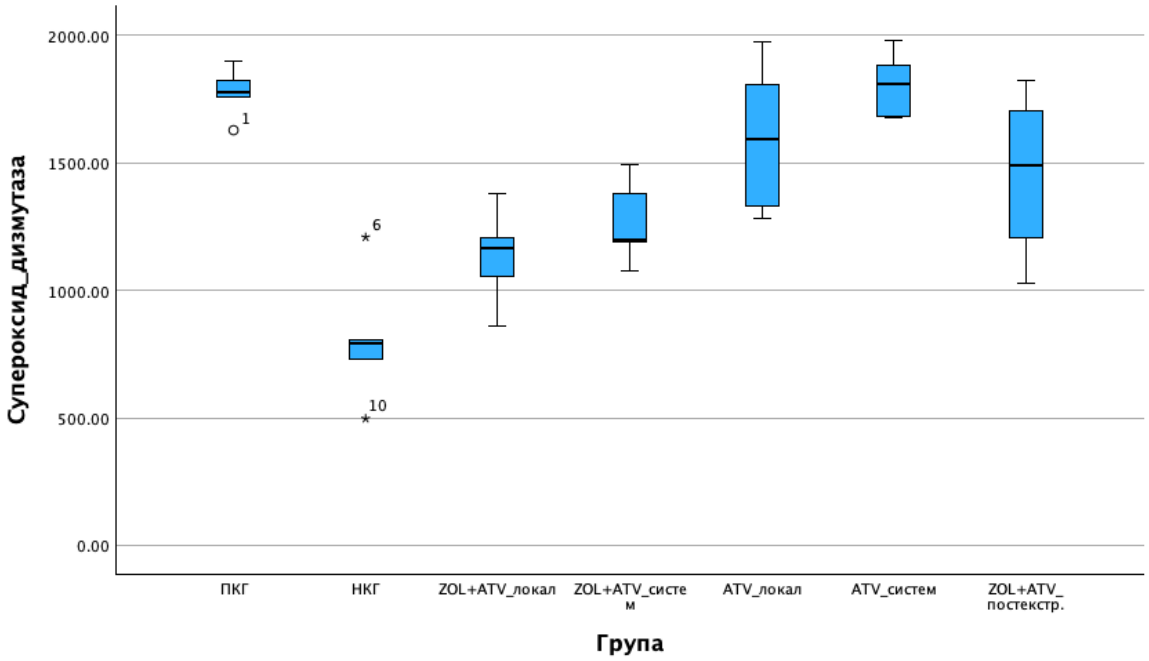
Табела 34. Тест на дистрибуција на вредностите на СОД кај стаорците (нормалност)

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Супероксид_дизмутаза	ПКГ	0,23	5	0,20*	0,97	5	0,87
	НКГ	0,30	5	0,17	0,92	5	0,51
	ZOL+ATV_локал.	0,17	5	0,20*	0,99	5	0,96
	ZOL+ATV_систем.	0,26	5	0,20*	0,94	5	0,67
	ATV_локал.	0,21	5	0,20*	0,93	5	0,59
	ATV_систем.	0,23	5	0,20*	0,91	5	0,49
	ZOL+ATV_постекстр.	0,18	5	0,20*	0,95	5	0,73

a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс.



Графикон 28. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на СОД кај стаорците во сите испитувани групи



Графикон 29. Столбест дијаграм на распределбата на СОД кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 35. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на СОД кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

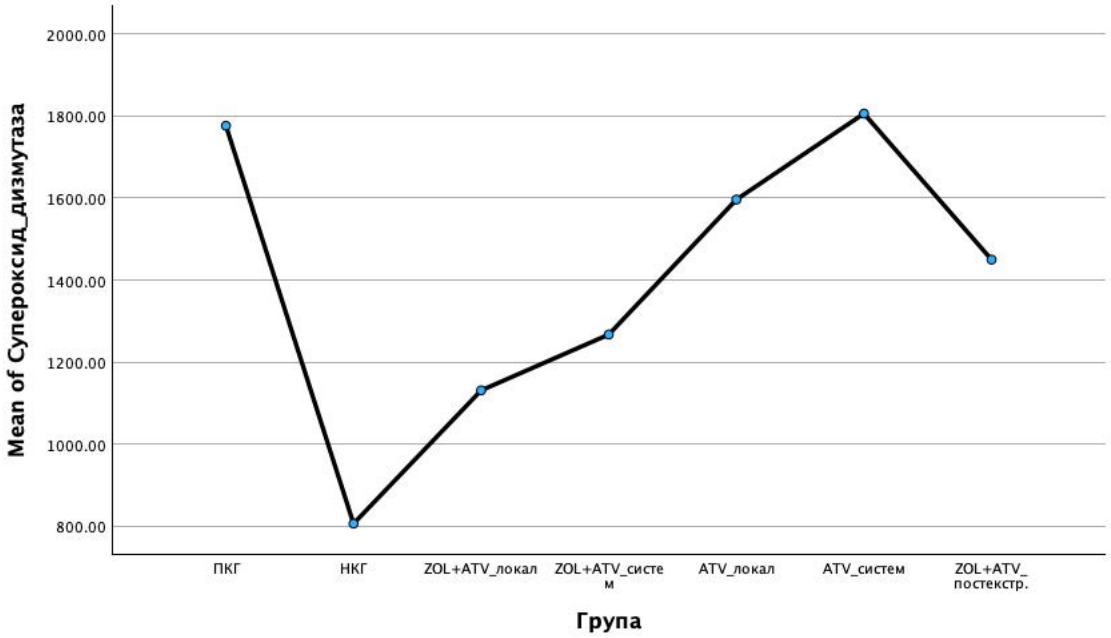
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3938474,34	6	656412,39	12,91	< 0,00
Within Groups	1423633,20	28	50844,04		
Total	5362107,54	34			

Табела 36. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на СОД

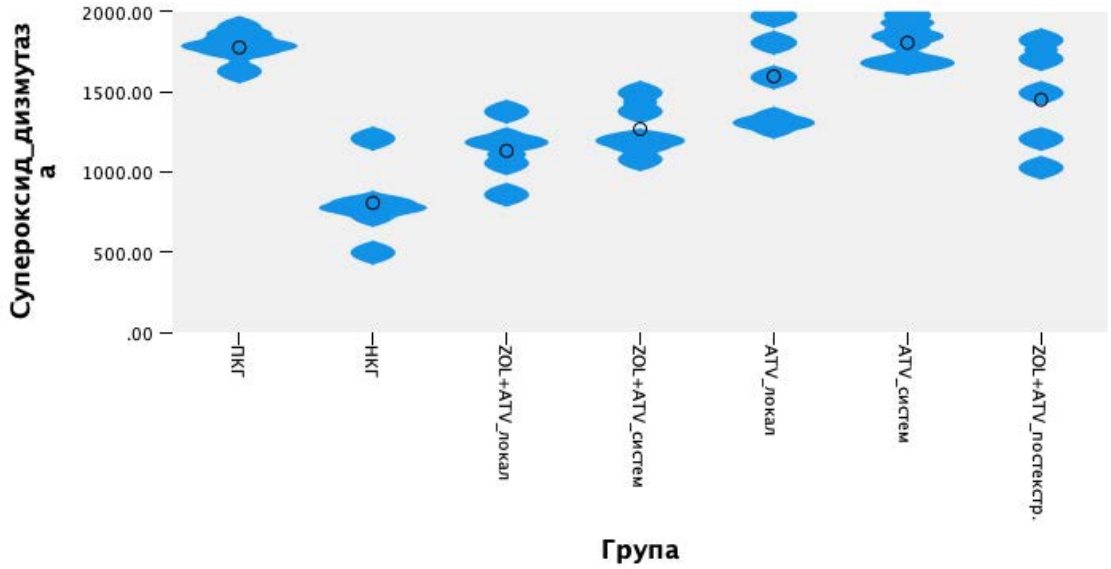
(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ПКГ	НКГ	968,80*	142,61	< 0,00	516,42	1421,18
	ZOL+ATV_локал.	644,40*	142,61	0,00	192,02	1096,78
	ZOL+ATV_систем.	508,40*	142,61	0,02	56,02	960,78
	ATV_локал.	179,80	142,61	0,86	-272,58	632,18
	ATV_систем.	-29,60	142,61	1,00	-481,98	422,78
	ZOL+ATV_постекстр.	326,00	142,61	0,29	-126,38	778,38
НКГ	ПКГ	-968,80*	142,61	< 0,00	-1421,18	-516,42
	ZOL+ATV_локал.	-324,40	142,61	0,29	-776,78	127,98
	ZOL+ATV_систем.	-460,40*	142,61	0,04	-912,78	-8,02
	ATV_локал.	-789,00*	142,61	< 0,00	-1241,38	-336,62

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ATV_систем.	-998,40*	142,61	< 0,00	-1450,78	-546,02
	ZOL+ATV_постекстр.	-642,80*	142,61	0,00	-1095,18	-190,42
ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-644,40*	142,61	0,00	-1096,78	-192,02
	НКГ	324,40	142,61	0,29	-127,98	776,78
	ZOL+ATV_систем.	-136,00	142,61	0,96	-588,38	316,38
	ATV_локал.	-464,60*	142,61	0,04	-916,98	-12,22
	ATV_систем.	-674,00*	142,61	0,00	-1126,38	-221,62
	ZOL+ATV_постекстр.	-318,40	142,61	0,31	-770,78	133,98
ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-508,40*	142,61	0,02	-960,78	-56,02
	НКГ	460,40*	142,61	0,04	8,02	912,78
	ZOL+ATV_локал.	136,00	142,61	0,96	-316,38	588,38
	ATV_локал.	-328,60	142,61	0,28	-780,98	123,78
	ATV_систем.	-538,00*	142,61	0,01	-990,38	-85,62
	ZOL+ATV_постекстр.	-182,40	142,61	0,86	-634,78	269,98
ATV_локал.	ПКГ	-179,80	142,61	0,86	-632,18	272,58
	НКГ	789,00*	142,61	< 0,00	336,62	1241,38
	ZOL+ATV_локал.	464,60*	142,61	0,04	12,22	916,98
	ZOL+ATV_систем.	328,60	142,61	0,28	-123,78	780,98
	ATV_систем.	-209,40	142,61	0,76	-661,78	242,98
	ZOL+ATV_постекстр.	146,20	142,61	0,94	-306,18	598,58
ATV_систем.	ПКГ	29,60	142,61	1,00	-422,78	481,98
	НКГ	998,40*	142,61	< 0,00	546,02	1450,78
	ZOL+ATV_локал.	674,00*	142,61	0,00	221,62	1126,38
	ZOL+ATV_систем.	538,00*	142,61	0,01	85,62	990,38
	ATV_локал.	209,40	142,61	0,76	-242,98	661,78
	ZOL+ATV_постекстр.	355,60	142,61	0,20	-96,78	807,98
ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-326,00	142,61	0,29	-778,38	126,38
	НКГ	642,80*	142,61	0,00	190,42	1095,18
	ZOL+ATV_локал.	318,40	142,61	0,31	-133,98	770,78
	ZOL+ATV_систем.	182,40	142,61	0,86	-269,98	634,78
	ATV_локал.	-146,20	142,61	0,94	-598,58	306,18
	ATV_систем.	-355,60	142,61	0,20	-807,98	96,78

*. Сигнификантно за p < 0,05.



Графикон 30. Линеарен приказ на вредностите на СОД во сите испитувани групи



Графикон 31. Виолински приказ на вредностите на СОД во сите испитувани групи

5.11. Глутатион редуктаза (ГР)

Активноста на глутатион редуктаза (ГР), како клучен ензим во регенерацијата на редуцираниот глутатион (GSH) и одржувањето на клеточниот редокс-баланс, беше анализирана кај седум експериментални групи (n = 5 по група).

Дескриптивната анализа покажа јасна градација на средните вредности помеѓу групите. Најниска средна активност беше регистрирана во негативната контролна група (НКГ: 5,572 ± 1,206), додека највисока во ATV_систем. групата (23,548 ± 2,703). Позитивната контролна група (ПКГ) имаше средна вредност од 12,022 ± 1,199. Другите групи се позиционирани интермедијарно: ZOL+ATV_локал. (8,564 ± 1,586), ZOL+ATV_систем. (10,130 ± 2,479), ZOL+ATV_постекстр. (13,640 ± 2,748) и ATV_локал. (16,062 ± 2,444). Вкупната средна вредност изнесуваше 12,791 ± 5,825.

Тестовите на дистрибуцијата (Колмогоров-Смирнов и Шапиро-Вилк) не покажаа статистички значајни отстапувања од нормална распределба во ниту една група ($p > 0,05$). Левеновиот тест за хомогеност на варијанси исто така не покажа статистички значајна разлика ($p = 0,226$), што укажува дека претпоставката за еднаквост на варијансите е задоволена. Врз основа на исполнетите параметарски претпоставки беше применета еднофакторска ANOVA. (Табела 37 до 40 и Графикон 32 до 35.)

ANOVA анализата покажа високостатистички значајна разлика помеѓу групите во однос на активноста на глутатион редуктаза, $F(6, 28) = 36,887$; $p < 0,001$. Овој резултат укажува дека експерименталниот третман има силно влијание врз антиоксидативниот ензимски систем. Пост-хок анализата со Такиев ХСД тест покажа дека НКГ има статистички значајно пониска активност во споредба со сите други групи ($p \leq 0,033$), што укажува на значително нарушен редокс-баланс во отсуство на терапевтска интервенција. ATV_систем. групата имаше статистички значајно повисока активност во споредба со сите други групи ($p < 0,001$ во сите релевантни споредби), што ја позиционира како група со најизразен антиоксидативен одговор. ATV_локал. исто така покажа значително повисоки вредности во споредба со ZOL+ATV_локал. ($p < 0,001$), ZOL+ATV_систем. ($p = 0,003$) и НКГ ($p < 0,001$), но разликата во однос на ПКГ не достигна статистичка значајност ($p = 0,078$), што укажува на сличен профил со позитивната контрола. Комбинираните ZOL+ATV групи генерално покажуваат пониски вредности во споредба со самостојната ATV терапија, при што ZOL+ATV_локал. има статистички значајно пониска активност во однос на групите во кои не е администриран ZOL. Хомогените подгрупи дополнително ја потврдуваат јасната стратификација: НКГ е изолирана како група со најниска активност; ZOL-комбинираните групи формираат интермедијарен кластер; ПКГ и ZOL+ATV_постекстр. се во средно-висока подгрупа; ATV_локал. е уште повисоко

позиционирана; додека ATV_систем. претставува посебна подгрупа со највисока ензимска активност. Сумирано, резултатите јасно укажуваат дека негативната контролна група има значително намалена активност на глутатион редуктаза, што е индикативно за изразен оксидативен стрес и нарушена регенерација на редуцираниот глутатион. Самостојната ATV терапија, особено системската апликација, е поврзана со значително зголемен антиоксидативен капацитет, што укажува на потенцијален протективен ефект врз клеточниот редокс-баланс и ткивната хомеостаза.

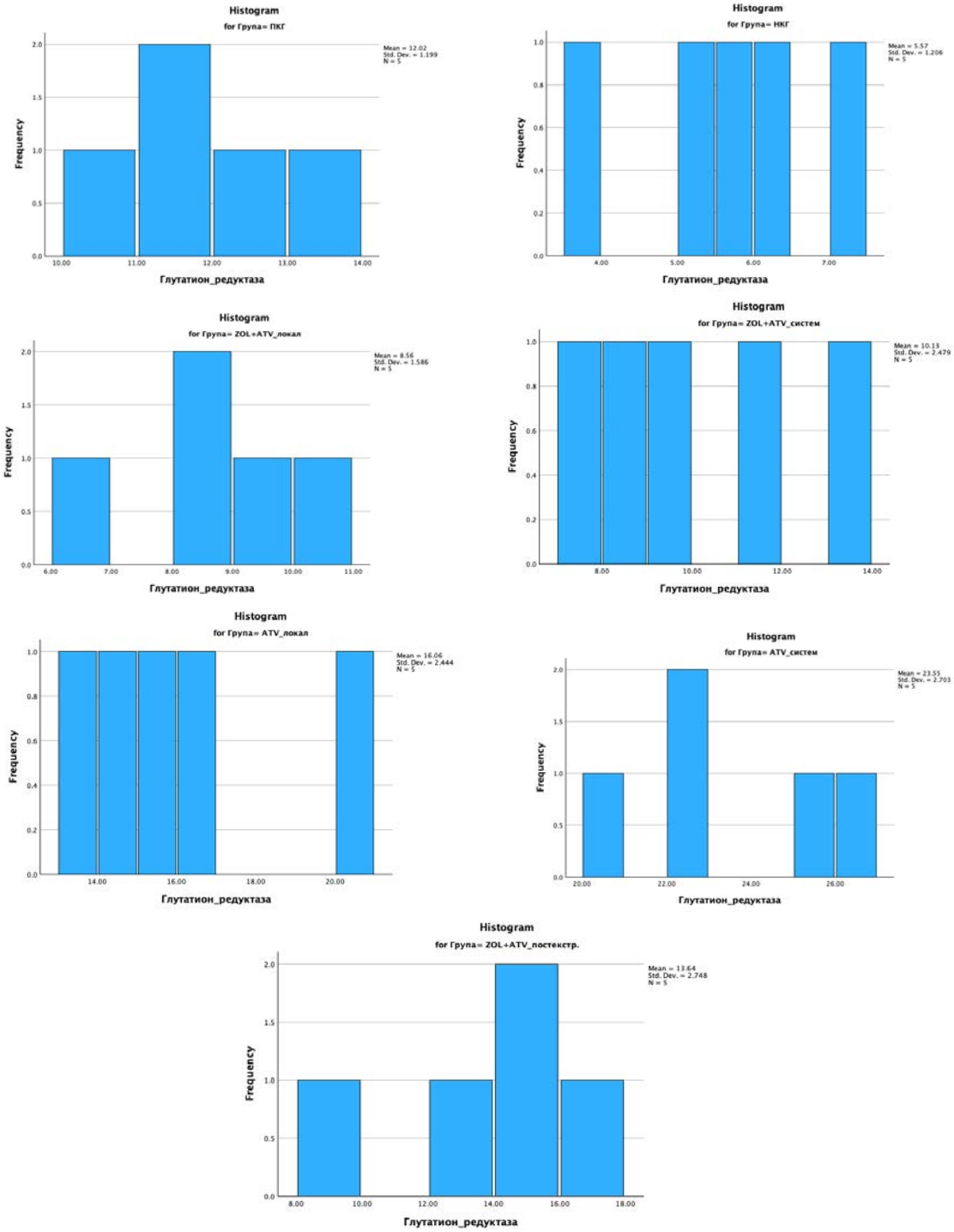
Табела 37. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на ГР во сите испитувани групи

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ПКГ	5	12,02	1,20	0,54	10,53	13,51	10,30	13,39
НКГ	5	5,57	1,21	0,54	4,07	7,07	3,94	7,21
ZOL+ATV_локал.	5	8,56	1,59	0,71	6,60	10,53	6,05	10,10
ZOL+ATV_систем.	5	10,13	2,48	1,11	7,05	13,21	7,05	13,29
ATV_локал.	5	16,06	2,44	1,09	13,03	19,10	13,98	20,00
ATV_систем.	5	23,55	2,70	1,21	20,19	26,90	20,12	26,60
ZOL+ATV_постекстр.	5	13,64	2,75	1,23	10,23	17,05	9,77	16,90
Total	35	12,79	5,82	0,98	10,79	14,79	3,94	26,60

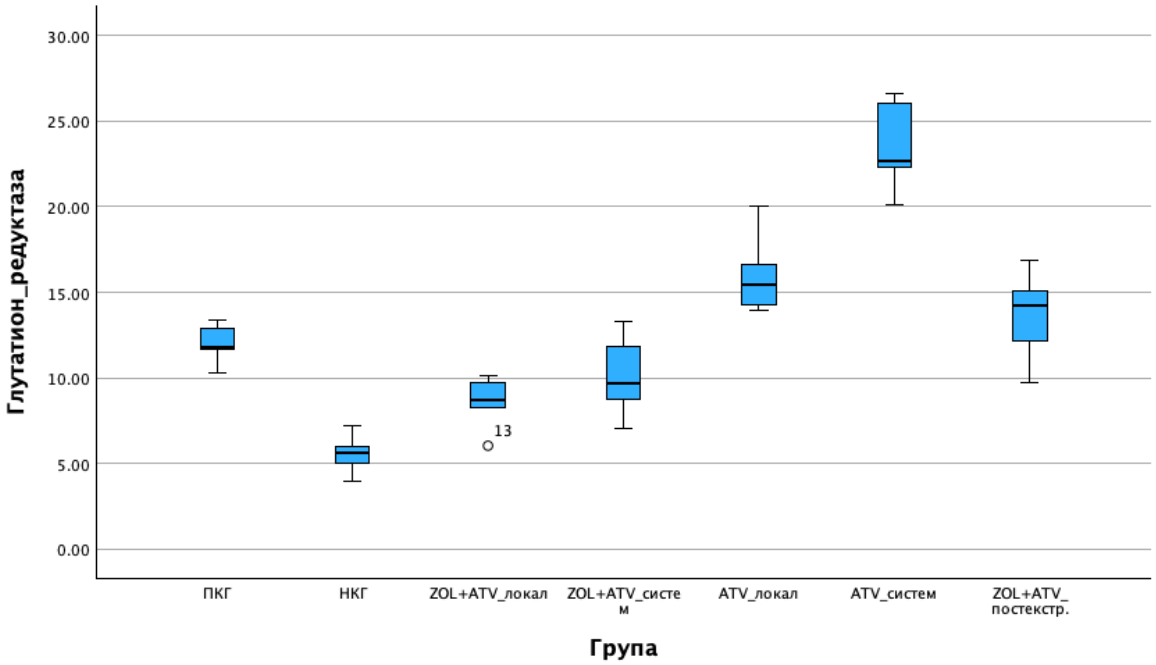
Табела 38. Тест на дистрибуција на вредностите на ГР кај стаорците (нормалност)

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
Група		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Глутатион_редуктаза	ПКГ	0,19	5	0,20*	0,96	5	0,77
	НКГ	0,16	5	0,20*	0,99	5	0,99
	ZOL+ATV_локал.	0,23	5	0,20*	0,91	5	0,49
	ZOL+ATV_систем.	0,17	5	0,20*	0,98	5	0,91
	ATV_локал.	0,21	5	0,20*	0,88	5	0,31
	ATV_систем.	0,22	5	0,20*	0,92	5	0,54
	ZOL+ATV_постекстр.	0,19	5	0,20*	0,98	5	0,93

a. Корекција на сигнификантноста по Лилифорс.



Графикон 32. Хистограм – графички приказ на фреквенциите на различните вредности на ГР кај стаорците во сите испитувани групи



Графикон 33. Столбест дијаграм на распределбата на ГР кај стаорците во сите испитувани групи

Табела 39. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на ГР кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1023,94	6	170,66	36,89	< 0,00
Within Groups	129,54	28	4,63		
Total	1153,48	34			

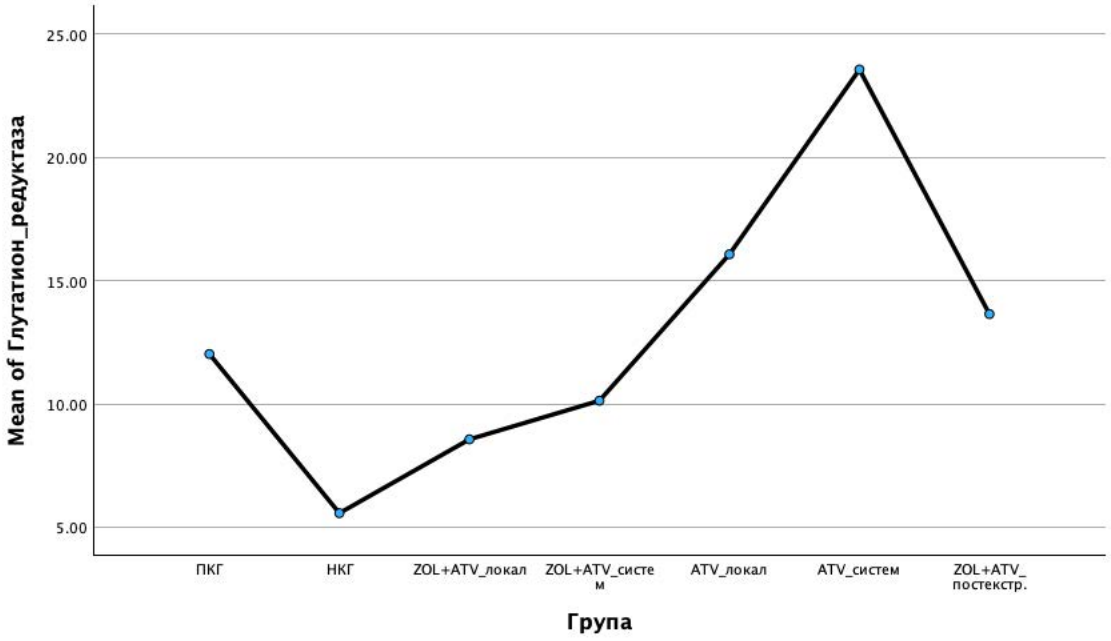
Табела 40. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на ГР

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ПКГ	НКГ	6,45*	1,36	< 0,00	2,13	10,77
	ZOL+ATV_локал.	3,46	1,36	0,18	-0,86	7,77
	ZOL+ATV_систем.	1,89	1,36	0,80	-2,42	6,21
	ATV_локал.	-4,04	1,36	0,08	-8,36	0,28
	ATV_систем.	-11,53*	1,36	< 0,00	-15,84	-7,21
	ZOL+ATV_постекстр.	-1,62	1,36	0,89	-5,93	2,70
НКГ	ПКГ	-6,45*	1,36	< 0,00	-10,77	-2,13
	ZOL+ATV_локал.	-2,99	1,36	0,33	-7,31	1,32

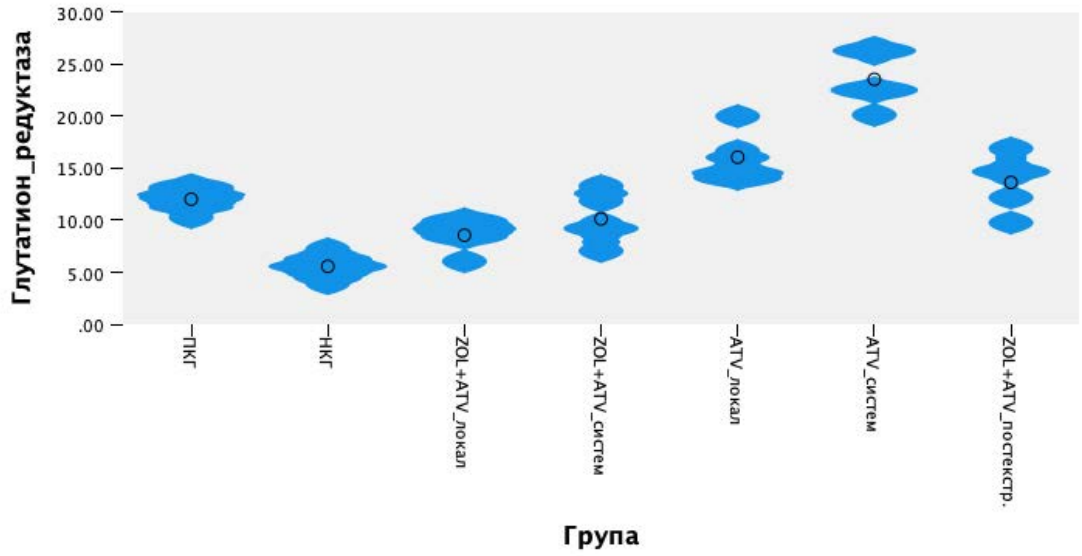
(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ZOL+ATV_систем.	-4,56*	1,36	0,03	-8,87	-0,24
	ATV_локал.	-10,49*	1,36	< 0,00	-14,81	-6,17
	ATV_систем.	-17,98*	1,36	< 0,00	-22,29	-13,66
	ZOL+ATV_постекстр.	-8,07*	1,36	< 0,00	-12,38	-3,75
ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-3,46	1,36	0,18	-7,77	0,86
	НКГ	2,99	1,36	0,33	-1,32	7,31
	ZOL+ATV_систем.	-1,57	1,36	0,91	-5,88	2,75
	ATV_локал.	-7,50*	1,36	< 0,00	-11,81	-3,18
	ATV_систем.	-14,98*	1,36	< 0,00	-19,30	-10,67
	ZOL+ATV_постекстр.	-5,08*	1,36	0,01	-9,39	-0,76
ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-1,89	1,36	0,80	-6,21	2,42
	НКГ	4,56*	1,36	0,03	0,24	8,87
	ZOL+ATV_локал.	1,57	1,36	0,91	-2,75	5,88
	ATV_локал.	-5,93*	1,36	0,00	-10,25	-1,62
	ATV_систем.	-13,42*	1,36	< 0,00	-17,73	-9,10
	ZOL+ATV_постекстр.	-3.51	1.36	0,17	-7,83	0,81
ATV_локал.	ПКГ	4,04	1,36	0,08	-0,28	8,36
	НКГ	10,49*	1,36	< 0,00	6,17	14,81
	ZOL+ATV_локал.	7,50*	1,36	< 0,00	3,18	11,81
	ZOL+ATV_систем.	5,93*	1,36	0,00	1,62	10,25
	ATV_систем.	-7,49*	1,36	< 0,00	-11,80	-3,17
	ZOL+ATV_постекстр.	2,42	1,36	0,57	-1,89	6,74
ATV_систем.	ПКГ	11,53*	1,36	< 0,00	7,21	15,84
	НКГ	17,98*	1,36	< 0,00	13,66	22,29
	ZOL+ATV_локал.	14,98*	1,36	< 0,00	10,67	19,30
	ZOL+ATV_систем.	13,42*	1,36	< 0,00	9,10	17,73

(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
	ATV_локал.	7,49*	1,36	< 0,00	3,17	11,80
	ZOL+ATV_постекстр.	9,91*	1,36	< 0,00	5,59	14,22
ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	1,62	1,36	0,89	-2,70	5,93
	НКГ	8,07*	1,36	< 0,00	3,75	12,38
	ZOL+ATV_локал.	5,08*	1,36	0,01	0,76	9,39
	ZOL+ATV_систем.	3,51	1,36	0,17	-0,81	7,83
	ATV_локал.	-2,42	1,36	0,57	-6,74	1,89
	ATV_систем.	-9,91*	1,36	< 0,00	-14,22	-5,59

*. Сигнификантно за p < 0,05.



Графикон 34. Линеарен приказ на вредностите на ГР во сите испитувани групи



Графикон 35. Виолински приказ на вредностите на ГР во сите испитувани групи

5.12. Корелација меѓу каталаза, супероксид дизмутаза и глутатион редуктаза

Корелациската анализа со Пирсоновиот коефициент покажа статистички високозначајни позитивни поврзаности помеѓу трите испитувани антиоксидативни ензими – каталаза, супероксид дизмутаза (СОД) и глутатион редуктаза (ГР) (N = 35). Помеѓу каталаза и СОД беше утврдена силна позитивна корелација ($r = 0,809$; $p < 0,001$), што укажува на тоа дека зголемувањето на активноста на едниот ензим е проследено со пропорционално зголемување на другиот. Квадратот на корелацискиот коефициент ($r^2 = 0,654$) покажува дека приближно 65,4% од варијабилноста на едниот ензим може да се објасни со варијабилноста на другиот, што претставува висок степен на заедничка варијанса и функционална поврзаност. Помеѓу каталаза и глутатион редуктаза беше утврдена умерено до силна позитивна корелација ($r = 0,600$; $p < 0,001$), при што околу 36,0% од варијабилноста е заедничка ($r^2 = 0,360$). Исто така, помеѓу СОД и ГР беше утврдена силна позитивна поврзаност ($r = 0,674$; $p < 0,001$), со околу 45,4% заедничка варијанса ($r^2 = 0,454$). Сите корелации се статистички значајни на ниво $p < 0,001$, што укажува на висока стабилност и сигурност на наодите. (Табела 41 и Графикон 36 до 38.)

Од биохемиски аспект, овие резултати се патофизиолошки конзистентни, имајќи предвид дека трите ензими претставуваат меѓусебно поврзани компоненти на

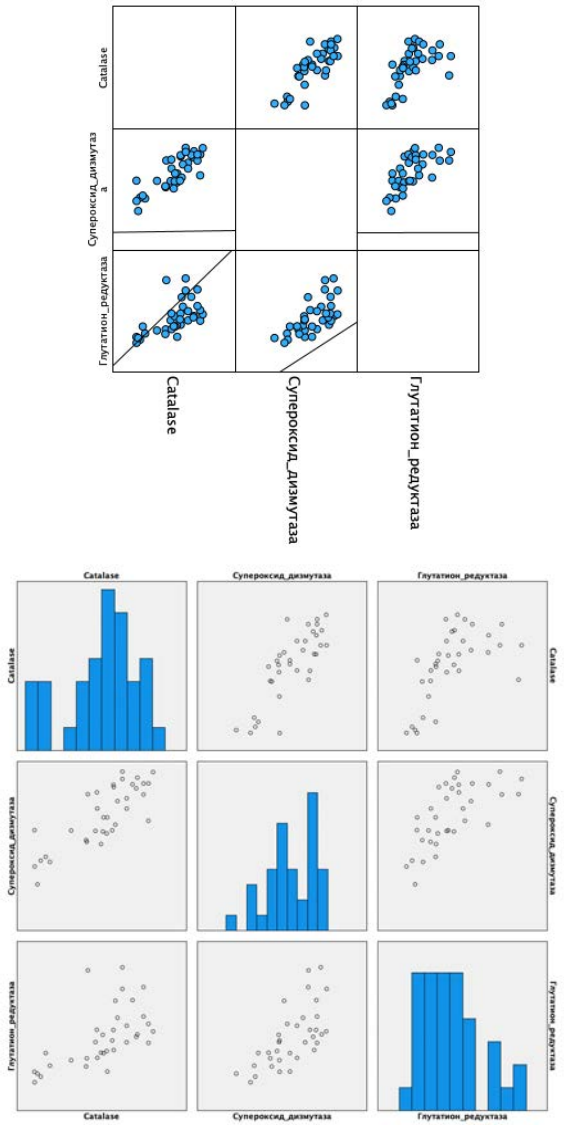
антиоксидативниот одбранбен систем. СОД ја катализира дизмутацијата на супероксидниот анјон во водороден пероксид, кој потоа се разградува од каталаза, додека глутатион редуктазата е клучна за регенерација на редуцираниот глутатион, неопходен за одржување на редокс-хомеостазата. Силните позитивни корелации укажуваат на координирана регулација и функционална синергија помеѓу овие ензимски системи. Иако корелацијата не имплицира директна каузалност, високото ниво на асоцијација укажува дека зголемувањето на активноста на еден антиоксидативен ензим најчесто е придружено со зголемена активност и на другите, што рефлектира интегриран и динамичен антиоксидативен одговор. Овие наоди дополнително ја потврдуваат конзистентноста на антиоксидативниот профил во испитуваниот модел и ја нагласуваат меѓусебната функционална поврзаност на ензимските механизми што учествуваат во контролата на оксидативниот стрес.

Табела 41. Резултат од спроведената Пирсонова корелациска анализа меѓу каталаза, СОД и ГР

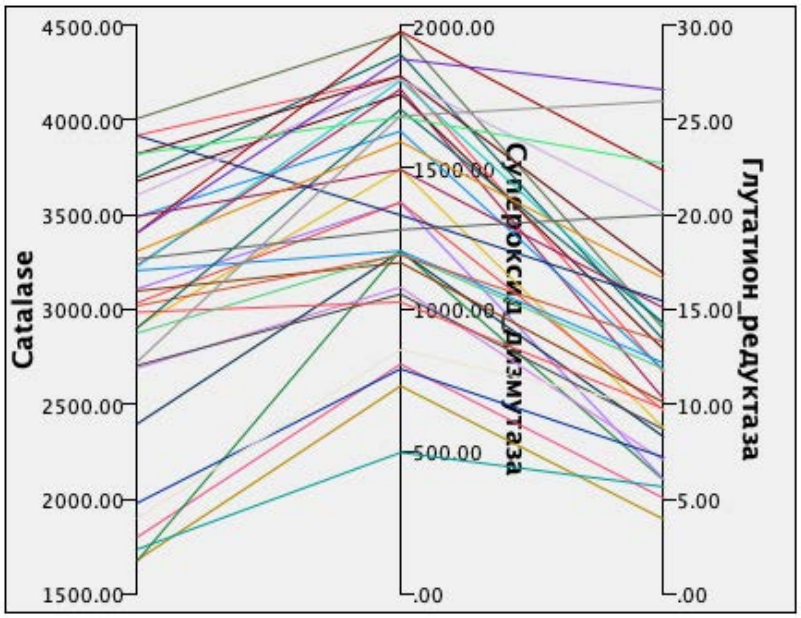
Correlations

		Каталаза	Супероксид_дизмутаза	Глутатион_редуктаза
Каталаза	Pearson Correlation	1	0,81***	0,60***
	Sig. (2-tailed)		< 0,00	< 0,00
	N	35	35	35
Супероксид_дизмутаза	Pearson Correlation	0,81***	1	0,67***
	Sig. (2-tailed)	< 0,00		< 0,00
	N	35	35	35
Глутатион_редуктаза	Pearson Correlation	0,60***	0,67***	1
	Sig. (2-tailed)	< 0,00	< 0,00	
	N	35	35	35

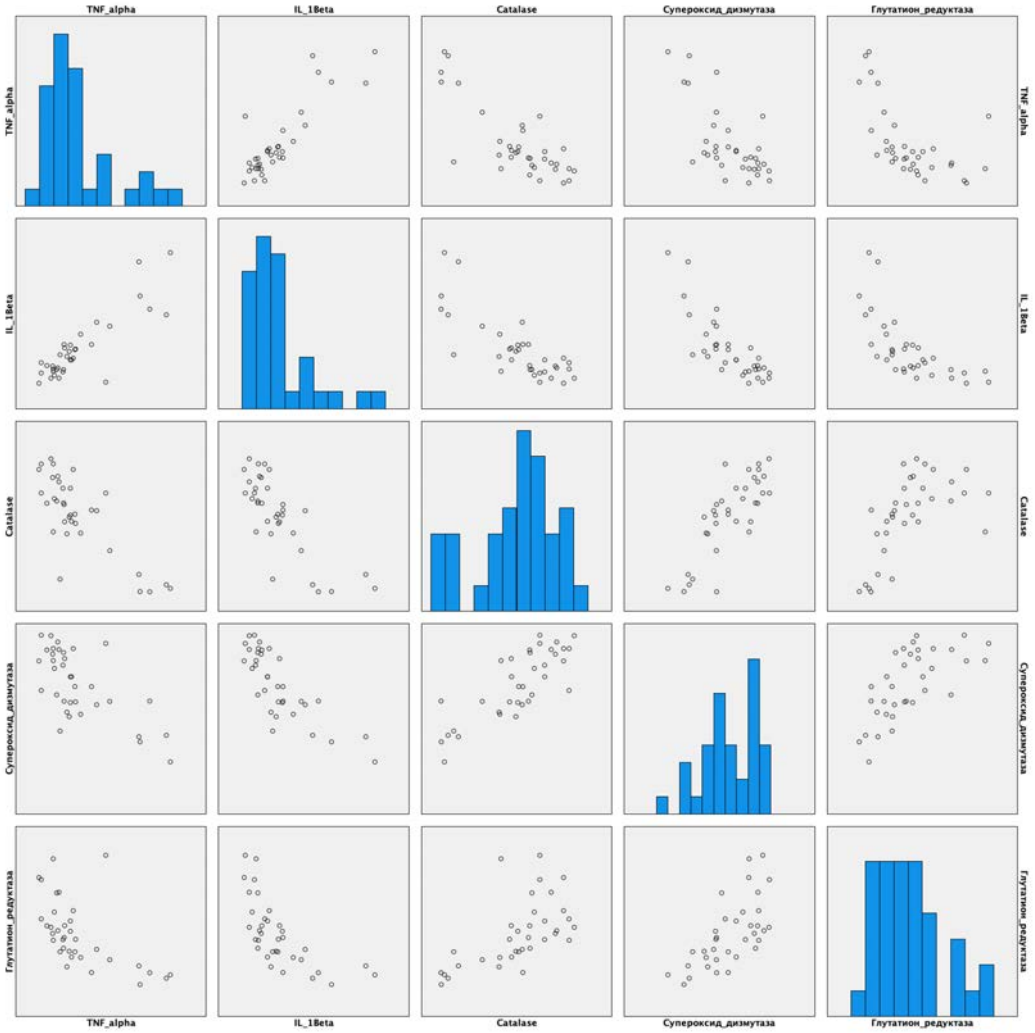
***. Корелација на 0,00 (двонасочна).



Графикон 36. Приказ на корелацијата меѓу каталаза, СОД и ГР со расејување и линеарно



Графикон 37. Паралелен приказ на корелацијата меѓу каталаза, СОД и ГР



Графикон 38. Приказ со расејување на корелациите меѓу проинфламаторните цитокини и антиоксидативниот потенцијал кај сите испитувани групи

Оксидативниот стрес денес се смета за една од централните врски што го интегрираат антиремоделирачкиот ефект на бисфосфонатите, локалната воспалителна средина по екстракција и ткивната хипоксија/микроваскуларна дисфункција во патогенезата на MRONJ. Клучно е тоа што оксидативниот стрес може да биде модификатор на клиничкиот исход на MRONJ преку нарушување на преживувањето и функцијата на остеоцитите, остеобластите и ендотелните клетки, како и преку потенцирање на проинфламаторни сигнални каскади (на пример, NF-κB) и други патишта поврзани со дисфункција на клетките. Во клинички контекст, постоењето на системски и локални нарушувања во оксидативниот стрес кај пациенти со MRONJ е документирано со повисоки показатели на липидна пероксидација и нарушен антиоксидативен капацитет во споредба со контролните групи, што го позиционира оксидативниот стрес како

релевантна биолошка рамка за интерпретација на биомаркерите во експериментални модели. (486) Во експерименталните модели, дополнително е покажано дека нарушувањето на глутатионската рамнотежа и митохондријалната функција води до зголемена остеоцитна апоптоза и компромитирана коскена микроархитектура. (487) Золедронската киселина, покрај нејзиниот примарен ефект врз мевалонскиот пат и инхибиција на остеокластите, е поврзана со митохондријална дисфункција, зголемена продукција на слободни кислородни радикали и индукција на апоптоза во коскените и ендотелните клетки. (488) Во сеопфатниот преглед на Domazetovic et al. (489), детално се објаснува дека реактивните кислородни видови учествуваат во регулацијата на остеокластната диференцијација преку активација на MAPK и NF-κB сигнални патишта, со што ја засилуваат RANKL-зависната остеокластогенеза и ја потиснуваат експресијата на OPG, што води кон дисбаланс во корист на ресорпција. Истовремено, прекумерниот оксидативен стрес ја инхибира остеобластната диференцијација преку супресија на RUNX2 и ја зголемува апоптозата на остеоцитите, што резултира со квалитативно компромитирана коска и нарушено ремоделирање. Овој редокс потенцијал, кога е комбиниран со постекстракциска инфламација и микробиолошка колонизација, создава услови за перзистентна ткивна дисфункција и развој на некротични полиња. Во таа рамка, антиоксидативните ензимски системи, како што се каталазата, супероксид дизмутазата и глутатион редуктазата имаат двојна важност. Прво, како индиректни индикатори за редокс-потенцијалот и способноста за неутрализација на реактивните кислородни видови, и второ, како маркери на капацитетот за регенерација на редуцираниот глутатион и одржување на редокс-хомеостаза.

Супероксид дисмутазата (SOD) претставува прва линија на одбрана против оксидативниот стрес, бидејќи го катализира дизмутирањето на супероксидниот анјон (O_2^-) во водород пероксид (H_2O_2) и кислород. Во коскеното ткиво, супероксидниот анјон се генерира како нус-производ на митохондријалната респирација, но и како дел од RANKL-индуцираната остеокластна сигнализација. Познато е дека RANKL-индуцираната остеокластогенеза е зависна од реактивните кислородни видови и дека нивните умерени нивоа се потребни за активација на NF-κB и MAPK патиштата што ја водат диференцијацијата на остеокластите. (488) Меѓутоа, прекумерната акумулација на супероксидот го засилува овој сигнал и води кон хиперактивна ресорпција и зголемена апоптоза на остеобласти. Намалената активност на SOD, како што е регистрирана во ZOL негативната контролна група во тезата, имплицира дека

супероксидниот анјон не е адекватно неутрализиран, што може да ја потенцира RANKL-зависната остеокластна активност и да ја наруши остеобластната функција. Во контекст на MRONJ, ваквиот редокс-дисбаланс во услови на супримиран коскен метаболизам создава парадоксална ситуација: иако остеокластите се фармаколошки инхибирани, локалната сигнализација од радикалите може да ја оштети виталноста на остеоцитите и остеобластите, да ја наруши микроциркулацијата и да придонесе за некротични фокуси. Подобрувањето на SOD во групите ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. сугерира дека аторвастатинот делумно ја нормализира почетната редокс-фаза, со што се намалува потенцијалната клеточна дисфункција.
Каталазата е втора клучна ензимска бариера, која го разградува водород пероксидот до вода и кислород. H_2O_2 е релативно стабилен реактивен кислороден вид што може да дифундира низ клеточните мембрани и да дејствува како секундарен сигнален медијатор, но во високи концентрации предизвикува оксидативно оштетување на липидите, протеините и ДНК. Во коската, акумулацијата на H_2O_2 е поврзана со зголемена апоптоза на остеоцитите и инхибиција на остеобластната диференцијација. (490) Намалената активност на каталаза во ZOL-групата укажува на потенцијална акумулација на H_2O_2, што во комбинација со воспалителните цитокини (TNF-α, IL-1β) може да ја засили NF-κB активацијата и да го одржи милјето на хроничното воспаление, карактеристично за MRONJ. Зголемувањето на каталазата во ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. групите може да се толкува како редукција на H_2O_2-зависната сигнализација и како потенцијална заштита на остеоцитите и васкуларниот ендотел, што е од суштинско значење за нормалното постекстракциско заздравување.
Глутатион редуктазата (GR) има поинаква, но еднакво критична улога. Таа го регенерира редуцираниот глутатион (GSH) од неговата оксидирана форма (GSSG), со што овозможува континуирано функционирање на глутатион-пероксидазниот систем. GSH е главниот интрацелуларен антиоксиданс и директно учествува во неутрализација на пероксиди и слободни радикали. Нарушувањето на GSH/GSSG односот е индикатор за клеточен редокс-дисбаланс и е поврзано со апоптоза и митохондријална дисфункција. Во коскеното ткиво, адекватниот глутатионски систем е неопходен за одржување на остеобластната виталност и за заштита од ROS-индуцирана клеточна смрт. Намалената GR активност во негативната контролна група укажува на нарушена способност за регенерација на GSH и потенцијално зголемена подложност на оксидативно оштетување. Ова е особено релевантно за MRONJ, каде што

митохондријалната дисфункција и оксидативното оштетување на остеоцитите се сметаат за дел од патогенетскиот спектар. Зголемувањето на GR во ZOL+ATV групите, особено во превентивните режими, сугерира дека аторвастатинот може да го стабилизира глутатионскиот систем и да ја подобри клеточната отпорност кон оксидативен стрес.

Кога овие три ензими се разгледуваат заедно, се добива интегрирана слика: SOD го намалува иницијалниот супероксиден товар, каталазата го елиминира H_2O_2, а GR го одржува глутатјонското ниво потребно за долгорочна редокс-стабилност. Нарушувањето на која било од овие компоненти може да доведе до кумулативен оксидативен стрес врз коскените клетки. Во MRONJ, каде што ZOL ја нарушува физиолошката ремоделација и локалната траума активира воспалителни и микробиолошки стимули, редокс-дисбалансот може да биде скриен катализатор на некрозата. Подобрувањето на сите три ензими во групите ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. укажува на тоа дека редокс-модулацијата е веројатен дел од механизмот преку кој аторвастатинот го подобрува клиничкиот и хистолошкиот исход. Плеотропните ефекти на статините, кои вклучуваат активација на Nrf2, намалување на NF-κB сигнализација и намалување на создавањето на реактивни кислородни видови, се добро документирани и даваат биолошко објаснување за ова подобрување. Анализата на групите ATV_локал. и ATV_систем. (без ZOL) дополнително покажува дека аторвастатинот сам по себе е поврзан со повисоки вредности на антиоксидативните ензими, што укажува на општ антиоксидативен потенцијал на лекот, независно од ZOL-индуцираното оптоварување. Овој ефект е во согласност со податоците за системски антиоксидативни ефекти на статините во различни ткива. (491) Корелациската анализа во тезата покажува негативна врска меѓу антиоксидативните ензими и клиничкиот скор ($r = -0,57$ за каталаза; $r = -0,42$ за SOD; $r = -0,35$ за GR), што потврдува дека понискиот антиоксидативен капацитет е поврзан со потежок фенотип на MRONJ. Ова е во согласност со клиничките набљудувања кај пациенти во клинички студии (486), што дава транслациска релевантност на експерименталниот модел.

Оттука, SOD, каталаза и GR не се само лабораториски параметри туку и функционални индикатори за виталноста и адаптивниот капацитет на коскеното ткиво. Нивната дисрегулација во овој MRONJ модел ја поддржува улогата на оксидативниот стрес како важен патогенетски фактор, додека нивното подобрување при додавање на аторвастатин ја зајакнува хипотезата дека редокс-модулацијата претставува

рационална стратегија за превенција и третман на MRONJ.

5.13. Мултипна регресиска анализа

5.13.1. Клиничка оценка како зависна варијабла

Со цел да се испита комбинираниот придонес на воспалителните и антиоксидативните биомаркери во објаснувањето на варијабилноста на клиничката оценка, беше спроведена мултипна линеарна регресиска анализа во која како зависна варијабла беше вклучена клиничката оценка, а како независни предиктори TNF-α, IL-1β, каталаза, супероксид-дизмутаза и глутатион редуктаза. Претходната корелациска анализа покажа дека клиничката оценка е статистички значајно позитивно поврзана со TNF-α ($r = 0,673$; $p < 0,001$) и IL-1β ($r = 0,688$; $p < 0,001$), а негативно со каталаза ($r = −0,565$; $p < 0,001$), супероксид-дизмутаза ($r = −0,423$; $p = 0,006$) и глутатион редуктаза ($r = −0,349$; $p = 0,020$), што укажува дека повисоки воспалителни параметри се асоцирани со понеповолен клинички исход, додека повисоката антиоксидативна активност е поврзана со подобра клиничка состојба. Регресискиот модел во целина беше статистички високозначаен ($F(5,29) = 7,628$; $p < 0,001$), при што коефициентот на детерминација изнесуваше $R^2 = 0,568$, односно 56,8% од варијабилноста на клиничката оценка може да се објасни со вклучените биохемиски параметри, а приспособената вредност (Adjusted $R^2 = 0,494$) потврдува стабилна објаснувачка моќ и по корекцијата за бројот на предиктори; дополнително, Дарбин-Вотсоновата статистика (Durbin-Watson) (1,960) укажува на отсуство на автокорелација на резидуалите и соодветност на моделот. И покрај значајните корелации, при истовремена контрола на сите варијабли единствен статистички значаен независен предиктор беше IL-1β ($\beta = 0,792$; $p = 0,015$), што укажува дека зголемувањето на неговата концентрација е поврзано со пораст на клиничката оценка, односно со понеповолен клинички исход, независно од влијанието на другите маркери. TNF-α ($\beta = 0,194$; $p = 0,470$), каталаза ($\beta = −0,219$; $p = 0,388$), супероксид-дизмутаза ($\beta = 0,429$; $p = 0,098$) и глутатион редуктаза ($\beta = 0,144$; $p = 0,414$) не покажаа статистички значаен независен придонес, што најверојатно се должи на изразената меѓусебна корелација помеѓу воспалителните маркери (особено TNF-α и IL-1β, $r = 0,861$) и помеѓу антиоксидативните ензими, односно на присуство на мултиколинеарност што ја намалува уникатната варијанса на поединечните

предиктори. Овие наоди укажуваат дека, иако воспалителниот и антиоксидативниот систем во целина значајно придонесуваат за објаснување на клиничката состојба, IL-1β се издвојува како најрелевантен и независен биохемиски предиктор на клиничкиот исход, што ја нагласува неговата централна улога во медијацијата на инфламаторниот процес и неговата клиничка експресија во рамките на испитуваниот модел (Табела 42 до 46 и Графикон 39 и 40).

Табела 42. Приказ на мултипните корелации меѓу испитуваните параметри во однос на клиничката оценка

Correlations

		Клиничка_оценка	TNF_alpha	IL_1Beta	Каталаза	Супероксид_дизмутаза	Глутатион_редуктаза
Pearson Correlation	Клиничка_оценка	1,00	0,67	0,69	-0,57	-0,42	-0,35
	TNF_alpha	0,67	1,00	0,86	-0,79	-0,68	-0,58
	IL_1Beta	0,69	0,86	1,00	-0,79	-0,81	-0,68
	Каталаза	-0,57	-0,79	-0,79	1,00	0,81	0,60
	Супероксид_дизмутаза	-0,42	-0,68	-0,81	0,81	1,00	0,67
	Глутатион_редуктаза	-0,35	-0,58	-0,68	0,60	0,67	1,00
Sig. (1-tailed)	Клиничка_оценка	.	<0,00	<0,00	<0,00	0,01	0,02
	TNF_alpha	0,00	.	0,00	0,00	0,00	0,00
	IL_1Beta	0,00	0,00	.	0,00	0,00	0,00
	Каталаза	0,00	0,00	0,00	.	0,00	0,00
	Супероксид_дизмутаза	0,01	0,00	0,00	0,00	.	0,00
	Глутатион_редуктаза	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	.
N	Клиничка_оценка	35	35	35	35	35	35
	TNF_alpha	35	35	35	35	35	35
	IL_1Beta	35	35	35	35	35	35
	Каталаза	35	35	35	35	35	35
	Супероксид_дизмутаза	35	35	35	35	35	35
	Глутатион_редуктаза	35	35	35	35	35	35

Табела 43. Резиме на моделирањето на регресиската анализа по Дарбин-Вотсон

Model Summary[b]

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	PRESS	Durbin-Watson
1	0,75[a]	0,57	0,49	0,67	22,12	1,96

а. Предиктори: Глутатион_редуктаза, TNF_alpha, Супероксид_дизмутаза, Каталаза, IL_1Beta

б. Зависна варијабла: Клиничка_оценка

Табела 44. Приказ на регресиската анализа на варијансата

ANOVA[a]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	16,98	5	3,40	7,63	< 0,00[b]
	Residual	12,91	29	0,45		
	Total	29,89	34			

а. Зависна варијабла: Клиничка_оценка

б. Предиктори: Глутатион_редуктаза, TNF_alpha, Супероксид_дизмутаза, Каталаза, IL_1Beta

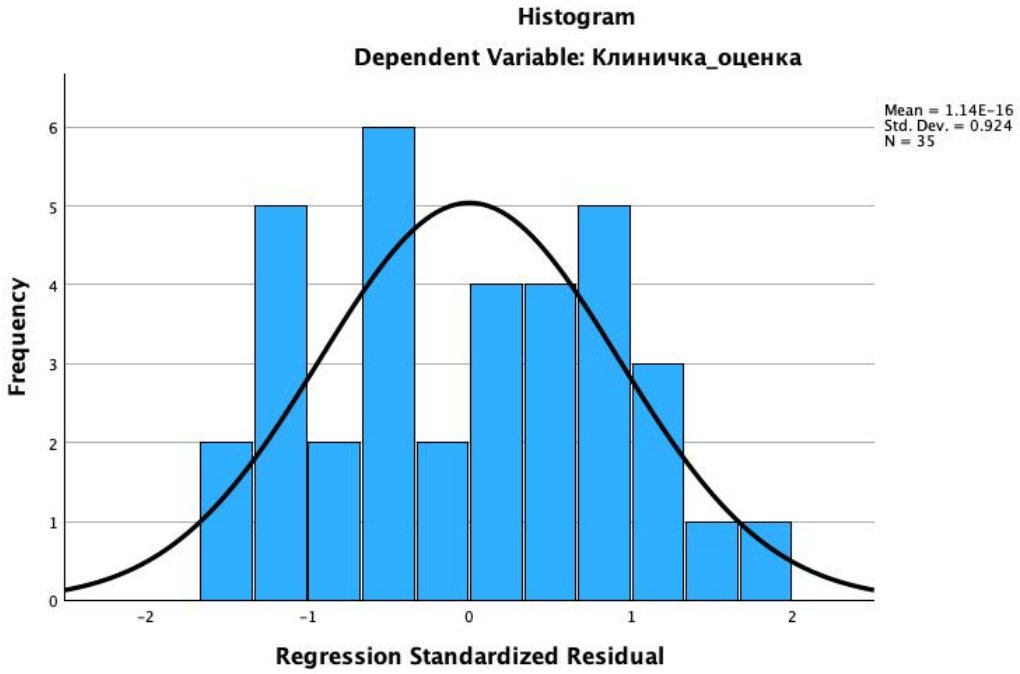
Табела 45. Коефициенти на мултипната регресиска анализа во однос на клиничката оценка

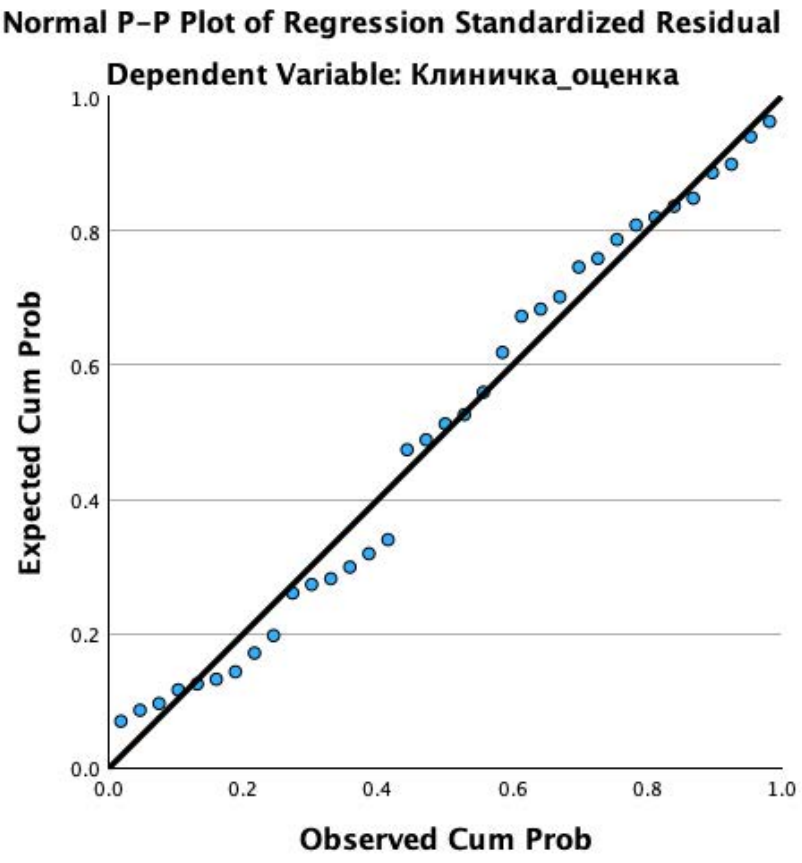
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	95,00% Confidence Interval for B		Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound	Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	-2,16	1,44		-1,50	0,15	-5,12	0,79			
	TNF_alpha	0,00	0,00	0,19	0,73	0,47	-0,01	0,01	0,67	0,14	0,09
	IL_1Beta	0,01	0,01	0,79	2,59	0,02	0,00	0,02	0,69	0,43	0,32
	Каталаза	0,00	0,00	-0,22	-0,88	0,39	-0,00	0,00	-0,57	-0,16	-0,11
	СОД	0,00	0,00	0,43	1,71	0,10	0,00	0,00	-0,42	0,30	0,21
	ГР	0,02	0,03	0,14	0,83	0,41	-0,03	0,08	-0,35	0,15	0,10

а. Зависна варијабла: Клиничка оценка

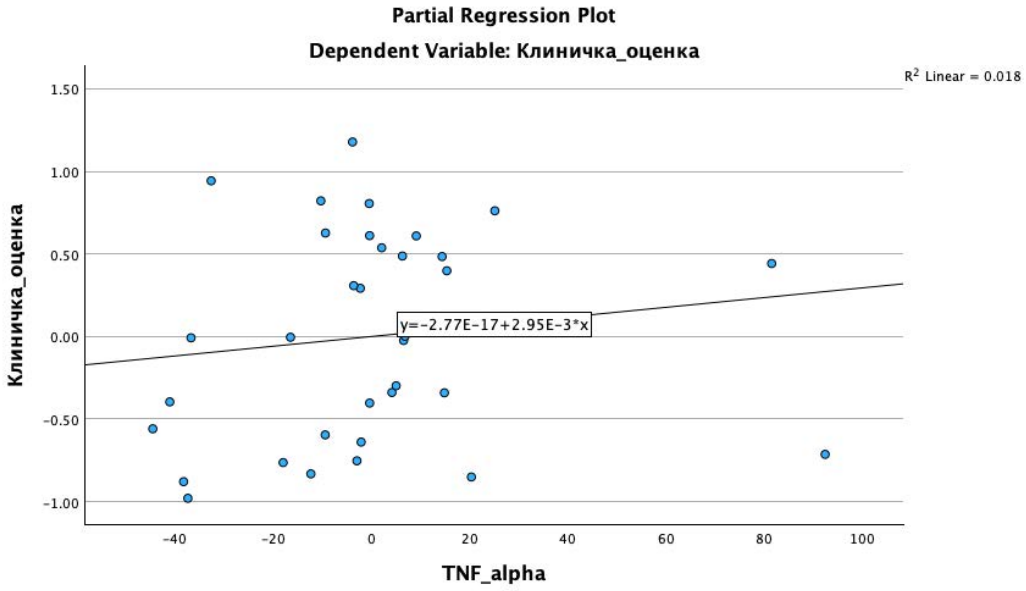
Табела 46. Резидуална статистика (зависна варијабла: клиничка оценка)

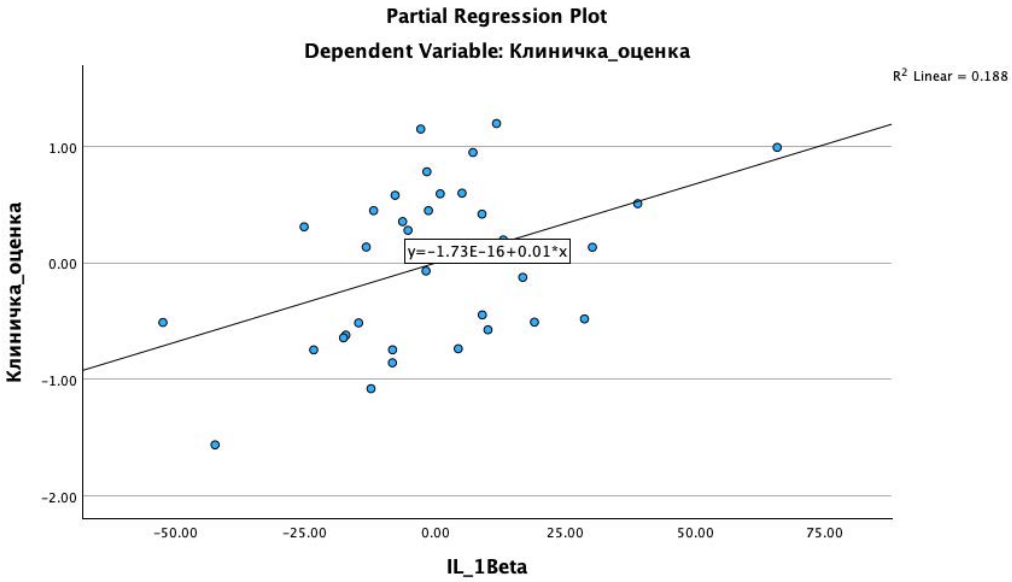
	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	0,15	3,02	0,94	0,71	35
Residual	-0,99	1,19	0,00	0,62	35
Std. Predicted Value	-1,13	2,94	0,00	1,00	35
Std. Residual	-1,48	1,78	0,00	0,92	35

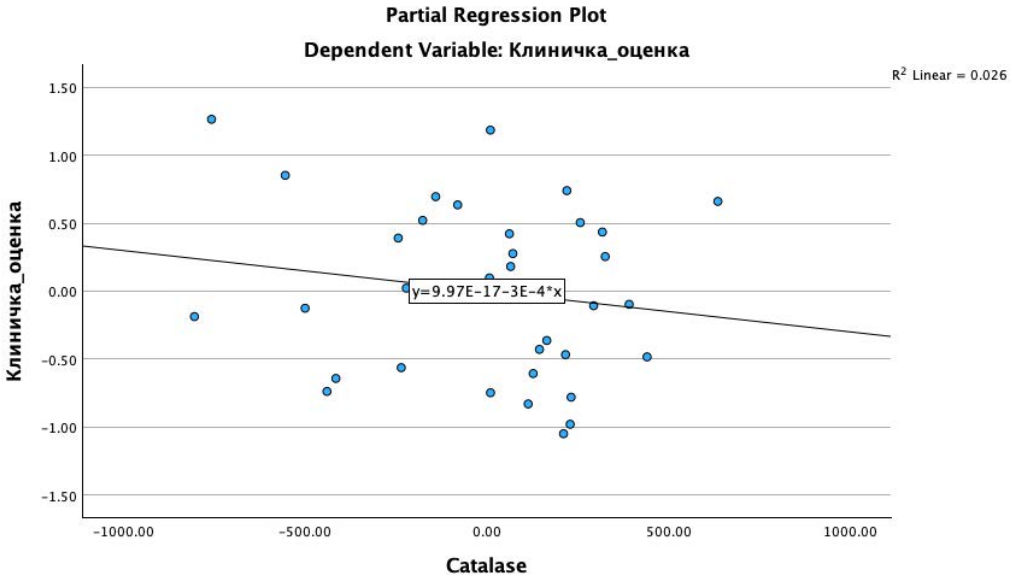


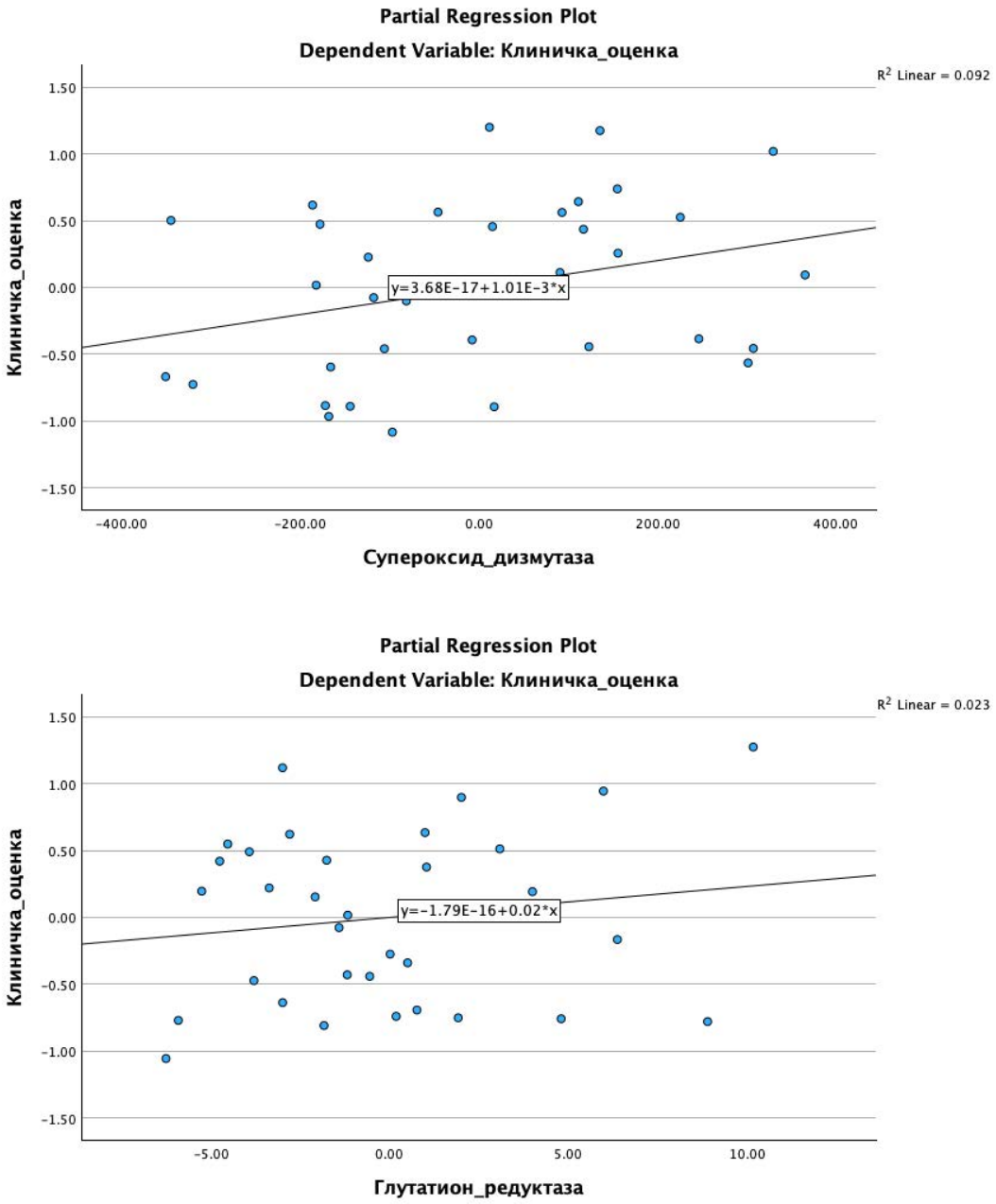


Графикон 39. Хистограм и линеарен приказ на стандардизирана резидуална регресија во однос на клиничката оценка




Partial Regression Plot
Dependent Variable: Клиничка_оценка
R² Linear = 0.188
y=-1.73E-16+0.01*x
Клиничка_оценка
IL_1Beta
1.00
0.00
-1.00
-2.00
-50.00
-25.00
0.00
25.00
50.00
75.00


Partial Regression Plot
Dependent Variable: Клиничка_оценка
R² Linear = 0.026
y=9.97E-17-3E-4*x
Клиничка_оценка
Catalase
1.50
1.00
0.50
0.00
-0.50
-1.00
-1.50
-1000.00
-500.00
0.00
500.00
1000.00



Графикон 40. Приказ на регресиската анализа со расејување за секој параметар посебно (парцијално) во однос на зависната варијабла (клиничка оценка)

5.13.2. Патохистолошка остеонекроза како зависна варијабла

Со цел да се испита придонесот на воспалителните и антиоксидативните биомаркери во објаснувањето на појавата на хистолошки потврдена остеонекроза (Остеонекроза_ПХ), беше спроведена мултипна линеарна регресиска анализа со TNF-α, IL-1β, каталаза, супероксид дизмутаза и глутатион редуктаза како независни предиктори. Корелациската анализа покажа дека остеонекрозата е статистички значајно позитивно поврзана со TNF-α ($r = 0,624$; $p < 0,001$) и IL-1β ($r = 0,642$; $p <$

0,001), а негативно со каталаза (r = −0,457; p = 0,003), супероксид-дизмутаза (r = −0,515; p < 0,001) и глутатион редуктаза (r = −0,436; p = 0,004), што укажува дека појавата на остеонекроза е асоцирана со повисок воспалителен и понизок антиоксидативен профил (Табела 47 до 51 и Графикон 41 и 42).

Регресискиот модел во целина беше статистички значаен (F(5,29) = 4,943; p = 0,002), со коефициент на детерминација R^2 = 0,460, што значи дека 46,0% од варијабилноста на појавата на остеонекроза може да се објасни со вклучените биохемиски параметри, додека приспособената вредност (Adjusted R^2 = 0,367) укажува на умерена, но стабилна објаснувачка моќ на моделот. Дарбин-Вотсоновата статистика од 2,442 укажува на отсуство на автокорелација на резидуалите. И покрај статистички значајните нулта-редни корелации, ниту еден од индивидуалните предиктори не покажа статистички значаен независен придонес во мултиваријантниот модел: TNF-α (β = 0,431; p = 0,158), IL-1β (β = 0,399; p = 0,252), каталаза (β = 0,341; p = 0,231), супероксид-дизмутаза (β = −0,173; p = 0,542) и глутатион редуктаза (β = −0,003; p = 0,988). Овој резултат укажува на присуство на изразена мултиколинеарност, особено помеѓу TNF-α и IL-1β (r = 0,861), како и помеѓу антиоксидативните ензими, што ја намалува нивната уникатна варијанса кога се анализираат истовремено во истиот модел.

Сумирано, резултатите покажуваат дека воспалителниот и антиоксидативниот профил во целина имаат значајна предиктивна вредност за појавата на хистолошки потврдена остеонекроза, при што зголемената инфламаторна активност и намалениот антиоксидативен капацитет се поврзани со повисока веројатност за настанот. Сепак, ниту еден биомаркер не се издвојува како независен предиктор во присуство на другите, што укажува дека остеонекрозата е резултат на комплексна, мултифакторна патофизиолошка интеракција помеѓу воспалителните и редокс-механизмите.

Табела 47. Приказ на мултипните корелации меѓу испитуваните параметри во однос на патохистолошки потврдената остеонекроза

		Остеонекроза_ПХ	TNF_alpha	IL_1Beta	Каталаза	СОД	ГР
Pearson Correlation	Остеонекроза_ПХ	1,000	0,624	0,642	-0,457	-0,515	-0,436
	TNF_alpha	0,624	1,000	0,861	-0,791	-0,682	-0,580
	IL_1Beta	0,642	0,861	1,000	-0,790	-0,807	-0,679
	Каталаза	-0,457	-0,791	-0,790	1,000	0,809	0,600
	СОД	-0,515	-0,682	-0,807	0,809	1,000	0,674
	ГР	-0,436	-0,580	-0,679	0,600	0,674	1,000
Sig. (1-tailed)	Остеонекроза_ПХ	.	< 0,001	< 0,001	0,003	< 0,001	0,004
	TNF_alpha	0,000	.	0,000	0,000	0,000	0,000
	IL_1Beta	0,000	0,000	.	0,000	0,000	0,000
	Каталаза	0,003	0,000	0,000	.	0,000	0,000
	СОД	0,001	0,000	0,000	0,000	.	0,000
	ГР	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	.
N	Остеонекроза_ПХ	35	35	35	35	35	35
	TNF_alpha	35	35	35	35	35	35
	IL_1Beta	35	35	35	35	35	35
	Каталаза	35	35	35	35	35	35
	СОД	35	35	35	35	35	35
	ГР	35	35	35	35	35	35

Табела 48. Резиме на моделирањето на регресиската анализа по Дарбин-Вотсон

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	PRESS	Durbin-Watson
1	0,678[a]	0,460	0,367	0,37474	5,467	2,442

а. Предиктори: Глутатион_редуктаза, TNF_alpha, Супероксид_дизмутаза, Catalase, IL_1Beta

б. Зависна варијабла: Остеонекроза_ПХ

Табела 49. Приказ на регресиската анализа на варијансата

ANOVA[a]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	3,470	5	0,694	4,943	0,002[b]
	Residual	4,072	29	0,140		
	Total	7.543	34			

а. Зависна варијабла: Остеонекроза_ПХ

б. Предиктори: Глутатион_редуктаза, TNF_alpha, Супероксид_дизмутаза, Catalase, IL_1Beta

Табела 50. Коефициенти на мултипната регресиска анализа во однос на патохистолошки потврдената остеонекроза

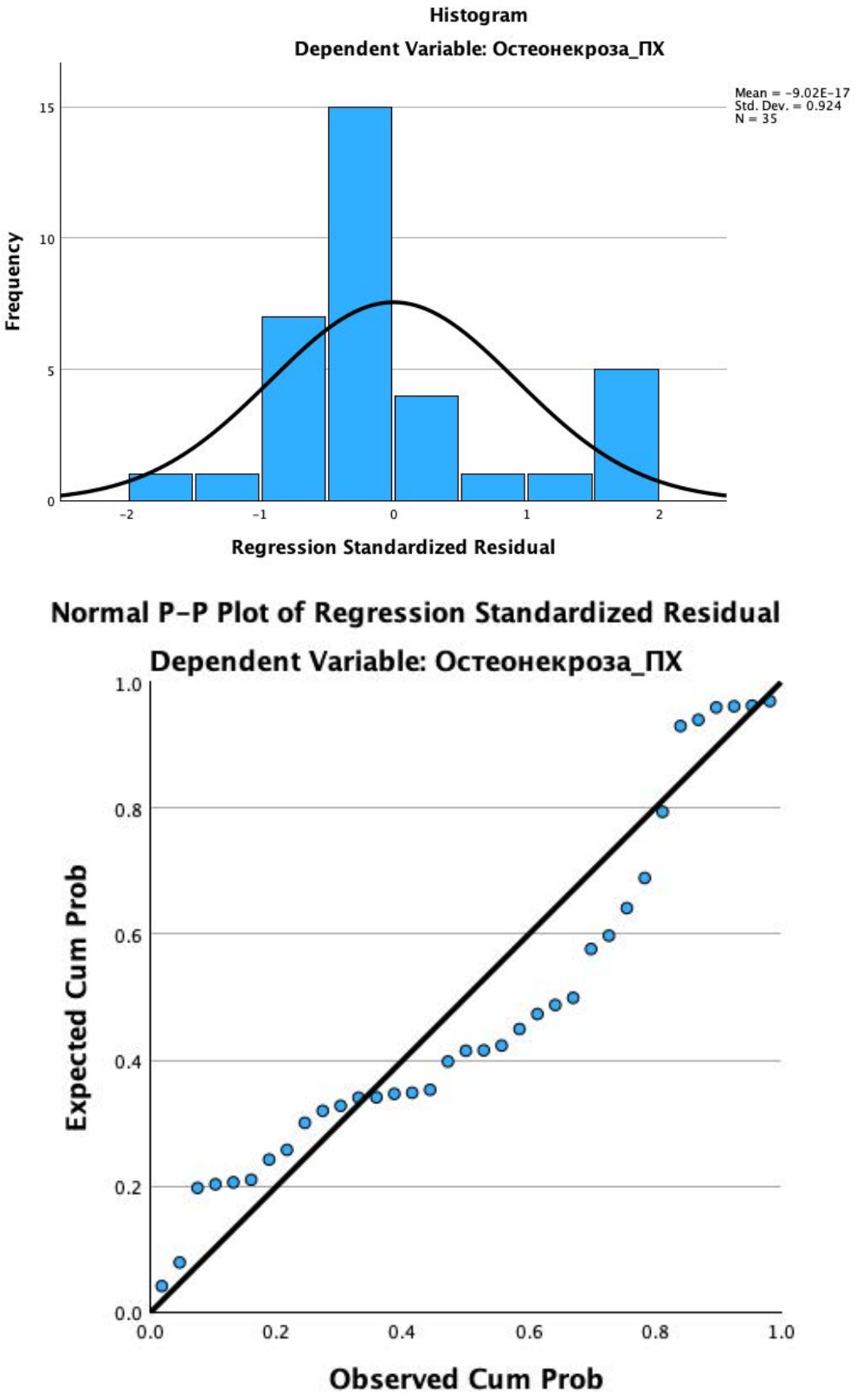
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	95.0% Confidence Interval for B		Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound	Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	-0,046	0,811		-0,057	0,955	-1,704	1,611			
	TNF_alpha	0,003	0,002	0,431	1,451	0,158	-0,001	0,008	0,624	0,260	0,198
	IL_1Beta	0,003	0,003	0,399	1,170	0,252	-0,003	0,009	0,642	0,212	0,160
	Каталаза	0,000	0,000	0,341	1,222	0,231	0,000	0,001	-0,457	0,221	0,167
	СОД	0,000	0,000	-0,173	-0,618	0,542	-0,001	0,000	-0,515	-0,114	-0,084
	ГР	0,000	0,016	-0,003	-0,015	0,988	-0,032	0,032	-0,436	-0,003	-0,002

a. Зависна варијабла: Остеонекроза_ПХ

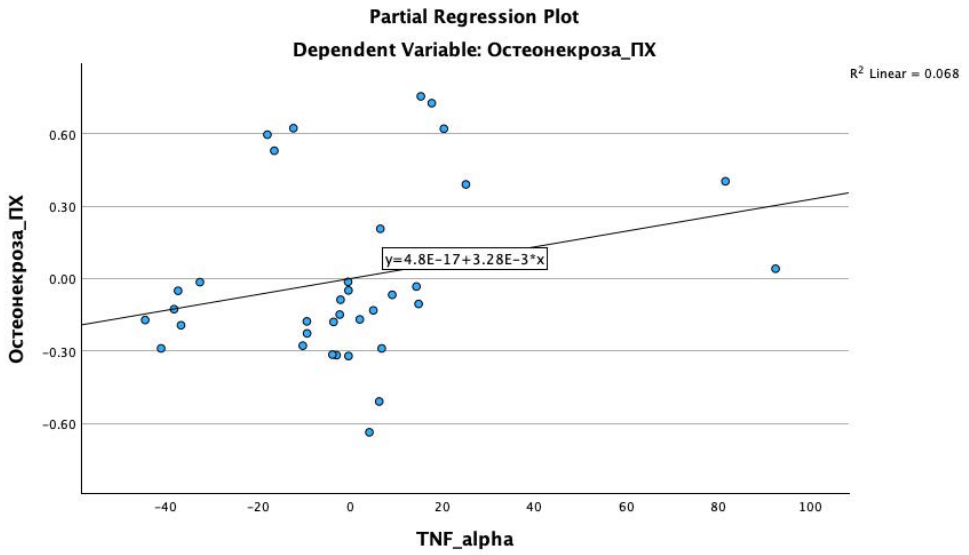
Табела 51. Резидуална статистика (зависна варијабла: патохистолошки потврдена остеонекроза)

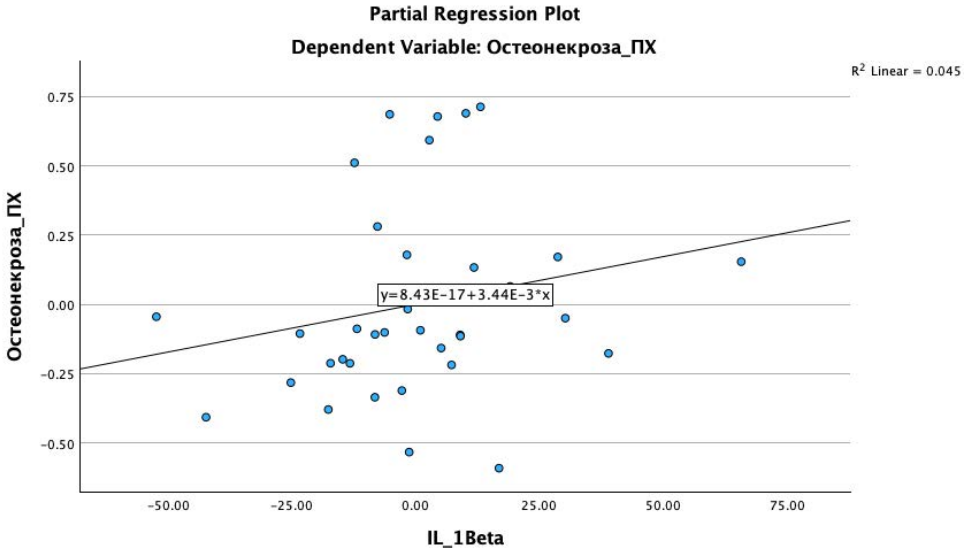
	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	0,9074	2,3113	1,3143	0,31949	35
Residual	-0,64971	0,70423	0,00000	0,34609	35
Std. Predicted Value	-1,273	3,121	0,000	1,000	35
Std. Residual	-1,734	1,879	0,000	0,924	35

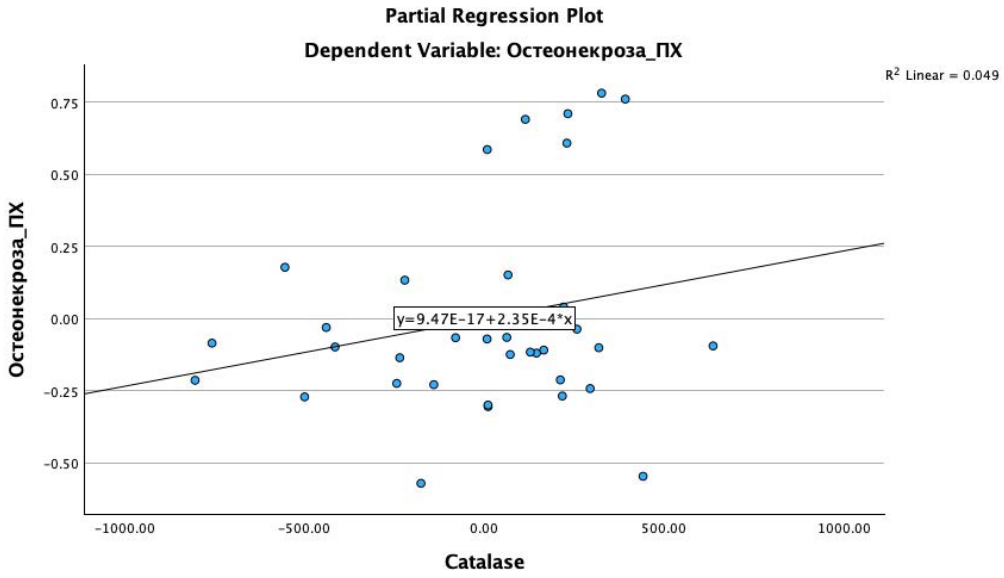
a. Зависна варијабла: Остеонекроза_ПХ

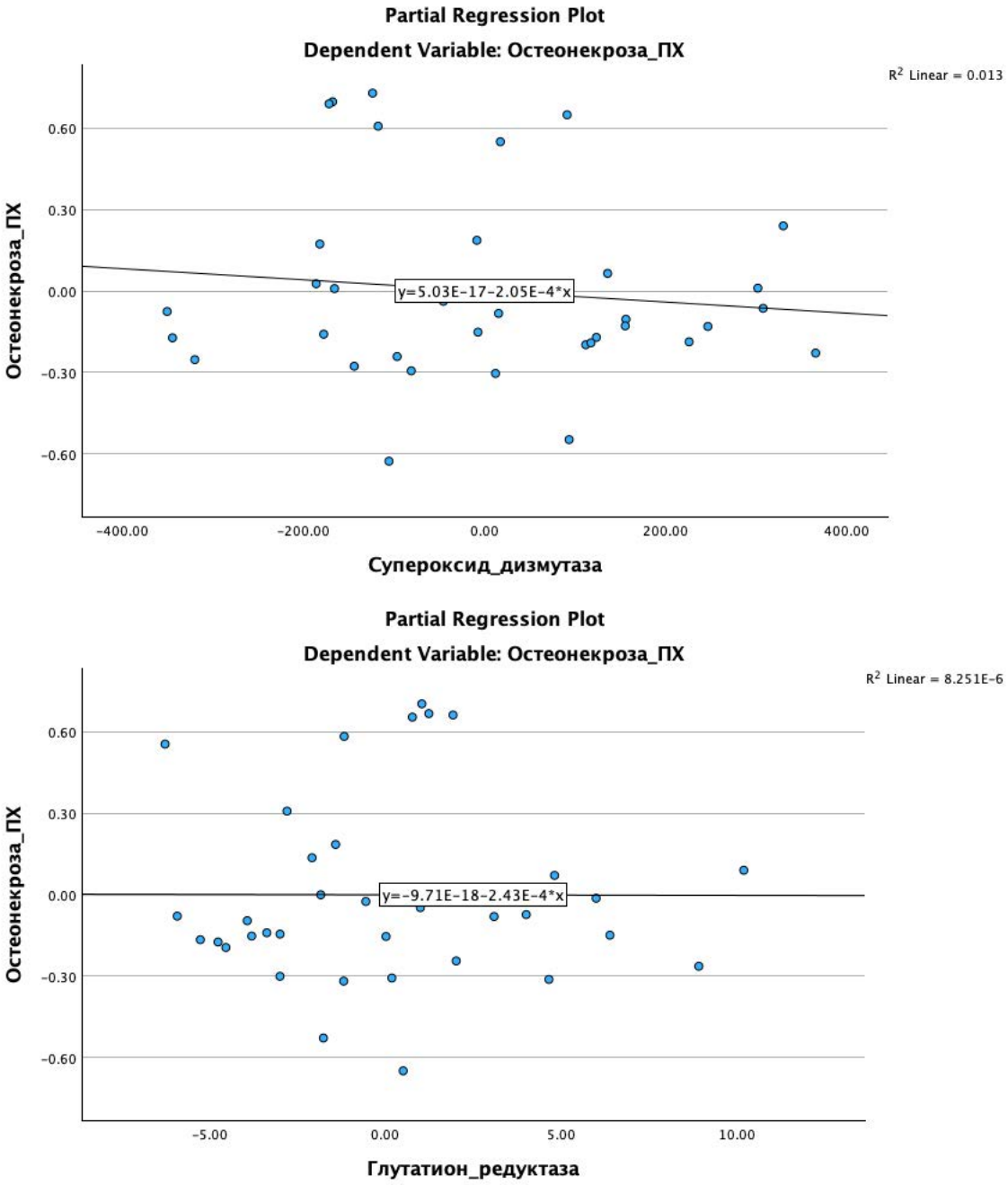


Графикон 41. Хистограм и линеарен приказ на стандардизирана резидуална регресија во однос на патохистолошки потврдената остеонекроза како зависна варијабла


Partial Regression Plot
Dependent Variable: Остеонекроза_ПХ
R² Linear = 0.068
y=4.8E-17+3.28E-3*x
Остеонекроза_ПХ
TNF_alpha


Partial Regression Plot
Dependent Variable: Остеонекроза_ПХ
R² Linear = 0.045
y=8.43E-17+3.44E-3*x
Остеонекроза_ПХ
IL_1Beta


Partial Regression Plot
Dependent Variable: Остеонекроза_ПХ
R² Linear = 0.049
y=9.47E-17+2.35E-4*x
Остеонекроза_ПХ
Catalase



Графикон 42. Приказ на регресиската анализа со расејување за секој параметар посебно (парцијално) во однос на зависната варијабла (патохистолошки потврдена остеонекроза)

5.13.3. CBCT анализа како зависна варијабла

Со цел да се испита придонесот на воспалителните и антиоксидативните биомаркери во предвидувањето на радиолошката тежина на лезијата, беше спроведена мултипна линеарна регресиска анализа со CBCT_оценка како зависна варијабла и TNF-α, IL-1β, каталаза, супероксид-дизмутаза и глутатион редуктаза како независни предиктори. Првичната корелациска анализа покажа дека CBCT_оценка е статистички значајно

позитивно поврзана со TNF-α ($r = 0,762$; $p < 0,001$) и особено силно со IL-1β ($r = 0,876$; $p < 0,001$), додека е негативно корелирана со каталаза ($r = −0,671$; $p < 0,001$), супероксид-дизмутаза ($r = −0,736$; $p < 0,001$) и глутатион редуктаза ($r = −0,538$; $p < 0,001$), што укажува дека повисоката радиолошка деструкција е поврзана со поизразен воспалителен одговор и намален антиоксидативен капацитет. Регресискиот модел во целина беше високостатистички значаен ($F(5,29) = 21,295$; $p < 0,001$), со коефициент на детерминација $R^2 = 0,786$, што значи дека 78,6% од варијабилноста на CBCT оценката може да се објасни со вклучените биохемиски параметри, а приспособената вредност (Adjusted $R^2 = 0,749$) потврдува висока објаснувачка моќ и по корекција за бројот на предиктори; Дарбин-Вотсоновата статистика од 2,128 укажува на отсуство на автокорелација на резидуалите и соодветност на моделот. И покрај тоа што повеќе варијабли покажуваат силни нулта-редни корелации со CBCT_оценка, во мултиваријантниот модел единствен статистички значаен независен предиктор беше IL-1β ($\beta = 0,834$; $p < 0,001$), со пропорционален ефект, што значи дека повисоките вредности на IL-1β се поврзани со повисока радиолошка оценка, односно со поголем степен на коскена деструкција. TNF-α ($\beta = 0,104$; $p = 0,583$), каталаза ($\beta = 0,161$; $p = 0,368$), супероксид-дизмутаза ($\beta = −0,214$; $p = 0,236$) и глутатион редуктаза ($\beta = 0,136$; $p = 0,276$) не покажаа статистички значаен независен придонес, што може да се објасни со изразената меѓусебна корелација помеѓу воспалителните цитокини и помеѓу антиоксидативните ензими, односно со присуство на мултиколинеарност што ја редуцира нивната уникатна варијанса во моделот. Сумирано, резултатите укажуваат дека биохемиските параметри во целина имаат исклучително висока предиктивна вредност за радиолошкиот исход, при што IL-1β се издвојува како најсилен и независен биолошки предиктор на степенот на коскена деструкција утврдена со CBCT анализа, што ја нагласува неговата централна улога во патогенезата на лезијата и неговата потенцијална вредност како маркер на структурна прогресија. (Табела 52 до 56 и Графикон 43 и 44.)

Табела 52. Приказ на мултипните корелации меѓу испитуваните параметри во однос на CBCT анализата

		CBCT_оценка	TNF_alpha	IL_1Beta	Каталаза	СОД	ГР
Pearson Correlation	CBCT_оценка	1,00	0,76	0,88	-0,67	-0,74	-0,54
	TNF_alpha	0,76	1,00	0,86	-0,79	-0,68	-0,58
	IL_1Beta	0,88	0,86	1,00	-0,79	-0,81	-0,68
	Каталаза	-0,67	-0,79	-0,79	1,00	0,81	0,60
	СОД	-0,74	-0,68	-0,81	0,81	1,00	0,67
	ГР	-0,54	-0,58	-0,68	0,60	0,67	1,00
Sig. (1-tailed)	CBCT_оценка	.	< 0,00	< 0,00	< 0,00	< 0,00	< 0,00
	TNF_alpha	0,00	.	0,00	0,00	0,00	0,00
	IL_1Beta	0,00	0,00	.	0,00	0,00	0,00
	Каталаза	0,00	0,00	0,00	.	0,00	0,00
	СОД	0,00	0,00	0,00	0,00	.	0,00
	ГР_редуктаза	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	.
N	CBCT_оценка	35	35	35	35	35	35
	TNF_alpha	35	35	35	35	35	35
	IL_1Beta	35	35	35	35	35	35
	Каталаза	35	35	35	35	35	35
	СОД	35	35	35	35	35	35
	ГР	35	35	35	35	35	35

Табела 53. Резиме на моделирањето на регресиската анализа по Дарбин-Вотсон

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	PRESS	Durbin-Watson
1	0,89[a]	0,79	0,75	0,32	3,87	2,13

а. Предиктори: Глутатион редуктаза, TNF alpha, Супероксид дизмутаза, Каталаза, IL 1Beta

б. Зависна варијабла: CBCT_оценка

Табела 54. Приказ на регресиската анализа на варијансата

ANOVA[a]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	10,91	5	2,18	21,30	< 0,00[b]
	Residual	2,97	29	0,10		
	Total	13,89	34			

а. Зависна варијабла: CBCT оценка

б. Предиктори: Глутатион редуктаза, TNF alpha, Супероксид дизмутаза, Каталаза, IL 1Beta

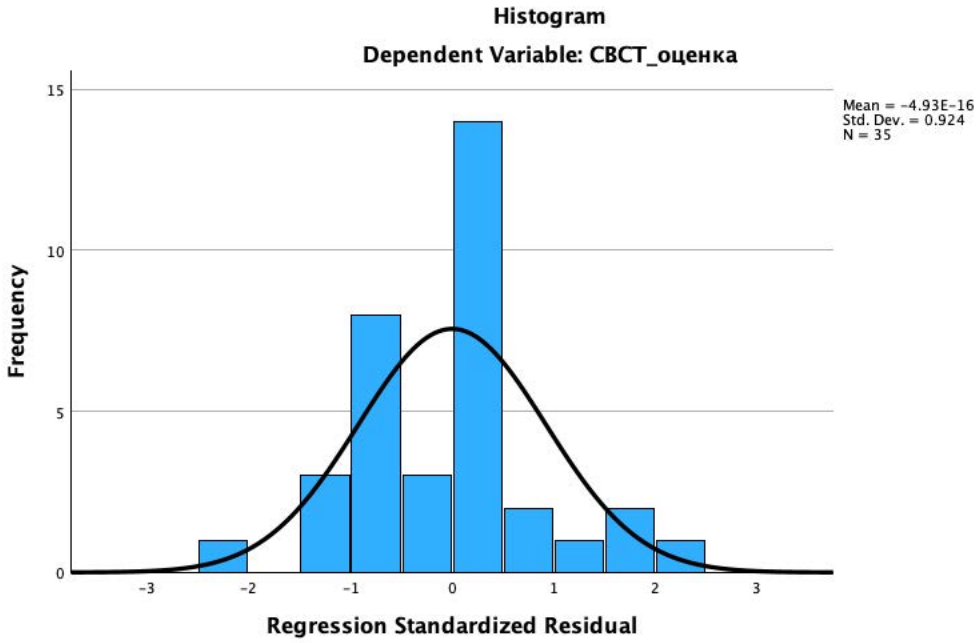
Табела 55. Коефициенти на мултипната регресиска анализа во однос на CBCT анализата

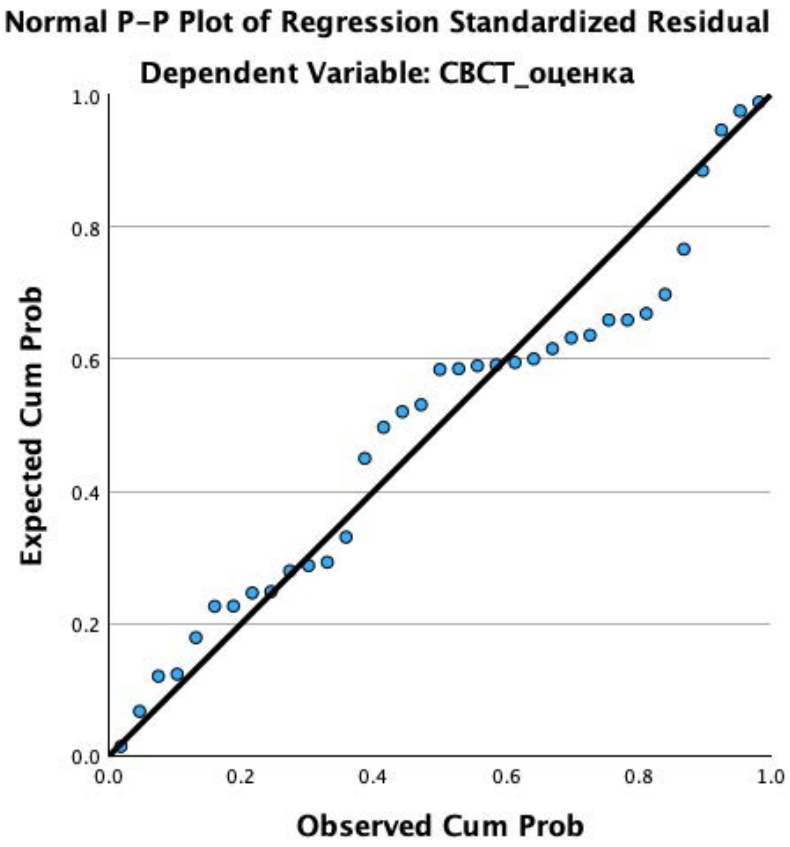
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.	95.00% Confidence Interval for B		Correlations		
		B	Std. Error	Beta			Lower Bound	Upper Bound	Zero-order	Partial	Part
1	(Constant)	-0,32	0,69		-0,46	0,65	-1,73	1,10			
	TNF_alpha	0,00	0,00	0,10	0,56	0,58	-0,00	0,01	0,76	0,10	0,05
	IL_1Beta	0,01	0,00	0,83	3,88	< 0,00	0,01	0,02	0,88	0,58	0,33
	Каталаза	0,00	0,00	0,16	0,91	0,37	0,00	0,00	-0,67	0,17	0,08
	СОД	0,00	0,00	-0,21	-1,21	0,24	-0,00	0,00	-0,74	-0,22	-0,10
	ГР	0,02	0,01	0,14	1,11	0,28	-0,01	0,04	-0,54	0,20	0,10

a. Зависна варијабла: CBCT_оценка

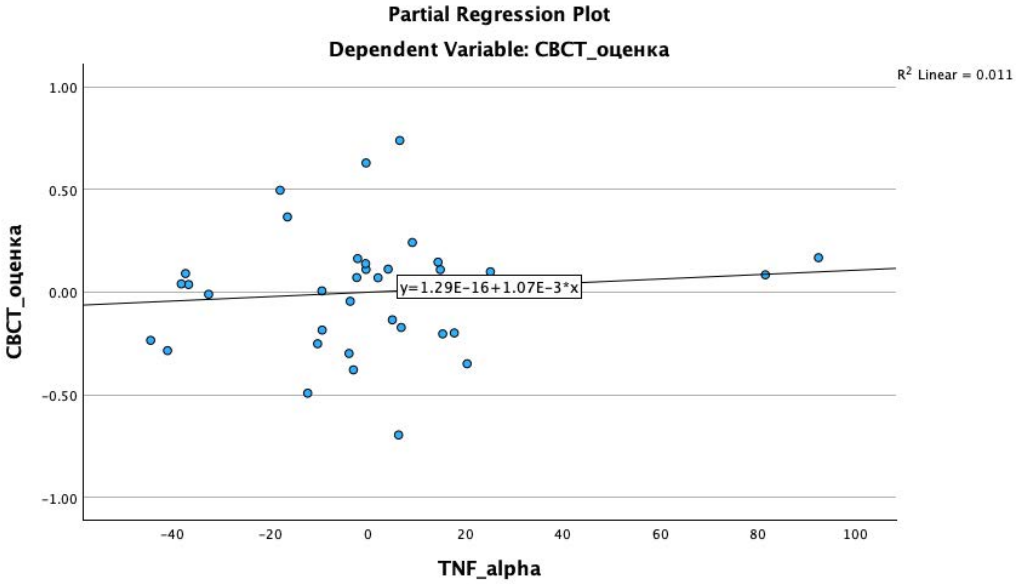
Табела 56. Резидуална статистика (зависна варијабла: клиничка оценка)

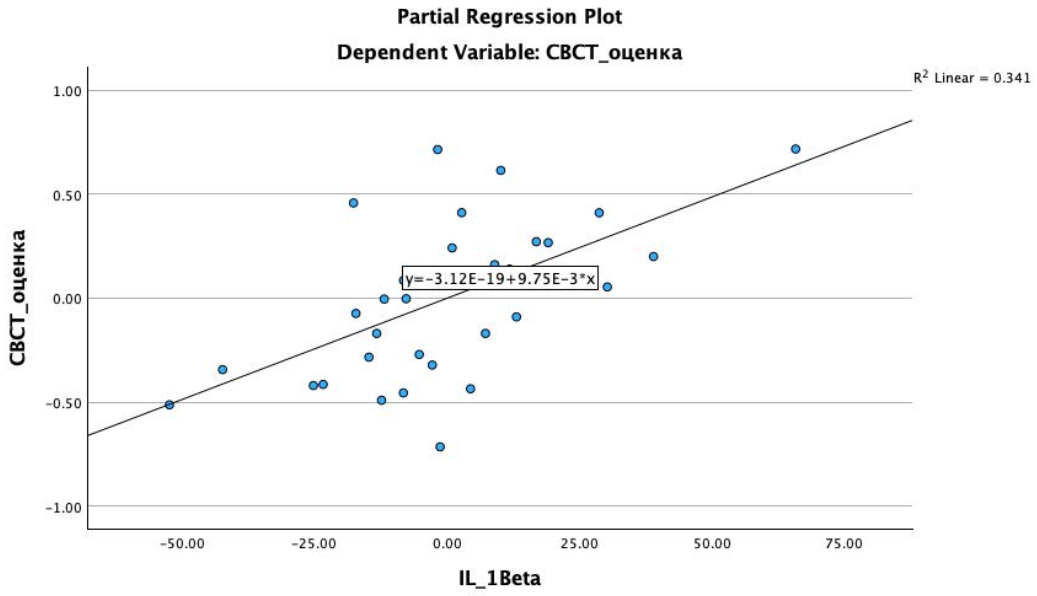
	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	0,77	3,18	1,34	0,57	35
Residual	-0,70	0,73	0,00	0,30	35
Std. Predicted Value	-1,02	3,24	0,00	1,00	35
Std. Residual	-2,20	2,29	0,00	0,92	35

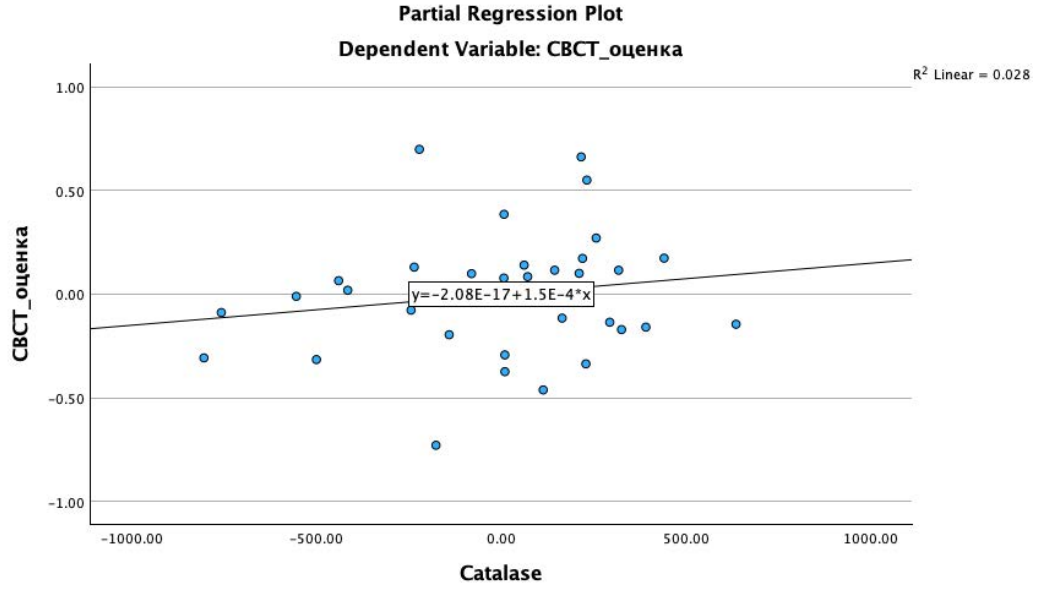


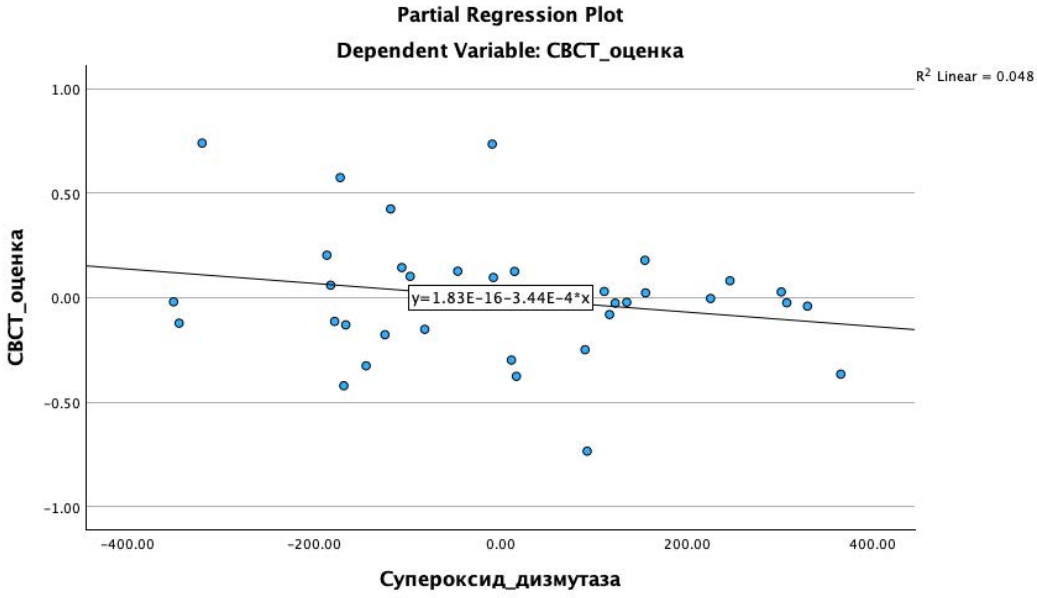


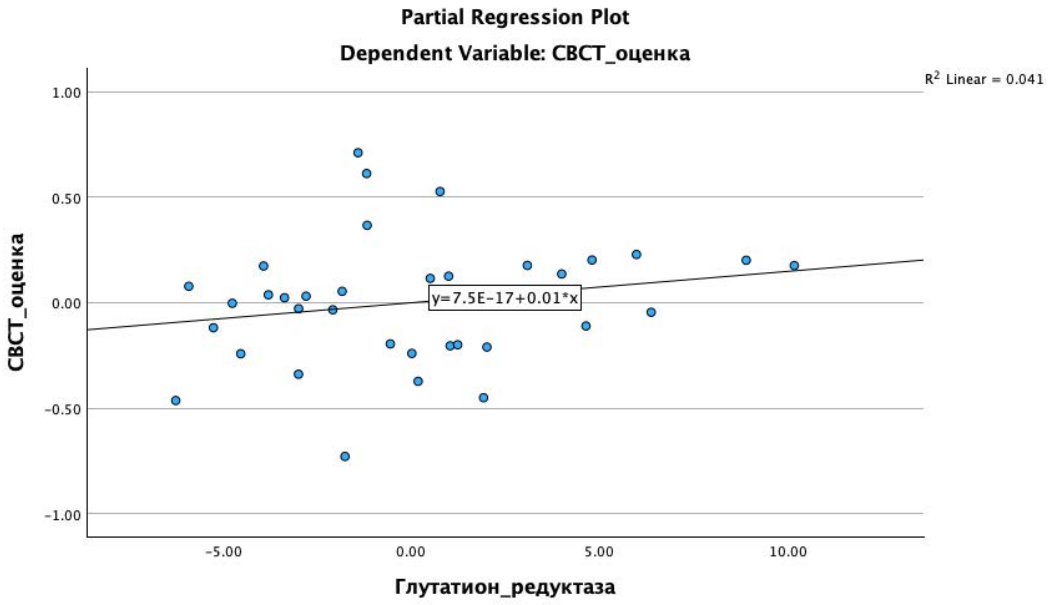
Графикон 43. Хистограм и линеарен приказ на стандардизирана резидуална регресија во однос на CBCT анализата




Partial Regression Plot
Dependent Variable: CBCT_оценка
R² Linear = 0.341
y=-3.12E-19+9.75E-3*x
CBCT_оценка
IL_1Beta


Partial Regression Plot
Dependent Variable: CBCT_оценка
R² Linear = 0.028
y=-2.08E-17+1.5E-4*x
CBCT_оценка
Catalase


Partial Regression Plot
Dependent Variable: CBCT_оценка
R² Linear = 0.048
y=1.83E-16-3.44E-4*x
CBCT_оценка
Супероксид_дизмутаза



Графикон 44. Приказ на регресиската анализа со расејување за секој параметар посебно (парцијално) во однос на зависната варијабла (CBCT анализа)

Мултиплата регресиска анализа претставува клучна статистичка алатка за разбирање на релативниот придонес на воспалителните и оксидативните параметри во експресијата на MRONJ-фенотипот и за индиректна проценка на механизмот преку кој аторвастатинот го модифицира овој процес. Особено значајна е регресијата каде CBCT_оценката е поставена како зависна варијабла, а TNF-α и IL-1β како независни предиктори. Резултатите покажуваат дека моделот е статистички значаен ($R^2 = 0,785$; $p < 0,001$), што укажува дека приближно 78,5% од варијансата на радиолошки детектибилната коскена деструкција може да се објасни преку варијациите во овие два цитокини. Меѓутоа, во мултиваријантниот контекст, IL-1β останува единствен независен предиктор ($\beta = 0,834$; $p < 0,001$), додека TNF-α ја губи статистичката значајност ($p = 0,583$). Овој наод има суштинско патофизиолошко значење: иако TNF-α и IL-1β се силно корелирани меѓусебно ($r = 0,86$), IL-1β се издвојува како поконкретен индикатор на структурното коскено нарушување, нотирано со CBCT, што е во согласност со современите концепти на NLRP3 и IL-1β како клучна оска во патогенезата на MRONJ. (377)

Дополнително, корелациската анализа покажува дека клиничката оценка е значајно позитивно поврзана со TNF-α ($r = 0,669$; $p < 0,001$) и со IL-1β ($r = 0,692$; $p < 0,001$), што укажува дека воспалителниот товар директно се рефлектира во тежината на клиничката презентација. Ваквата тријадна поврзаност (цитокини – клиничка оценка – CBCT_оценка) создава кохерентен патофизиолошки модел: зголемен IL-1β и TNF-α

доведува до поизразена локална инфламација и нарушено заздравување, што води до поголема коскена деструкција.

Во однос на оксидативните параметри, мултиплата регресија и корелациските анализи укажуваат на негативна поврзаност помеѓу антиоксидативните ензими и клиничкиот фенотип. Каталаза покажува умерена негативна корелација со клиничката оценка (r = -0,57), SOD (r = -0,42) и GR (r = -0,35), што значи дека намалениот антиоксидативен капацитет е поврзан со потешка форма на MRONJ. Иако во регресискиот модел за CBCT доминантен предиктор е IL-1β, антиоксидативните параметри индиректно влијаат врз фенотипот преку модулација на воспалителната каскада и клеточната виталност. Со други зборови, оксидативниот стрес создава средина што го потенцира воспалителниот сигнал, а воспалението – особено IL-1β – се појавува како директен структурен предиктор.

Кога овие статистички резултати ќе се пресликаат во биолошка интерпретација на ефектот на аторвастатин, станува јасно дека тој не дејствува само симптоматски, туку ја модифицира клучната патогенетска оска. Во групите ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. се регистрира значајно намалување на IL-1β и TNF-α во однос на ZOL-контролата, што според регресискиот модел директно се преведува во пониска CBCT_оценка и помал структурен обем на лезијата. Овој ефект е дополнително засилен преку подобрување на антиоксидативните ензими (каталаза, SOD, GR), што индиректно ја намалува проинфламаторната редокс-сигнализација. Така, регресијата демонстрира дека IL-1β е најтесно поврзана и најнезависна варијабла со радиолошката експресија на MRONJ, а аторвастатинот ја намалува токму таа варијабла, со што влијае врз крајниот исход.

Интересен аспект е и временската димензија. ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем. претставуваат превентивни режими, што значи дека интервенцијата со ATV е присутна во раната фаза на воспалителната и редокс-активацијата. Во тие групи се забележува најконзистентно намалување на IL-1β и најизразено подобрување на антиоксидативниот профил, што според регресијата би требало да резултира со најголемо намалување на структурната деструкција. ZOL+ATV_постекстракц., како терапевтска група, иако покажува подобрување, веројатно дејствува во веќе активирана патогенетска каскада, па затоа ефектот врз IL-1β и структурната варијанса може да биде помалку изразен.

Мултипната регресија овозможува јасна хиерархија на патогенетски фактори во моделот: IL-1β како примарен структурен предиктор, TNF-α како ко-модулатор, а

антиоксидативните ензими како индиректни заштитни фактори. Во овој контекст, аторвастатинот може да се разгледува како модификатор на повеќе нивоа – антиинфламаторно (намалување на IL-1β/TNF-α) и антиоксидативно (зголемување на каталаза, SOD, GR), со што ја поместува варијансата на CBCT и клиничката оценка кон поблаг фенотип.

5.14. Други крвни анализи

Еднофакторската ANOVA анализа покажа статистички значајни разлики помеѓу групите за WBC ($F = 3,508$; $p = 0,010$), HGB ($F = 3,552$; $p = 0,010$), HCT ($F = 2,910$; $p = 0,025$), PLT ($F = 6,836$; $p < 0,001$) и LYM ($F = 4,047$; $p = 0,005$), додека за RBC ($p = 0,269$) и NEU ($p = 0,105$) не беа утврдени статистички значајни разлики. Овие резултати укажуваат дека третманскиот режим има значајно влијание врз дел од системските воспалителни и хематолошки параметри. (Табела 57 до 59 и Графикон 45.)

Кај WBC, негативната контролна група (НКГ) покажа повисоки вредности во споредба со ZOL+ATV_локал. ($p = 0,030$), ATV_систем. ($p = 0,016$) и ZOL+ATV_постекстр. ($p = 0,006$), што укажува на изразен леукоцитен одговор во отсуство на терапија, со значајна редукција кај комбинираните и ATV-базираните режими. Разликите помеѓу другите групи не достигнаа статистичка значајност, што сугерира дека најсилната дистинкција е помеѓу НКГ и терапевтските групи. Кај лимфоцитите (LYM), НКГ имаше статистички значајно повисоки вредности во споредба со ПКГ ($p = 0,039$), ZOL+ATV_локал. ($p = 0,011$), ZOL+ATV_систем. ($p = 0,042$), ATV_систем. ($p = 0,011$) и ZOL+ATV_постекстр. ($p = 0,003$), што укажува на засилен лимфоцитен одговор во негативната контрола.

За RBC не беа утврдени статистички значајни парни разлики, што укажува дека бројот на еритроцитите не е значајно засегнат од експерименталните интервенции. Слично, кај NEU не беа детектирани статистички значајни разлики, што укажува дека неутрофилната компонента не варира значајно помеѓу групите.

Кај HGB, ПКГ имаше статистички значајно повисоки вредности во споредба со ZOL+ATV_систем. ($p = 0,048$) и ZOL+ATV_постекстр. ($p = 0,027$), што укажува на

релативно пониски хемоглобински вредности кај овие комбинирани режими. Другите споредби не беа статистички значајни. Кај HCT, значајна разлика беше утврдена помеѓу ПКГ и ZOL+ATV_постекстр. (p = 0,047), што укажува на понизок хематокрит кај постекстракцискиот комбиниран режим.

Најизразени разлики беа регистрирани кај PLT. ATV_систем. покажа статистички значајно повисоки вредности во споредба со ПКГ (p = 0,006), НКГ (p < 0,001) и ZOL+ATV_локал. (p = 0,032), што укажува на значајна тромбоцитна реакција кај системската ATV апликација. Дополнително, НКГ имаше значајно пониски вредности во споредба со ZOL+ATV_систем. (p = 0,015), ATV_систем. (p < 0,001) и ZOL+ATV_постекстр. (p = 0,003), што укажува на релативна тромбоцитопенија во негативната контрола.

Сумирано, резултатите укажуваат дека најконзистентни и клинички релевантни разлики се забележуваат кај леукоцитите, тромбоцитите и лимфоцитите, каде што негативната контрола покажува изразен воспалителен профил, додека ATV-базираните режими – особено системската апликација – се поврзани со модификација на хематолошките параметри. Бројот на еритроцитите и неутрофилите не покажува статистички значајна варијабилност, што сугерира дека ефектите на третманот се поизразени во имунолошката и тромбоцитната компонента отколку во еритроцитната линија.

Табела 57. Дескриптивна статистичка анализа на вредностите на различните крвни компоненти во сите испитувани групи

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
WBC	ПКГ	5	2,36	0,61	0,27	1,60	3,12	1,40	3,10
	НКГ	5	5,88	4,12	1,84	0,77	10,99	2,00	11,30
	ZOL+ATV_локал.	5	1,82	0,74	0,33	0,90	2,74	1,10	3,00
	ZOL+ATV_систем.	5	2,86	2,49	1,11	-0,23	5,95	1,20	7,10
	ATV_локал.	5	2,68	0,81	0,36	1,68	3,68	1,80	3,60
	ATV_систем.	5	1,52	0,45	0,20	0,96	2,08	0,80	1,90
	ZOL+ATV_постекстр.	5	1,06	0,24	0,11	0,76	1,36	0,80	1,40

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
	Total	35	2,60	2,27	0,38	1,82	3,38	0,80	11,30
RBC	ПКГ	5	9,33	1,62	0,73	7,32	11,35	7,13	10,77
	НКГ	5	8,74	3,00	1,34	5,02	12,47	3,93	11,07
	ZOL+ATV_локал.	5	8,70	2,08	0,93	6,12	11,29	6,30	10,70
	ZOL+ATV_систем.	5	7,38	1,14	0,51	5,96	8,79	5,46	8,28
	ATV_локал.	5	9,06	0,50	0,22	8,45	9,68	8,44	9,62
	ATV_систем.	5	7,89	0,94	0,42	6,73	9,06	6,63	9,12
	ZOL+ATV_постекстр.	5	7,19	0,24	0,11	6,88	7,49	6,95	7,50
	Total	35	8,33	1,67	0,28	7,75	8,90	3,93	11,07
HGB	ПКГ	5	19,36	2,78	1,24	15,91	22,81	16,20	22,60
	НКГ	5	18,12	4,55	2,04	12,47	23,77	10,60	21,90
	ZOL+ATV_локал.	5	17,74	4,03	1,80	12,73	22,75	13,40	21,80
	ZOL+ATV_систем.	5	13,62	2,23	1,00	10,85	16,39	9,80	15,20
	ATV_локал.	5	16,88	1,72	0,77	14,75	19,01	15,50	19,40
	ATV_систем.	5	14,74	1,86	0,83	12,43	17,05	12,60	17,70
	ZOL+ATV_постекстр.	5	13,18	0,63	0,28	12,40	13,96	12,50	14,00
	Total	35	16,23	3,42	0,58	15,06	17,41	9,80	22,60
HCT	ПКГ	5	57,90	6,84	3,06	49,40	66,40	46,40	64,30
	НКГ	5	52,14	16,70	7,47	31,41	72,87	23,80	65,30
	ZOL+ATV_локал.	5	52,58	11,42	5,11	38,40	66,76	39,70	64,40
	ZOL+ATV_систем.	5	41,58	5,85	2,62	34,31	48,85	31,70	46,40
	ATV_локал.	5	52,44	3,66	1,64	47,89	56,99	47,80	57,60
	ATV_систем.	5	44,44	4,98	2,23	38,25	50,63	37,60	50,80
	ZOL+ATV_постекстр.	5	40,28	1,72	0,77	38,15	42,41	38,00	42,50
	Total	35	48,77	10,08	1,70	45,30	52,23	23,80	65,30
PLT	ПКГ	5	398,00	155,88	69,71	204,45	591,55	212,00	617,00
	НКГ	5	283,40	103,52	46,30	154,86	411,94	157,00	434,00
	ZOL+ATV_локал.	5	454,40	184,43	82,48	225,40	683,40	308,00	672,00

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
	ZOL+ATV_систем.	5	582,00	24,11	10,78	552,06	611,94	540,00	601,00
	ATV_локал.	5	499,40	99,22	44,37	376,20	622,60	392,00	599,00
	ATV_систем.	5	727,00	135,19	60,46	559,14	894,86	541,00	845,00
	ZOL+ATV_постекстр.	5	633,60	131,00	58,59	470,94	796,26	530,00	811,00
	Total	35	511,11	182,53	30,85	448,41	573,81	157,00	845,00
LYM	ПКГ	5	1,36	0,61	0,27	0,60	2,12	0,80	2,20
	НКГ	5	3,76	2,79	1,25	0,30	7,22	1,20	7,70
	ZOL+ATV_локал.	5	0,96	0,39	0,17	0,47	1,45	0,60	1,60
	ZOL+ATV_систем.	5	1,38	0,85	0,38	0,33	2,43	0,60	2,70
	ATV_локал.	5	1,52	0,44	0,20	0,98	2,06	1,10	2,10
	ATV_систем.	5	0,96	0,35	0,16	0,52	1,40	0,40	1,30
	ZOL+ATV_постекстр.	5	0,62	0,16	0,07	0,42	0,82	0,40	0,80
	Total	35	1,51	1,43	0,24	1,02	2,00	0,40	7,70
NEU	ПКГ	5	0,77	0,38	0,17	0,29	1,25	0,40	1,32
	НКГ	5	1,39	0,75	0,33	0,46	2,31	0,70	2,46
	ZOL+ATV_локал.	5	0,68	0,30	0,14	0,30	1,06	0,30	1,11
	ZOL+ATV_систем.	5	1,13	1,30	0,58	-0,49	2,75	0,30	3,40
	ATV_локал.	5	0,65	0,21	0,10	0,38	0,91	0,48	1,00
	ATV_систем.	5	0,42	0,11	0,05	0,28	0,56	0,30	0,51
	ZOL+ATV_постекстр.	5	0,31	0,14	0,06	0,14	0,48	0,20	0,54
	Total	35	0,76	0,66	0,11	0,54	0,99	0,20	3,40

Табела 58. Резултати од тестот – анализата на варијансата (ANOVA) за вредностите на крвните компоненти кај стаорците во и меѓу испитуваните групи

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
WBC	Between Groups	75,18	6	12,53	3,51	0,01
	Within Groups	100,01	28	3,57		
	Total	175,19	34			
RBC	Between Groups	21,34	6	3,56	1,35	0,27
	Within Groups	73,78	28	2,64		
	Total	95,12	34			
HGB	Between Groups	172,03	6	28,67	3,55	0,01
	Within Groups	226,05	28	8,07		
	Total	398,08	34			
HCT	Between Groups	1326,12	6	221,02	2,91	0,03
	Within Groups	2126,34	28	75,94		
	Total	3452,46	34			
PLT	Between Groups	673182,74	6	112197,12	6,84	< 0,00
	Within Groups	459574,80	28	16413,39		
	Total	1132757,54	34			
LYM	Between Groups	32,50	6	5,42	4,05	0,01
	Within Groups	37,47	28	1,34		
	Total	69,97	34			
NEU	Between Groups	4,33	6	0,72	1,97	0,11
	Within Groups	10,28	28	0,37		
	Total	14,61	34			

Табела 59. Пост-хок (Tukey HSD) анализа на разликите меѓу испитуваните групи со повеќекратна споредба на вредностите на основните крвни анализи

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
WBC	ПКГ	НКГ	-3,52	1,20	0,08	-7,31	0,27
		ZOL+ATV_локал.	0,54	1,20	1,00	-3,25	4,33
		ZOL+ATV_систем.	-0,50	1,20	1,00	-4,29	3,29
		ATV_локал.	-0,32	1,20	1,00	-4,11	3,47
		ATV_систем.	0,84	1,20	0,99	-2,95	4,63
		ZOL+ATV_постекстр.	1,30	1,20	0,93	-2,49	5,09
	НКГ	ПКГ	3,52	1,20	0,08	-0,27	7,31
		ZOL+ATV_локал.	4,06*	1,20	0,03	0,27	7,85
		ZOL+ATV_систем.	3,02	1,20	0,19	-0,77	6,81
		ATV_локал.	3,20	1,20	0,14	-0,59	6,99
		ATV_систем.	4,36*	1,20	0,02	0,57	8,15
		ZOL+ATV_постекстр.	4,82*	1,20	0,01	1,03	8,61
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-0,54	1,20	1,00	-4,33	3,25
		НКГ	-4,06*	1,20	0,03	-7,85	-0,27
		ZOL+ATV_систем.	-1,04	1,20	0,97	-4,83	2,75
		ATV_локал.	-0,86	1,20	0,99	-4,65	2,93
		ATV_систем.	0,30	1,20	1,00	-3,49	4,09
		ZOL+ATV_постекстр.	0,76	1,20	1,00	-3,03	4,55
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	0,50	1,20	1,00	-3,29	4,29
		НКГ	-3,02	1,20	0,19	-6,81	0,77
		ZOL+ATV_локал.	1,04	1,20	0,97	-2,75	4,83
		ATV_локал.	0,18	1,20	1,00	-3,61	3,97
		ATV_систем.	1,34	1,20	0,92	-2,45	5,13
		ZOL+ATV_постекстр.	1,80	1,20	0,74	-1,99	5,59
	ATV_локал.	ПКГ	0,32	1,20	1,00	-3,47	4,11
		НКГ	-3,20	1,20	0,14	-6,99	0,59
		ZOL+ATV_локал.	0,86	1,20	0,99	-2,93	4,65
		ZOL+ATV_систем.	-0,18	1,20	1,00	-3,97	3,61
		ATV_систем.	1,16	1,20	0,96	-2,63	4,95
		ZOL+ATV_постекстр.	1,62	1,20	0,82	-2,17	5,41
	ATV_систем.	ПКГ	-0,84	1,20	0,99	-4,63	2,95
		НКГ	-4,36*	1,20	0,02	-8,15	-0,57
		ZOL+ATV_локал.	-0,30	1,20	1,00	-4,09	3,49
		ZOL+ATV_систем.	-1,34	1,20	0,92	-5,13	2,45
		ATV_локал.	-1,16	1,20	0,96	-4,95	2,63
		ZOL+ATV_постекстр.	0,46	1,20	1,00	-3,33	4,25
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-1,30	1,20	0,93	-5,09	2,49
		НКГ	-4,82*	1,20	0,01	-8,61	-1,03
		ZOL+ATV_локал.	-0,76	1,20	1,00	-4,55	3,03

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ZOL+ATV_систем.	-1,80	1,20	0,74	-5,59	1,99
		ATV_локал.	-1,62	1,20	0,82	-5,41	2,17
		ATV_систем.	-0,46	1,20	1,00	-4,25	3,33
RBC	ПКГ	НКГ	0,59	1,03	1,00	-2,67	3,85
		ZOL+ATV_локал.	0,63	1,03	1,00	-2,63	3,89
		ZOL+ATV_систем.	1,96	1,03	0,49	-1,30	5,21
		ATV_локал.	0,27	1,03	1,00	-2,99	3,53
		ATV_систем.	1,44	1,03	0,80	-1,81	4,70
		ZOL+ATV_постекстр.	2,15	1,03	0,38	-1,11	5,40
	НКГ	ПКГ	-0,59	1,03	1,00	-3,85	2,67
		ZOL+ATV_локал.	0,04	1,03	1,00	-3,22	3,30
		ZOL+ATV_систем.	1,37	1,03	0,83	-1,89	4,62
		ATV_локал.	-0,32	1,03	1,00	-3,58	2,94
		ATV_систем.	0,85	1,03	0,98	-2,40	4,11
		ZOL+ATV_постекстр.	1,56	1,03	0,73	-1,70	4,81
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-0,63	1,03	1,00	-3,89	2,63
		НКГ	-0,04	1,03	1,00	-3,30	3,22
		ZOL+ATV_систем.	1,33	1,03	0,85	-1,93	4,58
		ATV_локал.	-0,36	1,03	1,00	-3,62	2,90
		ATV_систем.	0,81	1,03	0,98	-2,44	4,07
		ZOL+ATV_постекстр.	1,52	1,03	0,76	-1,74	4,77
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-1,96	1,03	0,49	-5,21	1,30
		НКГ	-1,37	1,03	0,83	-4,62	1,89
		ZOL+ATV_локал.	-1,33	1,03	0,85	-4,58	1,93
		ATV_локал.	-1,69	1,03	0,66	-4,94	1,57
		ATV_систем.	-0,52	1,03	1,00	-3,77	2,74
		ZOL+ATV_постекстр.	0,19	1,03	1,00	-3,07	3,45
	ATV_локал.	ПКГ	-0,27	1,03	1,00	-3,53	2,99
		НКГ	0,32	1,03	1,00	-2,94	3,58
		ZOL+ATV_локал.	0,36	1,03	1,00	-2,90	3,62
		ZOL+ATV_систем.	1,69	1,03	0,66	-1,57	4,94
		ATV_систем.	1,17	1,03	0,91	-2,08	4,43
		ZOL+ATV_постекстр.	1,88	1,03	0,54	-1,38	5,13
	ATV_систем.	ПКГ	-1,44	1,03	0,80	-4,70	1,81
		НКГ	-0,85	1,03	0,98	-4,11	2,40

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ZOL+ATV_локал.	-0,81	1,03	0,98	-4,07	2,44
		ZOL+ATV_систем.	0,52	1,03	1,00	-2,74	3,77
		ATV_локал.	-1,17	1,03	0,91	-4,43	2,08
		ZOL+ATV_постекстр.	0,71	1,03	0,99	-2,55	3,96
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-2,15	1,03	0,38	-5,40	1,11
		НКГ	-1,56	1,03	0,73	-4,81	1,70
		ZOL+ATV_локал.	-1,52	1,03	0,76	-4,77	1,74
		ZOL+ATV_систем.	-0,19	1,03	1,00	-3,45	3,07
		ATV_локал.	-1,88	1,03	0,54	-5,13	1,38
		ATV_систем.	-0,71	1,03	0,99	-3,96	2,55
HGB	ПКГ	НКГ	1,24	1,80	0,99	-4,46	6,94
		ZOL+ATV_локал.	1,62	1,80	0,97	-4,08	7,32
		ZOL+ATV_систем.	5,74*	1,80	0,05	0,04	11,44
		ATV_локал.	2,48	1,80	0,81	-3,22	8,18
		ATV_систем.	4,62	1,80	0,17	-1,08	10,32
		ZOL+ATV_постекстр.	6,18*	1,80	0,03	0,48	11,88
	НКГ	ПКГ	-1,24	1,80	0,99	-6,94	4,46
		ZOL+ATV_локал.	0,38	1,80	1,00	-5,32	6,08
		ZOL+ATV_систем.	4,50	1,80	0,20	-1,20	10,20
		ATV_локал.	1,24	1,80	0,99	-4,46	6,94
		ATV_систем.	3,38	1,80	0,51	-2,32	9,08
		ZOL+ATV_постекстр.	4,94	1,80	0,12	-0,76	10,64
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-1,62	1,80	0,97	-7,32	4,08
		НКГ	-0,38	1,80	1,00	-6,08	5,32
		ZOL+ATV_систем.	4,12	1,80	0,28	-1,58	9,82
		ATV_локал.	0,86	1,80	1,00	-4,84	6,56
		ATV_систем.	3,00	1,80	0,64	-2,70	8,70
		ZOL+ATV_постекстр.	4,56	1,80	0,18	-1,14	10,26
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-5,74*	1,80	0,05	-11,44	-0,04
		НКГ	-4,50	1,80	0,20	-10,20	1,20
		ZOL+ATV_локал.	-4,12	1,80	0,28	-9,82	1,58
		ATV_локал.	-3,26	1,80	0,55	-8,96	2,44
		ATV_систем.	-1,12	1,80	1,00	-6,82	4,58
		ZOL+ATV_постекстр.	0,44	1,80	1,00	-5,26	6,14
	ATV_локал.	ПКГ	-2,48	1,80	0,81	-8,18	3,22

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		НКГ	-1,24	1,80	0,99	-6,94	4,46
		ZOL+ATV_локал.	-0,86	1,80	1,00	-6,56	4,84
		ZOL+ATV_систем.	3,26	1,80	0,55	-2,44	8,96
		ATV_систем.	2,14	1,80	0,89	-3,56	7,84
		ZOL+ATV_постекстр.	3,70	1,80	0,40	-2,00	9,40
	ATV_систем.	ПКГ	-4,62	1,80	0,17	-10,32	1,08
		НКГ	-3,38	1,80	0,51	-9,08	2,32
		ZOL+ATV_локал.	-3,00	1,80	0,64	-8,70	2,70
		ZOL+ATV_систем.	1,12	1,80	1,00	-4,58	6,82
		ATV_локал.	-2,14	1,80	0,89	-7,84	3,56
		ZOL+ATV_постекстр.	1,56	1,80	0,97	-4,14	7,26
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-6,18*	1,80	0,03	-11,88	-0,48
		НКГ	-4,94	1,80	0,12	-10,64	0,76
		ZOL+ATV_локал.	-4,56	1,80	0,18	-10,26	1,14
		ZOL+ATV_систем.	-0,44	1,80	1,00	-6,14	5,26
		ATV_локал.	-3,70	1,80	0,40	-9,40	2,00
		ATV_систем.	-1,56	1,80	0,97	-7,26	4,14
НСТ	ПКГ	НКГ	5,76	5,51	0,94	-11,72	23,24
		ZOL+ATV_локал.	5,32	5,51	0,96	-12,16	22,80
		ZOL+ATV_систем.	16,32	5,51	0,08	-1,16	33,80
		ATV_локал.	5,46	5,51	0,95	-12,02	22,94
		ATV_систем.	13,46	5,51	0,22	-4,02	30,94
		ZOL+ATV_постекстр.	17,62*	5,51	0,05	0,14	35,10
	НКГ	ПКГ	-5,76	5,51	0,94	-23,24	11,72
		ZOL+ATV_локал.	-0,44	5,51	1,00	-17,92	17,04
		ZOL+ATV_систем.	10,56	5,51	0,49	-6,92	28,04
		ATV_локал.	-0,30	5,51	1,00	-17,78	17,18
		ATV_систем.	7,70	5,51	0,80	-9,78	25,18
		ZOL+ATV_постекстр.	11,86	5,51	0,35	-5,62	29,34
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-5,32	5,51	0,96	-22,80	12,16
		НКГ	0,44	5,51	1,00	-17,04	17,92
		ZOL+ATV_систем.	11,00	5,51	0,44	-6,48	28,48
		ATV_локал.	0,14	5,51	1,00	-17,34	17,62
		ATV_систем.	8,14	5,51	0,76	-9,34	25,62
		ZOL+ATV_постекстр.	12,30	5,51	0,31	-5,18	29,78

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	-16,32	5,51	0,08	-33,80	1,16
		НКГ	-10,56	5,51	0,49	-28,04	6,92
		ZOL+ATV_локал.	-11,00	5,51	0,44	-28,48	6,48
		ATV_локал.	-10,86	5,51	0,45	-28,34	6,62
		ATV_систем.	-2,86	5,51	1,00	-20,34	14,62
		ZOL+ATV_постекстр.	1,30	5,51	1,00	-16,18	18,78
	ATV_локал.	ПКГ	-5,46	5,51	0,95	-22,94	12,02
		НКГ	0,30	5,51	1,00	-17,18	17,78
		ZOL+ATV_локал.	-0,14	5,51	1,00	-17,62	17,34
		ZOL+ATV_систем.	10,86	5,51	0,45	-6,62	28,34
		ATV_систем.	8,00	5,51	0,77	-9,48	25,48
		ZOL+ATV_постекстр.	12,16	5,51	0,32	-5,32	29,64
	ATV_систем.	ПКГ	-13,46	5,51	0,22	-30,94	4,02
		НКГ	-7,70	5,51	0,80	-25,18	9,78
		ZOL+ATV_локал.	-8,14	5,51	0,76	-25,62	9,34
		ZOL+ATV_систем.	2,86	5,51	1,00	-14,62	20,34
		ATV_локал.	-8,00	5,51	0,77	-25,48	9,48
		ZOL+ATV_постекстр.	4,16	5,51	0,99	-13,32	21,64
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-17,62*	5,51	0,05	-35,10	-0,14
		НКГ	-11,86	5,51	0,35	-29,34	5,62
		ZOL+ATV_локал.	-12,30	5,51	0,31	-29,78	5,18
		ZOL+ATV_систем.	-1,30	5,51	1,00	-18,78	16,18
		ATV_локал.	-12,16	5,51	0,32	-29,64	5,32
		ATV_систем.	-4,16	5,51	0,99	-21,64	13,32
PLT	ПКГ	НКГ	114,60	81,03	0,79	-142,43	371,63
		ZOL+ATV_локал.	-56,40	81,03	0,99	-313,43	200,63
		ZOL+ATV_систем.	-184,00	81,03	0,29	-441,03	73,03
		ATV_локал.	-101,40	81,03	0,87	-358,43	155,63
		ATV_систем.	-329,00*	81,03	0,01	-586,03	-71,97

Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ZOL+ATV_постекстр.	-235,60	81,03	0,09	-492,63	21,43
	НКГ	ПКГ	-114,60	81,03	0,79	-371,63	142,43
		ZOL+ATV_локал.	-171,00	81,03	0,37	-428,03	86,03
		ZOL+ATV_систем.	-298,60*	81,03	0,02	-555,63	-41,57
		ATV_локал.	-216,00	81,03	0,15	-473,03	41,03
		ATV_систем.	-443,60*	81,03	< 0,00	-700,63	-186,57
		ZOL+ATV_постекстр.	-350,20*	81,03	0,00	-607,23	-93,17
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	56,40	81,03	0,99	-200,63	313,43
		НКГ	171,00	81,03	0,37	-86,03	428,03
		ZOL+ATV_систем.	-127,60	81,03	0,70	-384,63	129,43
		ATV_локал.	-45,00	81,03	1,00	-302,03	212,03
		ATV_систем.	-272,60*	81,03	0,03	-529,63	-15,57
		ZOL+ATV_постекстр.	-179,20	81,03	0,32	-436,23	77,83
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	184,00	81,03	0,29	-73,03	441,03
		НКГ	298,60*	81,03	0,02	41,57	555,63
		ZOL+ATV_локал.	127,60	81,03	0,70	-129,43	384,63
		ATV_локал.	82,60	81,03	0,95	-174,43	339,63

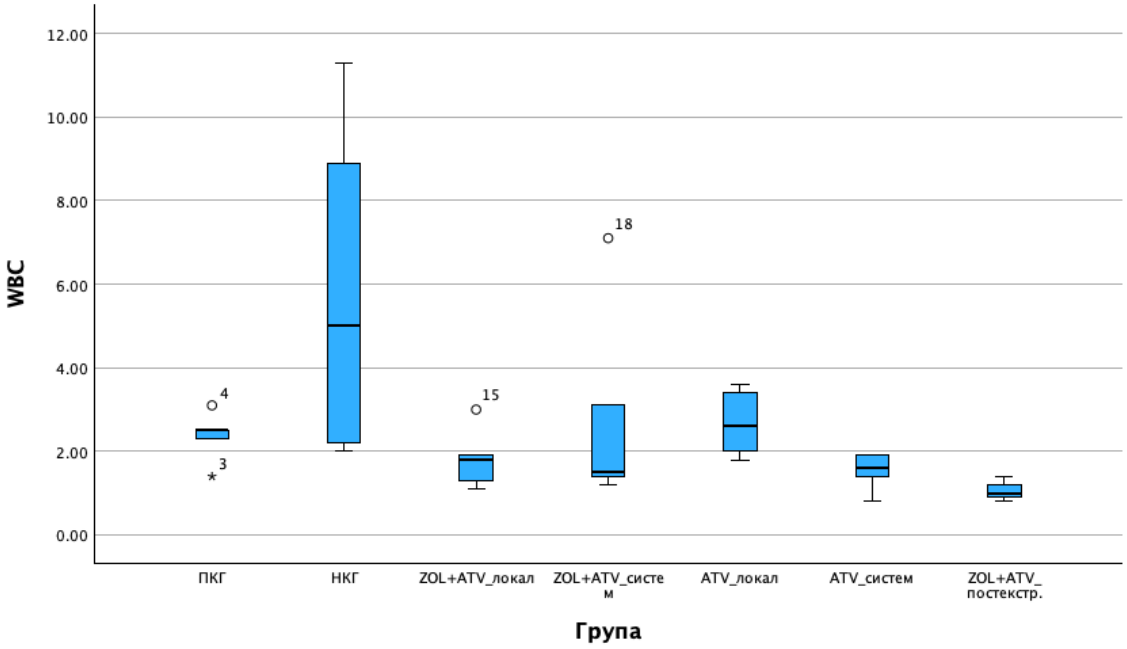
Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ATV_систем.	-145,00	81,03	0,57	-402,03	112,03
		ZOL+ATV_постекстр.	-51,60	81,03	1,00	-308,63	205,43
	ATV_локал.	ПКГ	101,40	81,03	0,87	-155,63	358,43
		НКГ	216,00	81,03	0,15	-41,03	473,03
		ZOL+ATV_локал.	45,00	81,03	1,00	-212,03	302,03
		ZOL+ATV_систем.	-82,60	81,03	0,95	-339,63	174,43
		ATV_систем.	-227,60	81,03	0,11	-484,63	29,43
		ZOL+ATV_постекстр.	-134,20	81,03	0,65	-391,23	122,83
	ATV_систем.	ПКГ	329,00*	81,03	0,01	71,97	586,03
		НКГ	443,60*	81,03	< 0,00	186,57	700,63
		ZOL+ATV_локал.	272,60*	81,03	0,03	15,57	529,63
		ZOL+ATV_систем.	145,00	81,03	0,57	-112,03	402,03
		ATV_локал.	227,60	81,03	0,11	-29,43	484,63
		ZOL+ATV_постекстр.	93,40	81,03	0,91	-163,63	350,43
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	235,60	81,03	0,09	-21,43	492,63
		НКГ	350,20*	81,03	0,00	93,17	607,23
		ZOL+ATV_локал.	179,20	81,03	0,32	-77,83	436,23
		ZOL+ATV_систем.	51,60	81,03	1,00	-205,43	308,63
		ATV_локал.	134,20	81,03	0,65	-122,83	391,23
		ATV_систем.	-93,40	81,03	0,91	-350,43	163,63

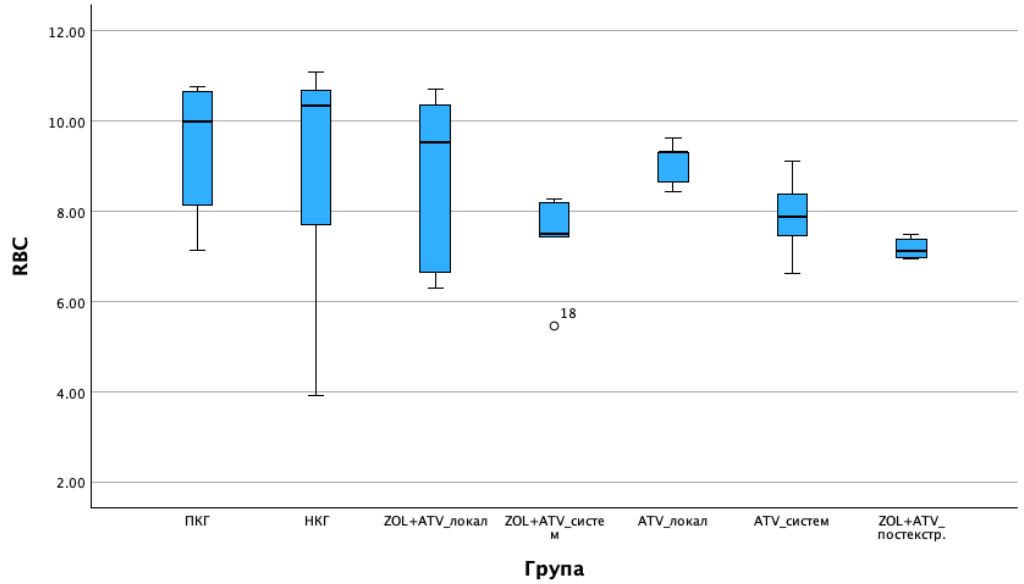
Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LYM	ПКГ	НКГ	-2,40*	0,73	0,04	-4,72	-0,08
		ZOL+ATV_локал.	0,40	0,73	1,00	-1,92	2,72
		ZOL+ATV_систем.	-0,02	0,73	1,00	-2,34	2,30
		ATV_локал.	-0,16	0,73	1,00	-2,48	2,16
		ATV_систем.	0,40	0,73	1,00	-1,92	2,72
		ZOL+ATV_постекстр.	0,74	0,73	0,95	-1,58	3,06
	НКГ	ПКГ	2,40*	0,73	0,04	0,08	4,72
		ZOL+ATV_локал.	2,80*	0,73	0,01	0,48	5,12
		ZOL+ATV_систем.	2,38*	0,73	0,04	0,06	4,70
		ATV_локал.	2,24	0,73	0,06	-0,08	4,56
		ATV_систем.	2,80*	0,73	0,01	0,48	5,12
		ZOL+ATV_постекстр.	3,14*	0,73	0,00	0,82	5,46
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-0,40	0,73	1,00	-2,72	1,92
		НКГ	-2,80*	0,73	0,01	-5,12	-0,48
		ZOL+ATV_систем.	-0,42	0,73	1,00	-2,74	1,90
		ATV_локал.	-0,56	0,73	0,99	-2,88	1,76
		ATV_систем.	0,00	0,73	1,00	-2,32	2,32
		ZOL+ATV_постекстр.	0,34	0,73	1,00	-1,98	2,66
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	0,02	0,73	1,00	-2,30	2,34
		НКГ	-2,38*	0,73	0,04	-4,70	-0,06
		ZOL+ATV_локал.	0,42	0,73	1,00	-1,90	2,74
		ATV_локал.	-0,14	0,73	1,00	-2,46	2,18
		ATV_систем.	0,42	0,73	1,00	-1,90	2,74
		ZOL+ATV_постекстр.	0,76	0,73	0,94	-1,56	3,08
	ATV_локал.	ПКГ	0,16	0,73	1,00	-2,16	2,48
		НКГ	-2,24	0,73	0,06	-4,56	0,08
		ZOL+ATV_локал.	0,56	0,73	0,99	-1,76	2,88
		ZOL+ATV_систем.	0,14	0,73	1,00	-2,18	2,46
		ATV_систем.	0,56	0,73	0,99	-1,76	2,88
		ZOL+ATV_постекстр.	0,90	0,73	0,88	-1,42	3,22
	ATV_систем.	ПКГ	-0,40	0,73	1,00	-2,72	1,92
		НКГ	-2,80*	0,73	0,01	-5,12	-0,48
		ZOL+ATV_локал.	0,00	0,73	1,00	-2,32	2,32
		ZOL+ATV_систем.	-0,42	0,73	1,00	-2,74	1,90
		ATV_локал.	-0,56	0,73	0,99	-2,88	1,76

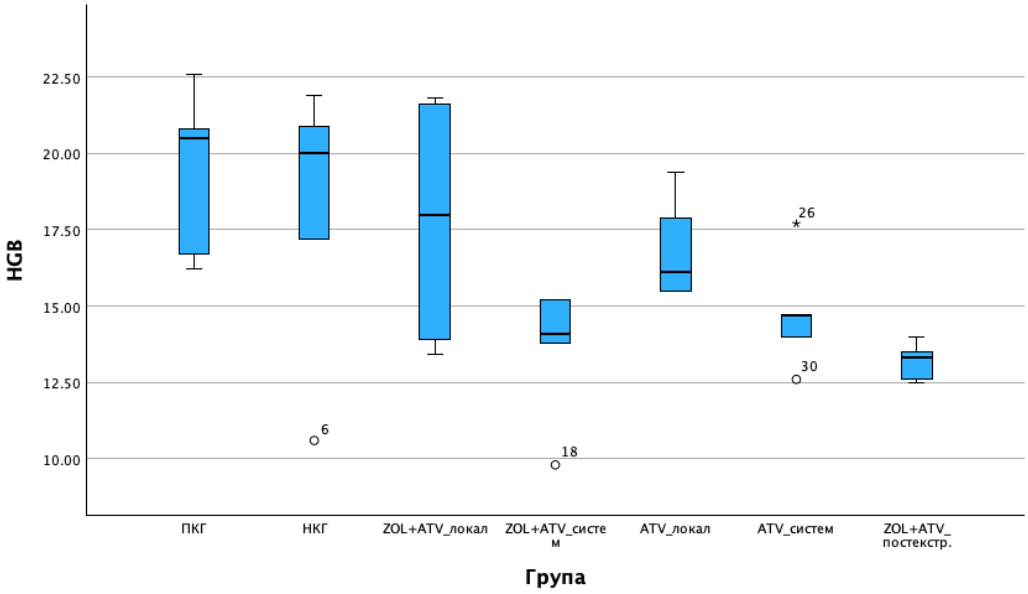
Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ZOL+ATV_постекстр.	0,34	0,73	1,00	-1,98	2,66
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-0,74	0,73	0,95	-3,06	1,58
		НКГ	-3,14*	0,73	0,00	-5,46	-0,82
		ZOL+ATV_локал.	-0,34	0,73	1,00	-2,66	1,98
		ZOL+ATV_систем.	-0,76	0,73	0,94	-3,08	1,56
		ATV_локал.	-0,90	0,73	0,88	-3,22	1,42
		ATV_систем.	-0,34	0,73	1,00	-2,66	1,98
NEU	ПКГ	НКГ	-0,62	0,38	0,68	-1,83	0,60
		ZOL+ATV_локал.	0,09	0,38	1,00	-1,12	1,31
		ZOL+ATV_систем.	-0,36	0,38	0,96	-1,58	0,86
		ATV_локал.	0,12	0,38	1,00	-1,09	1,34
		ATV_систем.	0,35	0,38	0,97	-0,87	1,56
		ZOL+ATV_постекстр.	0,46	0,38	0,89	-0,75	1,68
	НКГ	ПКГ	0,62	0,38	0,68	-0,60	1,83
		ZOL+ATV_локал.	0,71	0,38	0,53	-0,51	1,92
		ZOL+ATV_систем.	0,26	0,38	0,99	-0,96	1,47
		ATV_локал.	0,74	0,38	0,48	-0,48	1,96
		ATV_систем.	0,96	0,38	0,19	-0,25	2,18
		ZOL+ATV_постекстр.	1,08	0,38	0,11	-0,14	2,29
	ZOL+ATV_локал.	ПКГ	-0,09	0,38	1,00	-1,31	1,12
		НКГ	-0,71	0,38	0,53	-1,92	0,51
		ZOL+ATV_систем.	-0,45	0,38	0,90	-1,67	0,76
		ATV_локал.	0,03	0,38	1,00	-1,18	1,25
		ATV_систем.	0,25	0,38	0,99	-0,96	1,47
		ZOL+ATV_постекстр.	0,37	0,38	0,96	-0,85	1,59
	ZOL+ATV_систем.	ПКГ	0,36	0,38	0,96	-0,86	1,58
		НКГ	-0,26	0,38	0,99	-1,47	0,96
		ZOL+ATV_локал.	0,45	0,38	0,90	-0,76	1,67
		ATV_локал.	0,48	0,38	0,86	-0,73	1,70
		ATV_систем.	0,71	0,38	0,53	-0,51	1,92
		ZOL+ATV_постекстр.	0,82	0,38	0,36	-0,39	2,04
	ATV_локал.	ПКГ	-0,12	0,38	1,00	-1,34	1,09
		НКГ	-0,74	0,38	0,48	-1,96	0,48
		ZOL+ATV_локал.	-0,03	0,38	1,00	-1,25	1,18
		ZOL+ATV_систем.	-0,48	0,38	0,86	-1,70	0,73

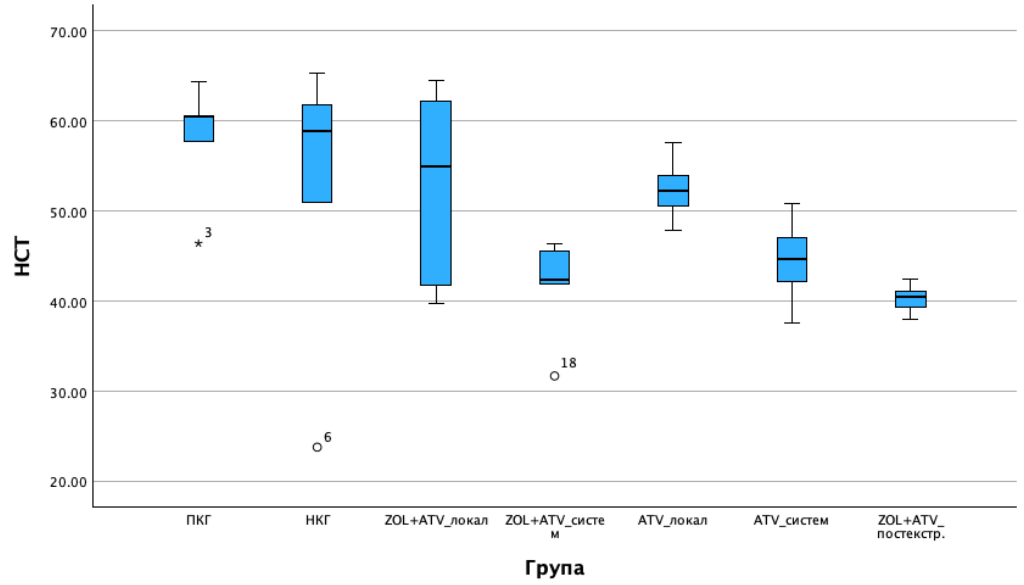
Dependent Variable	(I) Група	(J) Група	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
		ATV_систем.	0,22	0,38	1,00	-0,99	1,44
		ZOL+ATV_постекстр.	0,34	0,38	0,97	-0,88	1,55
	ATV_систем.	ПКГ	-0,35	0,38	0,97	-1,56	0,87
		НКГ	-0,96	0,38	0,19	-2,18	0,25
		ZOL+ATV_локал.	-0,25	0,38	0,99	-1,47	0,96
		ZOL+ATV_систем.	-0,71	0,38	0,53	-1,92	0,51
		ATV_локал.	-0,22	0,38	1,00	-1,44	0,99
		ZOL+ATV_постекстр.	0,12	0,38	1,00	-1,10	1,33
	ZOL+ATV_постекстр.	ПКГ	-0,46	0,38	0,89	-1,68	0,75
		НКГ	-1,08	0,38	0,11	-2,29	0,14
		ZOL+ATV_локал.	-0,37	0,38	0,96	-1,59	0,85
		ZOL+ATV_систем.	-0,82	0,38	0,36	-2,04	0,39
		ATV_локал.	-0,34	0,38	0,97	-1,55	0,88
		ATV_систем.	-0,12	0,38	1,00	-1,33	1,10

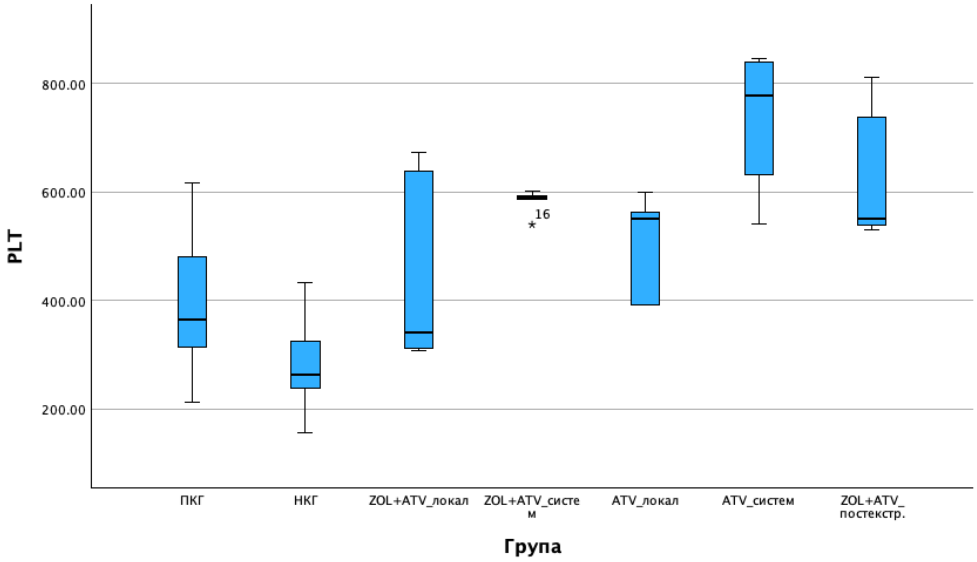
*. Сигнификантно за $p < 0,05$.

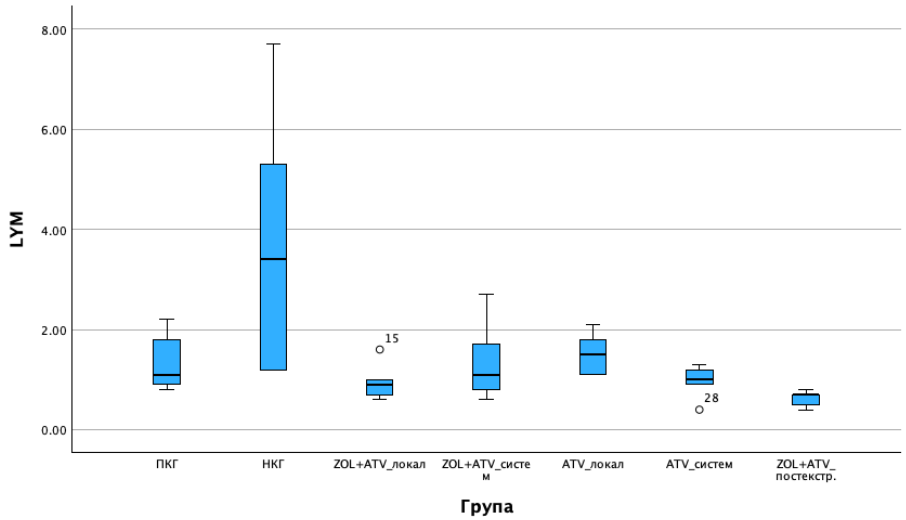


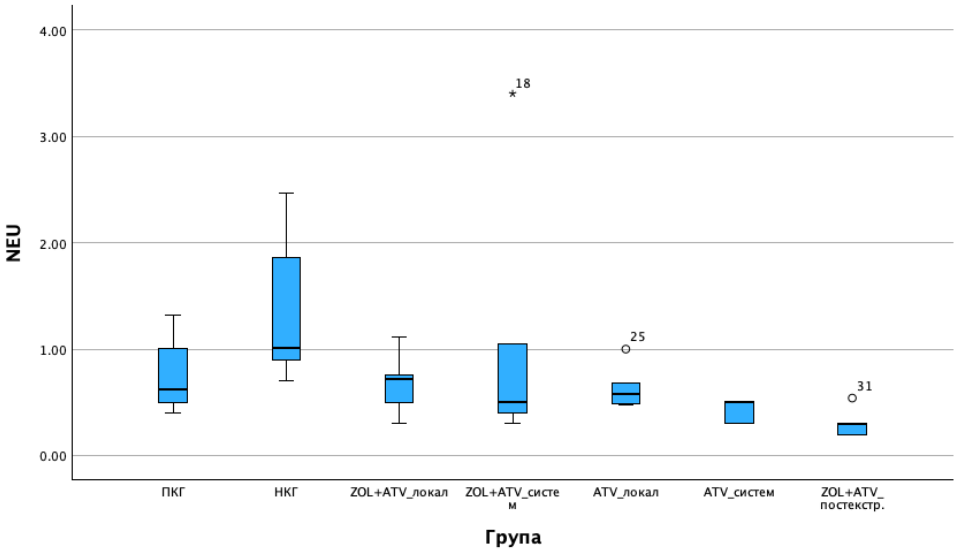

RBC
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
18
ПКГ
НКГ
ZOL+ATV_локал
ZOL+ATV_систем
ATV_локал
ATV_систем
ZOL+ATV_постекстр.
Група


HGB
22.50
20.00
17.50
15.00
12.50
10.00
26
30
6
18
ПКГ
НКГ
ZOL+ATV_локал
ZOL+ATV_систем
ATV_локал
ATV_систем
ZOL+ATV_постекстр.
Група


HCT
70.00
60.00
50.00
40.00
30.00
20.00
3
6
18
ПКГ
НКГ
ZOL+ATV_локал
ZOL+ATV_систем
ATV_локал
ATV_систем
ZOL+ATV_постекстр.
Група







Графикон 45. Столбести дијаграми на распределбата на различните крвни компоненти кај стаорците во сите испитувани групи

Основната хематолошка анализа во оваа докторска теза има улога на системска контрола и индиректен индикатор за евентуална генерализирана воспалителна или токсична реакција, со што се овозможува појасно разграничување на локалниот фенотип на MRONJ од можни системски нарушувања. Параметрите на комплетната крвна слика (еритроцити, хемоглобин, хематокрит, леукоцити и тромбоцити) не покажуваат изразени или конзистентни патолошки отстапувања меѓу групите што би укажале на системска хематолошка дисфункција како примарен фактор за појава на некротични лезии. Овој наод е важен од методолошки аспект, бидејќи потврдува дека MRONJ е претежно локален настан, поврзан со коскената и мукозната микрооколина, поддржан од системските проинфламаторни и антиоксидативни процеси, но не е резултат на генерализирана имуносупресија или хематолошка компромитација.
Во негативната контролна група може да се регистрира умерено зголемување на бројот на леукоцити, што е конзистентно со зајакнатиот локален воспалителен одговор и е во согласност со покачените вредности на TNF-α и IL-1β во истата група. Сепак, овие промени не достигнуваат ниво што би укажувало на изразена системска инфекција или септична состојба, што ја поддржува тезата дека воспалението е доминантно локално.
Во групите каде е додаден аторвастатин (особено ZOL+ATV_локал. и ZOL+ATV_систем.), вредностите на леукоцитите се стабилизираат кон физиолошки граници, што индиректно ја потврдува неговата антиинфламаторна улога и кореспондира со намалените нивоа на проинфламаторни цитокини.
Бројот на еритроцитите и тромбоцитите остануваат во граници без клинички релевантни значења, што укажува дека ниту золедронската киселина ниту аторвастатинот, во применетите дози и временски рамки, не индуцираат значајна системска хематолошка токсичност. Ова е значајно и од транслациски аспект, бидејќи ја потврдува безбедносната профилност на моделот и ја исклучува можноста дека подобрувањето на локалниот исход во ZOL+ATV групите е резултат на неспецифични системски ефекти.

6. ПРИМЕНА НА РЕЗУЛТАТИТЕ И ПОТРЕБА ОД ИДНИ ИСТРАЖУВАЊА

Резултатите добиени во рамките на ова докторско истражување отвораат значајни можности за клиничка и научна имплементација, особено во контекст на превенцијата и третманот на медикаментозно поврзаната остеонекроза на вилиците (MRONJ). Со оглед на мултидимензионалниот пристап – клинички, радиолошки, хистопатолошки, воспалителен и оксидативен – наодите овозможуваат интегрирана интерпретација на патофизиолошките механизми и потенцијалните терапевтски модалитети.

Една од најзначајните импликации на истражувањето е потврдувањето на модулаторната улога на аторвастатинот врз воспалителниот и оксидативниот одговор во услови на золедронска-индуцирана коскена супресија. Намалувањето на клиничкиот и радиолошкиот степен на коскена деструкција во групите каде што аторвастатин беше аплициран превентивно (локално или системски), во споредба со групата третирана само со золедронска киселина, укажува дека статините можат да претставуваат потенцијална адјувантна терапија кај пациенти со висок ризик за MRONJ. Ова е од особена важност во онколошката популација, каде што прекинот на антиресорптивната терапија често не е можен поради ризик од скелетни компликации.

Од клиничка перспектива, можната имплементација би можела да се движи во неколку правци. Прво, резултатите отвораат простор за разгледување на профилакса со статини кај пациенти кои почнуваат терапија со високопотентни бисфосфонати или деносумаб, особено кај оние со планирани орално-хируршки интервенции. Второ, локалната апликација на аторвастатин во периалвеоларното ткиво може да претставува минимално инвазивна, таргетирана интервенција со потенцијално поволен профил на безбедност. Трето, резултатите укажуваат дека временската поставеност на интервенцијата е од суштинско значење: превентивната апликација демонстрира поизразен ефект во споредба со одложената, постекстракциска терапија, што има директни клинички импликации во планирањето на стоматолошки процедури кај ризични пациенти.

Дополнително, радиолошката верификација на ефектот преку CBCT анализа има посебна практична вредност. За разлика од микрокомпјутерската томографија (μCT), која е ограничена на експериментални услови, CBCT претставува клинички достапна

дијагностичка метода. Фактот дека радиолошкото подобрување беше детектибилно со CBCT укажува дека евентуалните клинички испитувања би можеле да користат стандардизирани радиолошки протоколи за мониторинг на терапевтскиот одговор.

Од патофизиолошки аспект, резултатите ја потврдуваат комплексната интеракција помеѓу супресијата на коскениот ремоделинг, воспалителниот одговор и оксидативниот стрес во генезата на MRONJ. Зголемените нивоа на TNF-α и IL-1β во негативната контролна група, како и намалената активност на антиоксидативните ензими, ја нагласуваат улогата на имуновоспалителната дисрегулација и оксидативната дисфункција во прогресијата на лезијата. Во тој контекст, аторвастатин не дејствува само преку своето хиполипидемиско својство туку и преку плејотропните антиинфламаторни и антиоксидативни ефекти. Овие наоди ја поддржуваат хипотезата дека MRONJ не е исклучиво резултат на инхибиција на остеокластната активност, туку мултифакторна состојба во која имунолошките и редокс-механизмите имаат значајна улога.

Сепак, транслацијата на овие резултати во клиничка практика бара дополнителни истражувања. Пред сè, потребни се долгорочни анимални студии со поголем примерок и различни дозни режими на статини, со цел да се утврди оптималната доза, начин и времетраење на администрација. Понатаму, би било оправдано да се испитаат и други липосолубилни и хидрофилни статини со цел да се утврди дали ефектот е класно-специфичен или молекул-специфичен.

Идните истражувања треба да вклучат и проширена молекуларна анализа, вклучително и експресија на RANK/RANKL/OPG системот, маркери на ангиогенеза (VEGF), апоптоза, како и параметри на митохондријална дисфункција. Дополнително, би било од значење да се анализира локалниот ткивен оксидативен статус, а не само системските плазматски параметри, со цел попрецизно разбирање на микрооколината на лезијата.
Резултатите од ова докторско истражување укажуваат на потенцијална клиничка применливост на аторвастатин како адјувантна стратегија во превенцијата и третманот на медикаментозно поврзаната остеонекроза на вилиците. Сепак, пред евентуална транслација во клиничка практика, неопходно е спроведување на дополнителни систематски фармаколошки анализи. Особено е потребно да се дефинира оптималната

терапевтска доза, времетраење и начин на администрација на аторвастатин во контекст на антиресорптивна терапија. Иако во ова истражување беа применети дози засновани на претходни експериментални протоколи, идните студии треба да вклучат фармакокинетичка и фармакодинамичка анализа, со проценка на ткивната биорасположливост, акумулацијата во коскеното ткиво, потенцијалните интеракции со золедронска киселина и влијанието врз коскениот ремоделинг на молекуларно ниво. Дополнително, потребно е да се утврди дали ефектот на аторвастатин е дозно-зависен и дали постои терапевтски праг над кој не се постигнува дополнителна клиничка корист. Ваквата фармаколошка стандардизација е од суштинско значење за безбедна и рационална клиничка примена.

Покрај тоа, идните истражувања треба да вклучат проширени експериментални дизајни со поголем број животни и различни временски точки на евалуација, со цел подобро да се дефинира динамиката на воспалителниот и оксидативниот одговор во текот на прогресијата на MRONJ. Потребно е и испитување на долгорочните ефекти од комбинираната терапија, како и можните системски несакани ефекти. Дополнително, препорачливо е вклучување на напредни молекуларни техники, како анализа на генска експресија, протеомски профили и маркери на ангиогенеза, со цел подлабоко разбирање на механизмите преку кои аторвастатин влијае врз патогенезата на MRONJ.

Во однос на ограничувањата на студијата, потребно е да се истакне дека истражувањето е спроведено на анимален модел, кој, иако овозможува контролирани услови и експериментална репродуцибилност, не може во целост да ја репрезентира комплексноста на клиничката состојба кај луѓето. Биолошките разлики помеѓу стаорците и човечкиот организам, особено во однос на коскениот метаболизам, имунолошкиот одговор и фармакокинетиката на лековите, ја ограничуваат директната транслација на резултатите. Дополнително, моделот вклучува индуцирана екстракција на заб во строго контролирани услови, што не секогаш ја одразува реалната клиничка ситуација кај пациенти со коморбидитети, полифармакотерапија и варијабилни орални услови. Релативно малата големина на примерокот по група, иако во согласност со стандардите за претклинички студии, може да влијае врз статистичката моќ за детектирање на суптилни разлики. Исто така, анализата на биохемиските параметри беше ограничена на системски (серумски/плазматски) маркери, без директна

квантификација на локалниот ткивен оксидативен и воспалителен статус во самата лезија.

Клиничките испитувања претставуваат следната логична фаза. Рандомизирани контролирани студии кај пациенти со висок ризик за MRONJ би можеле да ја проценат безбедноста и ефикасноста на адјувантна терапија со статини. Во таа насока, неопходно е внимателно следење на потенцијалните интеракции со онколошките терапии и проценка на односно ризик-придобивка.

Конечно, резултатите од ова истражување имаат и методолошка импликација. Триангулацијата на клинички, радиолошки и хистолошки параметри ја зајакнува интерната валидност на моделот и претставува основа за стандардизација на идните претклинички студии за MRONJ. Интеграцијата на биохемиски и морфолошки параметри во единствен аналитички модел, вклучително и мултипна регресиска анализа, овозможува подобро разбирање на предикторите на тежината на лезијата.

7. ЗАКЛУЧОЦИ

Врз основа на поставените цели, дефинираните хипотези и добиените резултати од клиничката, радиолошката, хистопатолошката, воспалителната и биохемиската анализа, може да се изведат следните заклучоци:

1. Применетиот експериментален анимален модел со системска администрација на золедронска киселина и екстракција на долен молар претставува валиден, повторувачки и методолошки конзистентен модел за индуцирање на медикаментозно поврзана остеонекроза на вилиците (MRONJ), со јасно изразени клинички, радиолошки и хистопатолошки карактеристики. Системската администрација на золедронска киселина во доза од 0,66 mg/kg еднаш неделно во текот на седум недели, во комбинација со екстракција на заб, резултира со значајно нарушување на зараснувањето на постекстракциската рана, зголемен клинички скор и појава на експонирана некротична коска, полош приказ на CBCT, зголемени проинфламаторни цитокини и намален антиоксидативен потенцијал, што го потврдува индуцирањето на MRONJ.
2. MRONJ претставува мултифакториелна патолошка состојба во чија патогенеза, покрај инхибицијата на коскеното ремоделирање, значајна улога имаат воспалителните компоненти и оксидативниот стрес.
3. Аторвастатинот, применет локално и системски, во услови на супресија на коскениот метаболизам индуцирана од золедронска киселина, покажува значаен превентивен и тераписки ефект врз појавата и тежината на MRONJ.
4. Превентивната апликација на аторвастатин, како локално така и системски, доведува до значајно подобрување на клиничкиот исход во споредба со групата третирана само со золедронска киселина, што се манифестира со подобро зараснување на постекстракциската рана, намалена фреквенција и обем на експонирана некротична коска и понизок степен на воспалителни знаци.
5. Хистопатолошката анализа покажа намалување на бројот на празни остеоцитни лакуни и понизок степен на воспалителна инфилтрација во групите третирани со золедронска киселина и аторвастатин, во споредба со групата третирана само со золедронска киселина.

6. Аторвастатинот значајно ги намалува серумските концентрации на TNF-α и IL-1β, особено кога тој се дава превентивно, што ја потврдува неговата антиинфламаторна активност.
7. Примената на аторвастатин резултира со значајно подобрување на антиоксидативниот капацитет изразен преку подобрена функција на антиоксидативните ензими, особено во превентивните групи, со што придонесува во одржување на редокс-хомеостазата.
8. Локалната апликација на аторвастатин покажа споредлив, а во одредени параметри и поизразен позитивен ефект во однос на системската апликација, врз појавата и тежината на MRONJ, што укажува на потенцијал за таргетирана локална терапија со минимална системска експозиција.
9. Временската поставеност на третманот со аторвастатин применет во овој труд е од суштинско значење, при што превентивната апликација на аторвастатин веднаш по екстракцијата на заб локално и системски за време на целиот експеримент демонстрира поизразен ефект во однос на одложената, постекстракциска терапевтска апликација.
10. Постекстракцискатa (терапевтска) апликација на аторвастатин доведе до делумно подобрување на клиничките и радиолошките параметри, но не во ист обем како превентивната апликација, што укажува дека раната интервенција е критична за ограничување на коскената деструкција.
11. Интеграцијата на клиничките, радиолошките, хистолошките и биохемиски параметри овозможува триангулација на податоците и ја засилува интерната валидност на резултатите.
12. Самостојната апликација на аторвастатин локално и системски не предизвикува негативни ефекти врз коскената виталност, воспалителниот статус или оксидативната рамнотежа, туку напротив, демонстрира биолошки профил што може да се смета за поволен во контекст на коскена регенерација по извршена екстракција, намален воспалителен одговор и подобрен антиоксидативен потенцијал.

Резултатите од ова докторско истражување не само што ја потврдуваат патогенетската улога на воспалението и оксидативниот стрес во MRONJ туку отвораат и реална перспектива за примена на аторвастатинот како потенцијален превентивен и

терапевтски модалитет. И покрај тоа, потребни се дополнителни експериментални и клинички студии за целосна евалуација на неговата ефективност, безбедност и долгорочни ефекти, со цел овие наоди да добијат цврста позиција во клиничката практика.

Конечно, ова докторско истражување експериментално потврдува дека аторвастатинот, преку своите плеотропни коскени, антиинфламаторни и антиоксидативни ефекти, може значајно да ја намали појавата и да ја модифицира тежината на MRONJ, особено кога се применува превентивно (локално и системски).

8. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. Blood. 2005;105(7):2631–9.

2. Boskey AL. Mineral analysis provides insights into the mechanism of biomineralization. Calcif Tissue Int. 2003;72(5):533–6.

3. Jee WS, Yao W. Animal models of bone diseases. Introduction. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2001;1(3):183–4.

4. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3 Suppl 3(Suppl 3):S131–9.

5. Boskey AL, Coleman R. Aging and bone. J Dent Res. 2010;89(12):1333–48.

6. Weiner S, Wagner HD. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations. Annual Review of Materials Science. 1998;28(1):271–98.

7. Weiner S, Traub W, Wagner HD. Lamellar bone: structure-function relations. J Struct Biol. 1999;126(3):241–55.

8. Burr DB. Repair mechanisms for microdamage in bone. J Bone Miner Res. 2014;29(12):2534–6.

9. Burr DB. The complex relationship between bone remodeling and the physical and material properties of bone. Osteoporos Int. 2015;26(3):845–7.

10. Rho JY, Zioupos P, Currey JD, Pharr GM. Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nano-indentation. J Biomech. 2002;35(2):189–98.

11. Rho JY. Ultrasonic characterisation in determining elastic modulus of trabecular bone material. Med Biol Eng Comput. 1998;36(1):57–9.

12. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. Med Eng Phys. 1998;20(2):92–102.

13. Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. Growth Factors. 2004;22(4):233–41.

14. Sodek J, McKee MD. Molecular and cellular biology of alveolar bone. Periodontol 2000. 2000;24:99–126.

15. Sodek KL, Tupy JH, Sodek J, Grynpas MD. Relationships between bone protein and mineral in developing porcine long bone and calvaria. Bone. 2000;26(2):189–98.

16. Termine JD, Belcourt AB, Conn KM, Kleinman HK. Mineral and collagen-binding proteins of fetal calf bone. J Biol Chem. 1981;256(20):10403–8.

17. Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. Cell. 1981;26(1 Pt 1):99–105.

18. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. Cytokine Growth Factor Rev. 2004;15(6):457–75.

19. Eissa O, Yousif A, El-Bialy T, Elmarhoumy S, Ramadan S, Farag M. Evaluating Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand (RANKL) and Osteoprotegerin (OPG) expression during canine retraction: A comparison between periodontal distraction versus conventional retraction. J Orthod Sci. 2025;14:51.

20. Raisz LG. Bone cell biology: new approaches and unanswered questions. J Bone Miner Res. 1993;8 Suppl 2:S457–65.

21. Raisz LG. Prostaglandins and bone: physiology and pathophysiology. Osteoarthritis Cartilage. 1999;7(4):419–21.

22. Lombardi G, Di Somma C, Rubino M, Faggiano A, Vuolo L, Guerra E, et al. The roles of parathyroid hormone in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. J Endocrinol Invest. 2011;34(7 Suppl):18–22.

23. Finkelman RD, Linkhart TA, Mohan S, Lau KH, Baylink DJ, Bell NH. Vitamin D deficiency causes a selective reduction in deposition of transforming growth factor beta in rat bone: possible mechanism for impaired osteoinduction. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(9):3657–60.

24. Marotti G. [The role of the bone cell in the regulation of phosphorus and calcium homeostasis]. G Clin Med. 1988;69(4):243–61.

25. Mohan S, Baylink DJ. Bone growth factors. Clin Orthop Relat Res. 1991(263):30–48.

26. Fraher LJ. Biochemical markers of bone turnover. Clin Biochem. 1993;26(6):431–2.

27. Canalis E, Economides AN, Gazzerro E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. Endocr Rev. 2003;24(2):218–35.

28. Gasser JA, Kneissel M. Bone Physiology and Biology. Smith S, Varela A, Samadfam R, editors: Springer; 2017.

29. Kim HJ, Prasad V, Hyung SW, Lee ZH, Lee SW, Bhargava A, et al. Plasma membrane calcium ATPase regulates bone mass by fine-tuning osteoclast differentiation and survival. J Cell Biol. 2012;199(7):1145–58.

30. Dobnig H, Turner RT. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. Endocrinology. 1995;136(8):3632–8.

31. Caplan AI, Bruder SP. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. Trends Mol Med. 2001;7(6):259–64.

32. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature. 2002;418(6893):41–9.

33. Guntur AR, Rosen CJ. IGF-1 regulation of key signaling pathways in bone. Bonekey Rep. 2013;2:437.

34. Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, Kennedy O. Osteocytes: master orchestrators of bone. Calcif Tissue Int. 2014;94(1):5–24.

35. Verborgt O, Tatton NA, Majeska RJ, Schaffler MB. Spatial distribution of Bax and Bcl-2 in osteocytes after bone fatigue: complementary roles in bone remodeling regulation? J Bone Miner Res. 2002;17(5):907–14.

36. Everts V, Jansen IDC, de Vries TJ. Mechanisms of bone resorption. Bone. 2022;163:116499.

37. Eghbali-Fatourechi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. J Clin Invest. 2003;111(8):1221–30.

38. Gay CV, Mueller WJ. Carbonic anhydrase and osteoclasts: localization by labeled inhibitor autoradiography. Science. 1974;183(4123):432–4.

39. Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Gluck S. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. Science. 1989;245(4920):855–7.

40. Khoswanto C. Role of matrix metalloproteinases in bone regeneration: Narrative review. J Oral Biol Craniofac Res. 2023;13(5):539–43.

41. Salo J, Lehenkari P, Mulari M, Metsikko K, Vaananen HK. Removal of osteoclast bone resorption products by transcytosis. Science. 1997;276(5310):270–3.

42. Roy M, Roux S. Rab GTPases in Osteoclastic Bone Resorption and Autophagy. Int J Mol Sci. 2020;21(20).

43. Touaitahuata H, Blangy A, Vives V. Modulation of osteoclast differentiation and bone resorption by Rho GTPases. Small GTPases. 2014;5:e28119.

44. Chellaiah MA, Soga N, Swanson S, McAllister S, Alvarez U, Wang D, et al. Rho-A is critical for osteoclast podosome organization, motility, and bone resorption. J Biol Chem. 2000;275(16):11993–2002.

45. Kim JM, Yang YS, Park KH, Oh H, Greenblatt MB, Shim JH. The ERK MAPK Pathway Is Essential for Skeletal Development and Homeostasis. Int J Mol Sci. 2019;20(8).

46. Riggs BL. The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. J Clin Invest. 2000;106(10):1203–4.

47. Arias CF, Herrero MA, Echeverri LF, Oleaga GE, Lopez JM. Bone remodeling: A tissue-level process emerging from cell-level molecular algorithms. PLoS One. 2018;13(9):e0204171.

48. Krahl H, Michaelis U, Pieper HG, Quack G, Montag M. Stimulation of bone growth through sports. A radiologic investigation of the upper extremities in professional tennis players. Am J Sports Med. 1994;22(6):751–7.

49. Truesdell SL, Saunders MM. Bone remodeling platforms: Understanding the need for multicellular lab-on-a-chip systems and predictive agent-based models. Math Biosci Eng. 2019;17(2):1233–52.

50. Bentolila V, Boyce TM, Fyhrie DP, Drumb R, Skerry TM, Schaffler MB. Intracortical remodeling in adult rat long bones after fatigue loading. Bone. 1998;23(3):275–81.

51. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. Anat Rec. 1990;226(4):403–13.

52. Frost A. synchronous group of mammalian cells whose in vivo behavior can be studied. enry Ford Hospital Medical Bulletin. 1965;13:161–72.

53. Everts V, Delaisse JM, Korper W, Jansen DC, Tigchelaar-Gutter W, Saftig P, et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. J Bone Miner Res. 2002;17(1):77–90.

54. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. Rev Endocr Metab Disord. 2010;11(4):219–27.

55. Carter PH, Schipani E. The roles of parathyroid hormone and calcitonin in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2006;6(1):59–76.

56. Stein DJ, Noordzij JP, Kepchar J, McLeod IK, Brietzke S, Calo PG. Use of Parathyroid Hormone Assay after Thyroidectomy: A Survey of US and European Surgeons. Clin Med Insights Endocrinol Diabetes. 2013;6:39–45.

57. Silva BC, Bilezikian JP. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. Curr Opin Pharmacol. 2015;22:41–50.

58. O'Brien CA, Plotkin LI, Galli C, Goellner JJ, Gortazar AR, Allen MR, et al. Control of bone mass and remodeling by PTH receptor signaling in osteocytes. PLoS One. 2008;3(8):e2942.

59. Wang Y, Li YP, Paulson C, Shao JZ, Zhang X, Wu M, et al. Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease. Front Biosci (Landmark Ed). 2014;19(3):379–407.

60. Zaidi M, Moonga BS, Abe E. Calcitonin and bone formation: a knockout full of surprises. J Clin Invest. 2002;110(12):1769–71.

61. Zhu S, Pang Y, Xu J, Chen X, Zhang C, Wu B, et al. Endocrine Regulation on Bone by Thyroid. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:873820.

62. Delitala AP, Scuteri A, Doria C. Thyroid Hormone Diseases and Osteoporosis. J Clin Med. 2020;9(4).

63. Bassett JH, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. Endocr Rev. 2016;37(2):135–87.

64. Olney RC. Regulation of bone mass by growth hormone. Med Pediatr Oncol. 2003;41(3):228–34.

65. Feng X, McDonald JM. Disorders of bone remodeling. Annu Rev Pathol. 2011;6:121–45.

66. Yuen KCJ. Growth Hormone and Bone: Preclinical and Clinical Perspectives. Endocr Pract. 2025;31(9):1197–206.

67. Koneski F, Popovic-Monevska D, Gjorgoski I, Krajoska J, Popovska M, Muratovska I, et al. In vivo effects of geranylgeraniol on the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Craniomaxillofac Surg. 2018;46(2):230–6.

68. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. J Clin Invest. 1998;102(2):274–82.

69. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. Curr Osteoporos Rep. 2005;3(3):98–102.

70. Hofbauer LC, Compston JE, Saag KG, Rauner M, Tsourdi E. Glucocorticoid-induced osteoporosis: novel concepts and clinical implications. Lancet Diabetes Endocrinol. 2025;13(11):964–79.

71. Mitra R. Adverse effects of corticosteroids on bone metabolism: a review. PM R. 2011;3(5):466–71; quiz 71.

72. Henneicke H, Gasparini SJ, Brennan-Speranza TC, Zhou H, Seibel MJ. Glucocorticoids and bone: local effects and systemic implications. Trends Endocrinol Metab. 2014;25(4):197–211.

73. Ribot C. [Comparison of changes in biochemical markers of bone remodeling after 6 months of hormone replacement therapy with either transdermal 17 beta-estradiol or equine conjugated estrogen plus nomegestrol acetate. Gynecol Obstet Fertil 2003; 31:434-441]. Gynecol Obstet Fertil. 2003;31(12):1079–80.

74. Khosla S, Amin S, Orwoll E. Osteoporosis in men. Endocr Rev. 2008;29(4):441–64.

75. Manolagas SC, O'Brien CA, Almeida M. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. Nat Rev Endocrinol. 2013;9(12):699–712.

76. Lips P, van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25(4):585–91.

77. Tanzy ME, Camacho PM. Effect of vitamin D therapy on bone turnover markers in postmenopausal women with osteoporosis and osteopenia. Endocr Pract. 2011;17(6):873–9.

78. Tang P, Yao Q, Zhang W, Liang Y, Zhang L, Wang Y. A study of femoral neck fracture repair using a recombinant human bone morphogenetic protein-2 directional release system. Tissue Eng Part A. 2009;15(12):3971–8.

79. Chen G, Deng C, Li YP. TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. Int J Biol Sci. 2012;8(2):272–88.

80. Liao J, Wu T, Zhang Q, Shen P, Huang Z, Wang J, et al. TGF-beta/BMP signaling in skeletal biology: molecular mechanisms, regulatory networks, and therapeutic implications in development, regeneration, and disease. Bone Res. 2026;14(1):6.

81. Bismar H, Kloppinger T, Schuster EM, Balbach S, Diel I, Ziegler R, et al. Transforming growth factor beta (TGF-beta) levels in the conditioned media of human bone cells: relationship to donor age, bone volume, and concentration of TGF-beta in human bone matrix in vivo. Bone. 1999;24(6):565–9.

82. Mano M, Arakawa T, Mano H, Nakagawa M, Kaneda T, Kaneko H, et al. Prostaglandin E2 directly inhibits bone-resorbing activity of isolated mature osteoclasts mainly through the EP4 receptor. Calcif Tissue Int. 2000;67(1):85–92.

83. Li M, Thompson DD, Paralkar VM. Prostaglandin E(2) receptors in bone formation. Int Orthop. 2007;31(6):767–72.

84. Minamizaki T, Yoshiko Y, Kozai K, Aubin JE, Maeda N. EP2 and EP4 receptors differentially mediate MAPK pathways underlying anabolic actions of prostaglandin E2 on bone formation in rat calvaria cell cultures. Bone. 2009;44(6):1177–85.

85. Roodman GD. Role of cytokines in the regulation of bone resorption. Calcif Tissue Int. 1993;53 Suppl 1:S94–8.

86. Kitaura H, Marahleh A, Ohori F, Noguchi T, Shen WR, Qi J, et al. Osteocyte-Related Cytokines Regulate Osteoclast Formation and Bone Resorption. Int J Mol Sci. 2020;21(14).

87. Lin WL, McCulloch CA, Cho MI. Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. Anat Rec. 1994;240(4):492–506.

88. Cardaropoli G, Araujo M, Hayacibara R, Sukekava F, Lindhe J. Healing of extraction sockets and surgically produced - augmented and non-augmented - defects in the alveolar ridge. An experimental study in the dog. J Clin Periodontol. 2005;32(5):435–40.

89. Sato H, Takeda Y. Proliferative activity, apoptosis, and histogenesis in the early stages of rat tooth extraction wound healing. Cells Tissues Organs. 2007;186(2):104–11.

90. Udeabor SE, Heselich A, Al-Maawi S, Alqahtani AF, Sader R, Ghanaati S. Current Knowledge on the Healing of the Extraction Socket: A Narrative Review. Bioengineering (Basel). 2023;10(10).

91. Fok MR, Jin L. Learn, unlearn, and relearn post-extraction alveolar socket healing: Evolving knowledge and practices. J Dent. 2024;145:104986.

92. Aimetti M, Romano F, Griga FB, Godio L. Clinical and histologic healing of human extraction sockets filled with calcium sulfate. Int J Oral Maxillofac Implants. 2009;24(5):902–9.

93. Kim JH, Susin C, Min JH, Suh HY, Sang EJ, Ku Y, et al. Extraction sockets: erratic healing impeding factors. J Clin Periodontol. 2014;41(1):80–5.

94. Pagni G, Pellegrini G, Giannobile WV, Rasperini G. Postextraction alveolar ridge preservation: biological basis and treatments. Int J Dent. 2012;2012:151030.

95. Trombelli L, Farina R, Marzola A, Bozzi L, Liljenberg B, Lindhe J. Modeling and remodeling of human extraction sockets. J Clin Periodontol. 2008;35(7):630–9.

96. Amler MH, Johnson PL, Salman I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. J Am Dent Assoc. 1960;61:32–44.

97. Shen Y, Huang X, Wu J, Lin X, Zhou X, Zhu Z, et al. The Global Burden of Osteoporosis, Low Bone Mass, and Its Related Fracture in 204 Countries and Territories, 1990-2019. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:882241.

98. Gregson CL, Armstrong DJ, Avgerinou C, Bowden J, Cooper C, Douglas L, et al. The 2024 UK clinical guideline for the prevention and treatment of osteoporosis. Arch Osteoporos. 2025;20(1):119.

99. Sandhu SK, Hampson G. The pathogenesis, diagnosis, investigation and management of osteoporosis. J Clin Pathol. 2011;64(12):1042–50.

100. Brand RA. 50 Years ago in CORR: epidemiology of fracture in aged persons: a preliminary investigation in fracture etiology Goran C. H. Bauer CORR 1960;17:219-225. Clin Orthop Relat Res. 2010;468(7):1998–9.

101. Iqbal S, Abuajlan M, Alktheri A, Malik ZI, Ahmad AMR, Qudah T, et al. Effect of vitamin D-fortified foods on bone health and osteoporosis: a scoping review and future policies focusing on the United Arab Emirates. Arch Osteoporos. 2025;20(1):128.

102. Hsu SH, Chen LR, Chen KH. Primary Osteoporosis Induced by Androgen and Estrogen Deficiency: The Molecular and Cellular Perspective on Pathophysiological Mechanisms and Treatments. Int J Mol Sci. 2024;25(22).

103. Wu Y, Guo X, Jiang A, Bai J, Nie X. Estrogen regulates duodenal calcium absorption and improves postmenopausal osteoporosis by the effect of ERbeta on PMCA1b. Sci Rep. 2025;15(1):16053.

104. Dolev E, Hornik D. [Male osteoporosis]. Harefuah. 1995;129(12):573–5.

105. Heshmati HM, Khosla S. Idiopathic osteoporosis: a heterogeneous entity. Ann Med Interne (Paris). 1998;149(2):77–81.

106. Rocha-Braz MG, Ferraz-de-Souza B. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. Arch Endocrinol Metab. 2016;60(4):391–401.

107. Misra M. Effects of hypogonadism on bone metabolism in female adolescents and young adults. Nat Rev Endocrinol. 2012;8(7):395–404.

108. Roodman GD, Windle JJ. Paget disease of bone. J Clin Invest. 2005;115(2):200–8.

109. Siris ES, Ottman R, Flaster E, Kelsey JL. Familial aggregation of Paget's disease of bone. 1991. J Bone Miner Res. 2005;20(3):542–7.

110. Morales-Piga AA, Rey-Rey JS, Corres-Gonzalez J, Garcia-Sagredo JM, Lopez-Abente G. Frequency and characteristics of familial aggregation of Paget's disease of bone. J Bone Miner Res. 1995;10(4):663–70.

111. Laurin N, Brown JP, Morissette J, Raymond V. Recurrent mutation of the gene encoding sequestosome 1 (SQSTM1/p62) in Paget disease of bone. Am J Hum Genet. 2002;70(6):1582–8.

112. Morissette J, Laurin N, Brown JP. Sequestosome 1: mutation frequencies, haplotypes, and phenotypes in familial Paget's disease of bone. J Bone Miner Res. 2006;21 Suppl 2:P38–44.

113. Albagha OM, Visconti MR, Alonso N, Langston AL, Cundy T, Dargie R, et al. Genome-wide association study identifies variants at CSF1, OPTN and TNFRSF11A as genetic risk factors for Paget's disease of bone. Nat Genet. 2010;42(6):520–4.

114. Albagha OM, Visconti MR, Alonso N, Wani S, Goodman K, Fraser WD, et al. Common susceptibility alleles and SQSTM1 mutations predict disease extent and severity in a multinational study of patients with Paget's disease. J Bone Miner Res. 2013;28(11):2338–46.

115. Albagha OM, Wani SE, Visconti MR, Alonso N, Goodman K, Brandi ML, et al. Genome-wide association identifies three new susceptibility loci for Paget's disease of bone. Nat Genet. 2011;43(7):685–9.

116. Chappard D, Bouvard B, Basle MF, Legrand E, Audran M. Bone metastasis: histological changes and pathophysiological mechanisms in osteolytic or osteosclerotic localizations. A review. Morphologie. 2011;95(309):65–75.

117. Macedo F, Ladeira K, Pinho F, Saraiva N, Bonito N, Pinto L, et al. Bone Metastases: An Overview. Oncol Rev. 2017;11(1):321.

118. Jayarangaiah A, Kemp AK, Theetha Kariyanna P. Bone Metastasis. StatPearls. Treasure Island (FL)2025.

119. Ban J, Fock V, Aryee DNT, Kovar H. Mechanisms, Diagnosis and Treatment of Bone Metastases. Cells. 2021;10(11).

120. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. Blood. 2008;111(6):2962–72.

121. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. J Cell Biochem. 2010;109(2):283–91.

122. Roodman GD. Pathogenesis of myeloma bone disease. Blood Cells Mol Dis. 2004;32(2):290–2.

123. Kanis JA, McCloskey EV. Bisphosphonates in multiple myeloma. Cancer. 2000;88(12 Suppl):3022–32.

124. McCloskey EV. Clodronate in the management of breast cancer and multiple myeloma. Ortop Traumatol Rehabil. 2003;5(2):227–33.

125. McCloskey EV, Dunn JA, Kanis JA, MacLennan IC, Drayson MT. Long-term follow-up of a prospective, double-blind, placebo-controlled randomized trial of clodronate in multiple myeloma. Br J Haematol. 2001;113(4):1035–43.

126. McCloskey EV, Guest JF, Kanis JA. The clinical and cost considerations of bisphosphonates in preventing bone complications in patients with metastatic breast cancer or multiple myeloma. Drugs. 2001;61(9):1253–74.

127. Okada Y, Tsukada J, Nakano K, Tonai S, Mine S, Tanaka Y. Macrophage inflammatory protein-1alpha induces hypercalcemia in adult T-cell leukemia. J Bone Miner Res. 2004;19(7):1105–11.

128. Kiyokawa T, Yamaguchi K, Takeya M, Takahashi K, Watanabe T, Matsumoto T, et al. Hypercalcemia and osteoclast proliferation in adult T-cell leukemia. Cancer. 1987;59(6):1187–91.

129. Franczyk J, Samuels T, Rubenstein J, Srigley J, Morava-Protzner I. Skeletal lymphoma. Can Assoc Radiol J. 1989;40(2):75–9.

130. Seymour JF, Gagel RF, Hagemeister FB, Dimopoulos MA, Cabanillas F. Calcitriol production in hypercalcemic and normocalcemic patients with non-Hodgkin lymphoma. Ann Intern Med. 1994;121(9):633–40.

131. Roodman GD. Mechanisms of bone lesions in multiple myeloma and lymphoma. Cancer. 1997;80(8 Suppl):1557–63.

132. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. Lancet. 2004;363(9418):1377–85.

133. Masci M, Wang M, Imbert L, Barnes AM, Spevak L, Lukashova L, et al. Bone mineral properties in growing Col1a2(+/G610C) mice, an animal model of osteogenesis imperfecta. Bone. 2016;87:120–9.

134. Moosa S, Yamamoto GL, Garbes L, Keupp K, Beleza-Meireles A, Moreno CA, et al. Autosomal-Recessive Mutations in MESD Cause Osteogenesis Imperfecta. Am J Hum Genet. 2019;105(4):836–43.

135. Morello R, Bertin TK, Chen Y, Hicks J, Tonachini L, Monticone M, et al. CRTAP is required for prolyl 3- hydroxylation and mutations cause recessive osteogenesis imperfecta. Cell. 2006;127(2):291–304.

136. Stasek S, Zaucke F, Hoyer-Kuhn H, Etich J, Reincke S, Arndt I, et al. Osteogenesis imperfecta: shifting paradigms in pathophysiology and care in children. J Pediatr Endocrinol Metab. 2025;38(1):1–15.

137. Hoyer-Kuhn H, Netzer C, Semler O. Osteogenesis imperfecta: pathophysiology and treatment. Wien Med Wochenschr. 2015;165(13-14):278–84.

138. Hoyer-Kuhn H, Stark C, Franklin J, Schoenau E, Semler O. Correlation of Bone Mineral Density on Quality of Life in Patients with Osteogenesis Imperfecta during Treatment with Denosumab. Pediatr Endocrinol Rev. 2017;15(Suppl 1):123–9.

139. Marx RE. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: a challenge, a responsibility, and an opportunity. Int J Periodontics Restorative Dent. 2008;28(1):5–6.

140. Migliorati CA. Intravenous bisphosphonate therapy may lead to osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma, breast, and prostate cancer patients. J Evid Based Dent Pract. 2008;8(2):93–4.

141. Advisory Task Force on Bisphosphonate-Related Ostenonecrosis of the Jaws AAoO, Maxillofacial S. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Oral Maxillofac Surg. 2007;65(3):369–76.

142. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67(5 Suppl):2–12.

143. Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw--2014 update. J Oral Maxillofac Surg. 2014;72(10):1938–56.

144. Ruggiero SL, Dodson TB, Aghaloo T, Carlson ER, Ward BB, Kademani D. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' Position Paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws-2022 Update. J Oral Maxillofac Surg. 2022;80(5):920–43.

145. Otto S, Pautke C, Van den Wyngaert T, Niepel D, Schiodt M. Medication-related osteonecrosis of the jaw: Prevention, diagnosis and management in patients with cancer and bone metastases. Cancer Treat Rev. 2018;69:177–87.

146. Pautke C, Wick A, Otto S, Hohlweg-Majert B, Hoffmann J, Ristow O. The Type of Antiresorptive Treatment Influences the Time to Onset and the Surgical Outcome of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. J Oral Maxillofac Surg. 2021;79(3):611–21.

147. Wick A, Bankosegger P, Otto S, Hohlweg-Majert B, Steiner T, Probst F, et al. Risk factors associated with onset of medication-related osteonecrosis of the jaw in patients treated with denosumab. Clin Oral Investig. 2022;26(3):2839–52.

148. Hallmer F, Andersson G, Gotrick B, Warfvinge G, Anderud J, Bjornland T. Prevalence, initiating factor, and treatment outcome of medication-related osteonecrosis of the jaw-a 4-year prospective study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2018;126(6):477–85.

149. Grbic JT, Black DM, Lyles KW, Reid DM, Orwoll E, McClung M, et al. The incidence of osteonecrosis of the jaw in patients receiving 5 milligrams of zoledronic acid: data from the health outcomes and reduced incidence with zoledronic acid once yearly clinical trials program. J Am Dent Assoc. 2010;141(11):1365–70.

150. Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. J Bone Miner Res. 2012;27(3):694–701.

151. Rizzoli R, Burlet N, Cahall D, Delmas PD, Eriksen EF, Felsenberg D, et al. Osteonecrosis of the jaw and bisphosphonate treatment for osteoporosis. Bone. 2008;42(5):841–7.

152. Hallmer F, Bjarnadottir O, Gotrick B, Malmstrom P, Andersson G. Incidence of and risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaw in women with breast cancer with bone metastasis: a population-based study. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2020;130(3):252–7.

153. Fu PA, Shen CY, Yang SR, Lee CH, Chen HW, Lai EC, et al. Long-term use of denosumab and its association with skeletal-related events and osteonecrosis of the jaw. Sci Rep. 2023;13(1):8403.

154. Mauri D, Valachis A, Polyzos IP, Polyzos NP, Kamposioras K, Pesce LL. Osteonecrosis of the jaw and use of bisphosphonates in adjuvant breast cancer treatment: a meta-analysis. Breast Cancer Res Treat. 2009;116(3):433–9.

155. Saag KG, Petersen J, Brandi ML, Karaplis AC, Lorentzon M, Thomas T, et al. Romosozumab or Alendronate for Fracture Prevention in Women with Osteoporosis. N Engl J Med. 2017;377(15):1417–27.

156. Cosman F, Oates M, Betah D, Timoshanko J, Wang Z, Ferrari S, et al. Romosozumab followed by denosumab versus denosumab only: a post hoc analysis of FRAME and FRAME extension. J Bone Miner Res. 2024;39(9):1268–77.

157. Hennedige AA, Jayasinghe J, Khajeh J, Macfarlane TV. Systematic review on the incidence of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw in children diagnosed with osteogenesis imperfecta. J Oral Maxillofac Res. 2013;4(4):e1.

158. Rosales HD, Garcia Guevara H, Requejo S, Jensen MD, Acero J, Olate S. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws (MRONJ) in Children and Young Patients-A Systematic Review. J Clin Med. 2023;12(4).

159. Schiodt M, Otto S, Fedele S, Bedogni A, Nicolatou-Galitis O, Guggenberger R, et al. Workshop of European task force on medication-related osteonecrosis of the jaw-Current challenges. Oral Dis. 2019;25(7):1815–21.

160. Otto S, Aljohani S, Fliefel R, Ecke S, Ristow O, Burian E, et al. Infection as an Important Factor in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ). Medicina (Kaunas). 2021;57(5).

161. Aghaloo T, Hazboun R, Tetradis S. Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaws. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2015;27(4):489–96.

162. Pabst AM, Kruger M, Blatt S, Ziebart T, Rahimi-Nedjat R, Goetze E, et al. Angiogenesis in the Development of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws: An Overview. Dent J (Basel). 2016;5(1).

163. Pabst AM, Ziebart T, Ackermann M, Konerding MA, Walter C. Bisphosphonates' antiangiogenic potency in the development of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws: influence on microvessel sprouting in an in vivo 3D Matrigel assay. Clin Oral Investig. 2014;18(3):1015–22.

164. Kikuiri T, Kim I, Yamaza T, Akiyama K, Zhang Q, Li Y, et al. Cell-based immunotherapy with mesenchymal stem cells cures bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. J Bone Miner Res. 2010;25(7):1668–79.

165. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. J Oral Maxillofac Surg. 2005;63(11):1567–75.

166. T I. Pathophysiology of BRONJ: Drug-related osteoclastic disease of the jaw. Oral Science International. 2013;10(1):1–8.

167. Ciobanu GA, Camen A, Ionescu M, Vlad D, Munteanu CM, Gheorghita MI, et al. Risk Factors for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-A Binomial Analysis of Data of Cancer Patients from Craiova and Constanta Treated with Zoledronic Acid. J Clin Med. 2023;12(11).

168. Komatsu Y, Kawai T, Hirano T, Hoshi I, Yamaya G, Ogawa A, et al. Risk factors of medication-related osteonecrosis of the jaw: A clinical investigation. J Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2024;125(6):101791.

169. Tani M, Hatano K, Yoshimura A, Horibe Y, Liu Y, Sassi N, et al. Cumulative incidence and risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaw during long-term prostate cancer management. Sci Rep. 2024;14(1):13451.

170. Coleman RE, McCloskey EV. Bisphosphonates in oncology. Bone. 2011;49(1):71–6.

171. Bhandari M. Bisphosphonates and skeletal morbidity in patients with metastatic cancer. CMAJ. 2003;169(10):1053.

172. Sparidans RW, Twiss IM, Talbot S. Bisphosphonates in bone diseases. Pharm World Sci. 1998;20(5):206–13.

173. Dunstan CR, Felsenberg D, Seibel MJ. Therapy insight: the risks and benefits of bisphosphonates for the treatment of tumor-induced bone disease. Nat Clin Pract Oncol. 2007;4(1):42–55.

174. Fleisch H. Bisphosphonates in osteoporosis. Eur Spine J. 2003;12 Suppl 2(Suppl 2):S142–6.

175. Holen I, Coleman RE. Bisphosphonates as treatment of bone metastases. Curr Pharm Des. 2010;16(11):1262–71.

176. Corral-Gudino L, Tan AJ, Del Pino-Montes J, Ralston SH. Bisphosphonates for Paget's disease of bone in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2017;12(12):CD004956.

177. Deslivia MF, Savio SD, Wiratnaya I, Astawa P, Sandiwidayat KS, Bimantara NG. The Efficacy of Bisphosphonate in the Treatment of Giant Cell Tumour of the Bone: A Systematic Review and Meta-Analysis. Malays Orthop J. 2023;17(1):98–110.

178. Peddi P, Lopez-Olivo MA, Pratt GF, Suarez-Almazor ME. Denosumab in patients with cancer and skeletal metastases: a systematic review and meta-analysis. Cancer Treat Rev. 2013;39(1):97–104.

179. Zaheer S, LeBoff M, Lewiecki EM. Denosumab for the treatment of osteoporosis. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2015;11(3):461–70.

180. Gul G, Sendur MA, Aksoy S, Sever AR, Altundag K. A comprehensive review of denosumab for bone metastasis in patients with solid tumors. Curr Med Res Opin. 2016;32(1):133–45.

181. Sutton EE, Riche DM. Denosumab, a RANK ligand inhibitor, for postmenopausal women with osteoporosis. Ann Pharmacother. 2012;46(7-8):1000–9.

182. Fleisch H. Development of bisphosphonates. Breast Cancer Res. 2002;4(1):30–4.

183. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. Bone. 2011;49(1):2–19.

184. Cremers S, Drake MT, Ebetino FH, Bilezikian JP, Russell RGG. Pharmacology of bisphosphonates. Br J Clin Pharmacol. 2019;85(6):1052–62.

185. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. Endocr Rev. 1998;19(1):80–100.

186. Cremers S, Papapoulos S. Pharmacology of bisphosphonates. Bone. 2011;49(1):42–9.

187. van Beek ER, Cohen LH, Leroy IM, Ebetino FH, Lowik CW, Papapoulos SE. Differentiating the mechanisms of antiresorptive action of nitrogen containing bisphosphonates. Bone. 2003;33(5):805–11.

188. McClung M. Bisphosphonates. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2006;50(4):735–44.

189. McClung MR. Bisphosphonates. Endocrinol Metab Clin North Am. 2003;32(1):253–71.

190. Lasseter KC, Porras AG, Denker A, Santhanagopal A, Daifotis A. Pharmacokinetic considerations in determining the terminal elimination half-lives of bisphosphonates. Clin Drug Investig. 2005;25(2):107–14.

191. Miller PD. The kidney and bisphosphonates. Bone. 2011;49(1):77–81.

192. Drake MT, Clarke BL, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. Mayo Clin Proc. 2008;83(9):1032–45.

193. Cheng A, Daly CG, Logan RM, Stein B, Goss AN. Alveolar bone and the bisphosphonates. Aust Dent J. 2009;54 Suppl 1:S51–61.

194. Frith JC, Rogers MJ. Antagonistic effects of different classes of bisphosphonates in osteoclasts and macrophages in vitro. J Bone Miner Res. 2003;18(2):204–12.

195. Sahid MNA. Non-Nitrogen-Containing Bisphosphonates Prevent Pyrophosphorylation of Exocytosis Proteins. Curr Protein Pept Sci. 2022;23(8):505–9.

196. Reszka AA, Rodan GA. Mechanism of action of bisphosphonates. Curr Osteoporos Rep. 2003;1(2):45–52.

197. Rogers MJ, Monkkonen J, Munoz MA. Molecular mechanisms of action of bisphosphonates and new insights into their effects outside the skeleton. Bone. 2020;139:115493.

198. C KMC, Hudock MP, Zhang Y, Guo RT, Cao R, No JH, et al. Inhibition of geranylgeranyl diphosphate synthase by bisphosphonates: a crystallographic and computational investigation. J Med Chem. 2008;51(18):5594–607.

199. Guo RT, Cao R, Liang PH, Ko TP, Chang TH, Hudock MP, et al. Bisphosphonates target multiple sites in both cis- and trans-prenyltransferases. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007;104(24):10022–7.

200. Wasko BM, Dudakovic A, Hohl RJ. Bisphosphonates induce autophagy by depleting geranylgeranyl diphosphate. J Pharmacol Exp Ther. 2011;337(2):540–6.

201. Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. Bone. 1996;18(2):75–85.

202. Hadad H, de Jesus LK, da Silva MP, Oliveira M, Guastaldi FPS, Nilsson O, et al. A Systematic Review of the Effects of Bisphosphonates on Osteoblasts In Vitro. Calcif Tissue Int. 2025;116(1):86.

203. Idris AI, Rojas J, Greig IR, Van't Hof RJ, Ralston SH. Aminobisphosphonates cause osteoblast apoptosis and inhibit bone nodule formation in vitro. Calcif Tissue Int. 2008;82(3):191–201.

204. Santini D, Vespasiani Gentilucci U, Vincenzi B, Picardi A, Vasaturo F, La Cesa A, et al. The antineoplastic role of bisphosphonates: from basic research to clinical evidence. Ann Oncol. 2003;14(10):1468–76.

205. Jia J, Yao W, Amugongo S, Shahnazari M, Dai W, Lay YA, et al. Prolonged alendronate treatment prevents the decline in serum TGF-beta1 levels and reduces cortical bone strength in long-term estrogen deficiency rat model. Bone. 2013;52(1):424–32.

206. Manzano-Moreno FJ, Ramos-Torrecillas J, Melguizo-Rodriguez L, Illescas-Montes R, Ruiz C, Garcia-Martinez O. Bisphosphonate Modulation of the Gene Expression of Different Markers Involved in Osteoblast Physiology: Possible Implications in Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. Int J Med Sci. 2018;15(4):359–67.

207. Papapetrou PD. Bisphosphonate-associated adverse events. Hormones (Athens). 2009;8(2):96–110.

208. de Groen PC, Lubbe DF, Hirsch LJ, Daifotis A, Stephenson W, Freedholm D, et al. Esophagitis associated with the use of alendronate. N Engl J Med. 1996;335(14):1016–21.

209. Wysowski DK. Reports of esophageal cancer with oral bisphosphonate use. N Engl J Med. 2009;360(1):89–90.

210. Solomon DH, Patrick A, Brookhart MA. More on reports of esophageal cancer with oral bisphosphonate use. N Engl J Med. 2009;360(17):1789–90; author reply 91–2.

211. McKague M, Jorgenson D, Buxton KA. Ocular side effects of bisphosphonates: A case report and literature review. Can Fam Physician. 2010;56(10):1015–7.

212. Dasanu CA, Alexandrescu DT. Acute retinal pigment epithelial detachment secondary to pamidronate administration. J Oncol Pharm Pract. 2009;15(2):119–21.

213. Clark EM, Durup D. Inflammatory eye reactions with bisphosphonates and other osteoporosis medications: what are the risks? Ther Adv Musculoskelet Dis. 2015;7(1):11–6.

214. Chartrand NA, Lau CK, Parsons MT, Handlon JJ, Ronquillo YC, Hoopes PC, et al. Ocular Side Effects of Bisphosphonates: A Review of Literature. J Ocul Pharmacol Ther. 2023;39(1):3–16.

215. Gonzalez Barlatay J, Pagano Boza C, Hernandez Gauna GV, Premoli JE. Orbital Inflammation Caused by Aminobisphosphonates. J Ophthalmic Vis Res. 2022;17(1):118–22.

216. Aurich-Barrera B, Wilton L, Harris S, Shakir SA. Ophthalmological events in patients receiving risedronate: summary of information gained through follow-up in a prescription-event monitoring study in England. Drug Saf. 2006;29(2):151–60.

217. Banerjee D, Asif A, Striker L, Preston RA, Bourgoignie JJ, Roth D. Short-term, high-dose pamidronate-induced acute tubular necrosis: the postulated mechanisms of bisphosphonate nephrotoxicity. Am J Kidney Dis. 2003;41(5):E18.

218. Loewenstein I, Urtreger NO, Schwartz D, Zubkov A, Ingbir M. Acute Tubular Necrosis Attributed to High-Dose Everolimus with High-Potency Bisphosphonates for Advanced Breast Cancer: A Case Report. Nephron. 2025;149(6):333–8.

219. Perazella MA, Markowitz GS. Bisphosphonate nephrotoxicity. Kidney Int. 2008;74(11):1385–93.

220. Hasegawa T, Komamine M, Ishiguro C, Motomura H, Kajiyama K, Nonaka T, et al. Increased risk of hypocalcemia with decreased kidney function in patients prescribed bisphosphonates based on real-world data from the MID-NET((R)) in Japan: a new-user cohort study. BMC Nephrol. 2024;25(1):134.

221. Zuradelli M, Masci G, Biancofiore G, Gullo G, Scorsetti M, Navarria P, et al. High incidence of hypocalcemia and serum creatinine increase in patients with bone metastases treated with zoledronic acid. Oncologist. 2009;14(5):548–56.

222. Liamis G, Milionis HJ, Elisaf M. A review of drug-induced hypocalcemia. J Bone Miner Metab. 2009;27(6):635–42.

223. Schussheim DH, Jacobs TP, Silverberg SJ. Hypocalcemia associated with alendronate. Ann Intern Med. 1999;130(4 Pt 1):329.

224. Adami S, Bhalla AK, Dorizzi R, Montesanti F, Rosini S, Salvagno G, et al. The acute-phase response after bisphosphonate administration. Calcif Tissue Int. 1987;41(6):326–31.

225. Olson K, Van Poznak C. Significance and impact of bisphosphonate-induced acute phase responses. J Oncol Pharm Pract. 2007;13(4):223–9.

226. Wang F, Xu G, Wang Q, Wu X. A disproportionality analysis of cardiac arrhythmia associated with bisphosphonates based on the FAERS database. Sci Rep. 2025;15(1):20753.

227. Herrera L, Leal I, Lapi F, Schuemie M, Arcoraci V, Cipriani F, et al. Risk of atrial fibrillation among bisphosphonate users: a multicenter, population-based, Italian study. Osteoporos Int. 2015;26(5):1499–506.

228. Caplan L, Pittman CB, Zeringue AL, Scherrer JF, Wehmeier KR, Cunningham FE, et al. An observational study of musculoskeletal pain among patients receiving bisphosphonate therapy. Mayo Clin Proc. 2010;85(4):341–8.

229. Lu J, Hu D, Zhang Y, Ma C, Shen L, Shuai B. Current comprehensive understanding of denosumab (the RANKL neutralizing antibody) in the treatment of bone metastasis of malignant tumors, including pharmacological mechanism and clinical trials. Front Oncol. 2023;13:1133828.

230. Narayanan P. Denosumab: A comprehensive review. South Asian J Cancer. 2013;2(4):272–7.

231. Goessl C, Katz L, Dougall WC, Kostenuik PJ, Zoog HB, Braun A, et al. The development of denosumab for the treatment of diseases of bone loss and cancer-induced bone destruction. Ann N Y Acad Sci. 2012;1263:29–40.

232. Sohn W, Simiens MA, Jaeger K, Hutton S, Jang G. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of denosumab in patients with advanced solid tumours and bone metastases: a systematic review. Br J Clin Pharmacol. 2014;78(3):477–87.

233. Li R, Yuan X, Chen X, Ou Y, Chen J. Analysis of adverse drug reactions of Denosumab (Prolia) in osteoporosis based on FDA adverse event reporting system (FAERS). Front Pharmacol. 2024;15:1358592.

234. Dadana S, Gundepalli S, Kondapalli A. Severe Refractory Hypocalcemia Caused by Denosumab. Cureus. 2023;15(6):e39866.

235. Irelli A, Sirufo MM, D'Ugo C, Ginaldi L, De Martinis M. Real-life use of denosumab 120 mg every 12 weeks in prolonged treatment over 2 years of patients with breast cancer bone metastases. J BUON. 2020;25(4):1799–804.

236. Fizazi K, Bosserman L, Gao G, Skacel T, Markus R. Denosumab treatment of prostate cancer with bone metastases and increased urine N-telopeptide levels after therapy with intravenous bisphosphonates: results of a randomized phase II trial. J Urol. 2013;189(1 Suppl):S51–7; discussion S7–8.

237. Stopeck AT, Fizazi K, Body JJ, Brown JE, Carducci M, Diel I, et al. Safety of long-term denosumab therapy: results from the open label extension phase of two phase 3 studies in patients with metastatic breast and prostate cancer. Support Care Cancer. 2016;24(1):447–55.

238. Ng TL, Tu MM, Ibrahim MFK, Basulaiman B, McGee SF, Srikanthan A, et al. Long-term impact of bone-modifying agents for the treatment of bone metastases: a systematic review. Support Care Cancer. 2021;29(2):925–43.

239. Henry D, Vadhan-Raj S, Hirsh V, von Moos R, Hungria V, Costa L, et al. Delaying skeletal-related events in a randomized phase 3 study of denosumab versus zoledronic acid in patients with advanced cancer: an analysis of data from patients with solid tumors. Support Care Cancer. 2014;22(3):679–87.

240. Saad F, Brown JE, Van Poznak C, Ibrahim T, Stemmer SM, Stopeck AT, et al. Incidence, risk factors, and outcomes of osteonecrosis of the jaw: integrated analysis from three blinded active-controlled phase III trials in cancer patients with bone metastases. Ann Oncol. 2012;23(5):1341–7.

241. Lo JC, O'Ryan FS, Gordon NP, Yang J, Hui RL, Martin D, et al. Prevalence of osteonecrosis of the jaw in patients with oral bisphosphonate exposure. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68(2):243–53.

242. Black DM, Reid IR, Cauley JA, Cosman F, Leung PC, Lakatos P, et al. The effect of 6 versus 9 years of zoledronic acid treatment in osteoporosis: a randomized second extension to the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). J Bone Miner Res. 2015;30(5):934–44.

243. Black DM, Reid IR, Boonen S, Bucci-Rechtweg C, Cauley JA, Cosman F, et al. The effect of 3 versus 6 years of zoledronic acid treatment of osteoporosis: a randomized extension to the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). J Bone Miner Res. 2012;27(2):243–54.

244. Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. N Engl J Med. 2007;356(18):1809–22.

245. McClung MR, Brown JP, Diez-Perez A, Resch H, Caminis J, Meisner P, et al. Effects of 24 Months of Treatment With Romosozumab Followed by 12 Months of Denosumab or Placebo in Postmenopausal Women With Low Bone Mineral Density: A Randomized, Double-Blind, Phase 2, Parallel Group Study. J Bone Miner Res. 2018;33(8):1397–406.

246. Damm T, Libanati C, Pena J, Hanley DA, Bolognese MA, Recknor C, et al. Romosozumab significantly improves vertebral cortical bone mass and structure compared with teriparatide, whereas both treatments increase vertebral trabecular bone mass similarly: high-resolution quantitative computed tomography analyses of randomized controlled trial results in postmenopausal women with low bone mineral density. JBMR Plus. 2025;9(10):ziaf119.

247. Ominsky MS, Boyd SK, Varela A, Jolette J, Felx M, Doyle N, et al. Romosozumab Improves Bone Mass and Strength While Maintaining Bone Quality in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. J Bone Miner Res. 2017;32(4):788–801.

248. Lim SY, Bolster MB. Clinical Utility of Romosozumab in the Management of Osteoporosis: Focus on Patient Selection and Perspectives. Int J Womens Health. 2022;14:1733–47.

249. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. N Engl J Med. 1971;285(21):1182–6.

250. Huang M, Lin Y, Wang C, Deng L, Chen M, Assaraf YG, et al. New insights into antiangiogenic therapy resistance in cancer: Mechanisms and therapeutic aspects. Drug Resist Updat. 2022;64:100849.

251. Saoudi Gonzalez N, Castet F, Elez E, Macarulla T, Tabernero J. Current and emerging anti-angiogenic therapies in gastrointestinal and hepatobiliary cancers. Front Oncol. 2022;12:1021772.

252. Lopes-Coelho F, Martins F, Pereira SA, Serpa J. Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. Int J Mol Sci. 2021;22(7).

253. Lorusso L, Pieruzzi L, Gabriele M, Nisi M, Viola D, Molinaro E, et al. Osteonecrosis of the jaw: a rare but possible side effect in thyroid cancer patients treated with tyrosine-kinase inhibitors and bisphosphonates. J Endocrinol Invest. 2021;44(12):2557–66.

254. King R, Tanna N, Patel V. Medication-related osteonecrosis of the jaw unrelated to bisphosphonates and denosumab-a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2019;127(4):289–99.

255. Sacco R, Ball R, Barry E, Akintola O. The role of illicit drugs in developing medication-related osteonecrosis (MRONJ): a systematic review. Br J Oral Maxillofac Surg. 2021;59(4):398–406.

256. Sacco R, Shah S, Leeson R, Moraschini V, de Almeida Barros Mourao CF, Akintola O, et al. Osteonecrosis and osteomyelitis of the jaw associated with tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) inhibitors: a systematic review. Br J Oral Maxillofac Surg. 2020;58(1):25–33.

257. Zhang S, Wang X, Gao X, Chen X, Li L, Li G, et al. Radiopharmaceuticals and their applications in medicine. Signal Transduct Target Ther. 2025;10(1):1.

258. Herlofson BB, Kjolle GK, Westgaard KL, Londalen AM, Bruland OS. Osteonecrosis of the Jaw in a Patient With Bone Metastatic Prostate Cancer After Long-term Bisphosphonate Treatment With Severe Deterioration Following Radium-223. Clin Genitourin Cancer. 2018;16(5):328–31.

259. Romero-Laorden N, Lorente D, de Velasco G, Lozano R, Herrera B, Puente J, et al. Prospective Assessment of Bone Metabolism Biomarkers and Survival in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Patients Treated with Radium-223: The PRORADIUM Study. Eur Urol Oncol. 2024;7(3):447–55.

260. An KC. Selective Estrogen Receptor Modulators. Asian Spine J. 2016;10(4):787–91.

261. Hadji P. The evolution of selective estrogen receptor modulators in osteoporosis therapy. Climacteric. 2012;15(6):513–23.

262. Baur DA, Altay MA, Teich S, Schmitt Oswald M, Quereshy FA. Osteonecrosis of the jaw in a patient on raloxifene: a case report. Quintessence Int. 2015;46(5):423–8.

263. Bindakhil M, Shanti RM, Mupparapu M. Raloxifene-induced osteonecrosis of the jaw (MRONJ) with no exposure to bisphosphonates: clinical and radiographic findings. Quintessence Int. 2021;52(3):258–63.

264. Henien M, Carey B, Hullah E, Sproat C, Patel V. Methotrexate-associated osteonecrosis of the jaw: A report of two cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2017;124(6):e283–e7.

265. Milosavljevic M, Jovanovic M, Folic M, Zivic M, Zdravkovic D, Velickovic S, et al. Possible association of methotrexate use with osteonecrosis of the jaw: Systematic review. J Stomatol Oral Maxillofac Surg. 2022;123(5):e458–e63.

266. Annussek T, Kleinheinz J, Thomas S, Joos U, Wermker K. Short time administration of antirheumatic drugs - methotrexate as a strong inhibitor of osteoblast's proliferation in vitro. Head Face Med. 2012;8:26.

267. Wheeler DL, Vander Griend RA, Wronski TJ, Miller GJ, Keith EE, Graves JE. The short- and long-term effects of methotrexate on the rat skeleton. Bone. 1995;16(2):215–21.

268. Aghaloo TL, Tetradis S. Osteonecrosis of the Jaw in the Absence of Antiresorptive or Antiangiogenic Exposure: A Series of 6 Cases. J Oral Maxillofac Surg. 2017;75(1):129–42.

269. Sacco R, Woolley J, Yates J, Calasans-Maia MD, Akintola O, Patel V. The role of antiresorptive drugs and medication-related osteonecrosis of the jaw in nononcologic immunosuppressed patients: A systematic review. J Res Med Sci. 2021;26:23.

270. Toriumi S, Kobayashi A, Uesawa Y. Comprehensive Study of the Risk Factors for Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw Based on the Japanese Adverse Drug Event Report Database. Pharmaceuticals (Basel). 2020;13(12).

271. Takano-Murakami R, Tokunaga K, Kondo N, Ito T, Kitahara H, Ito M, et al. Glucocorticoid inhibits bone regeneration after osteonecrosis of the femoral head in aged female rats. Tohoku J Exp Med. 2009;217(1):51–8.

272. Nisi M, Izzetti R, Graziani F. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw Associated in a Patient Treated With Etanercept. J Craniofac Surg. 2022;33(7):e694–e6.

273. Favia G, Tempesta A, Limongelli L, Crincoli V, Iannone F, Lapadula G, et al. A Case of Osteonecrosis of the Jaw in a Patient with Crohn's Disease Treated with Infliximab. Am J Case Rep. 2017;18:1351–6.

274. Cassoni A, Romeo U, Terenzi V, Della Monaca M, Rajabtork Zadeh O, Raponi I, et al. Adalimumab: Another Medication Related to Osteonecrosis of the Jaws? Case Rep Dent. 2016;2016:2856926.

275. Poghosyan YM, Hakobyan KA, Poghosyan AY, Avetisyan EK. Surgical treatment of jaw osteonecrosis in "Krokodil" drug addicted patients. J Craniomaxillofac Surg. 2014;42(8):1639–43.

276. Bliziotes M. Update in serotonin and bone. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95(9):4124–32.

277. Schiodt M, Vadhan-Raj S, Chambers MS, Nicolatou-Galitis O, Politis C, Coropciuc R, et al. A multicenter case registry study on medication-related osteonecrosis of the jaw in patients with advanced cancer. Support Care Cancer. 2018;26(6):1905–15.

278. Zandi M, Dehghan A, Janbaz P, Malekzadeh H, Amini P. The starting point for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: Alveolar bone or oral mucosa? A randomized, controlled experimental study. J Craniomaxillofac Surg. 2017;45(1):157–61.

279. Watts NB, Grbic JT, Binkley N, Papapoulos S, Butler PW, Yin X, et al. Invasive Oral Procedures and Events in Postmenopausal Women With Osteoporosis Treated With Denosumab for Up to 10 Years. J Clin Endocrinol Metab. 2019;104(6):2443–52.

280. Kim JW, Landayan ME, Lee JY, Tatad JC, Kim SJ, Kim MR, et al. Role of microcracks in the pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Clin Oral Investig. 2016;20(8):2251–8.

281. Wan JT, Sheeley DM, Somerman MJ, Lee JS. Mitigating osteonecrosis of the jaw (ONJ) through preventive dental care and understanding of risk factors. Bone Res. 2020;8:14.

282. Di Fede O, Panzarella V, Mauceri R, Fusco V, Bedogni A, Lo Muzio L, et al. The Dental Management of Patients at Risk of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: New Paradigm of Primary Prevention. Biomed Res Int. 2018;2018:2684924.

283. Lorenzo-Pouso AI, Perez-Sayans M, Chamorro-Petronacci C, Gandara-Vila P, Lopez-Jornet P, Carballo J, et al. Association between periodontitis and medication-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review and meta-analysis. J Oral Pathol Med. 2020;49(3):190–200.

284. Kang B, Cheong S, Chaichanasakul T, Bezouglaia O, Atti E, Dry SM, et al. Periapical disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in mice. J Bone Miner Res. 2013;28(7):1631–40.

285. Bramati A, Girelli S, Farina G, Dazzani MC, Torri V, Moretti A, et al. Prospective, mono-institutional study of the impact of a systematic prevention program on incidence and outcome of osteonecrosis of the jaw in patients treated with bisphosphonates for bone metastases. J Bone Miner Metab. 2015;33(1):119–24.

286. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. J Bone Miner Res. 2011;26(8):1871–82.

287. Van Poznak CH, Unger JM, Darke AK, Moinpour C, Bagramian RA, Schubert MM, et al. Association of Osteonecrosis of the Jaw With Zoledronic Acid Treatment for Bone Metastases in Patients With Cancer. JAMA Oncol. 2021;7(2):246–54.

288. Pimolbutr K, Porter S, Fedele S. Osteonecrosis of the Jaw Associated with Antiangiogenics in Antiresorptive-Naive Patient: A Comprehensive Review of the Literature. Biomed Res Int. 2018;2018:8071579.

289. Guarneri V, Miles D, Robert N, Dieras V, Glaspy J, Smith I, et al. Bevacizumab and osteonecrosis of the jaw: incidence and association with bisphosphonate therapy in three large prospective trials in advanced breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2010;122(1):181–8.

290. Fusco V, Porta C, Saia G, Paglino C, Bettini G, Scoletta M, et al. Osteonecrosis of the Jaw in Patients With Metastatic Renal Cell Cancer Treated With Bisphosphonates and Targeted Agents: Results of an Italian Multicenter Study and Review of the Literature. Clin Genitourin Cancer. 2015;13(4):287–94.

291. de Molon RS, Hsu C, Bezouglaia O, Dry SM, Pirih FQ, Soundia A, et al. Rheumatoid Arthritis Exacerbates the Severity of Osteonecrosis of the Jaws (ONJ) in Mice. A Randomized, Prospective, Controlled Animal Study. J Bone Miner Res. 2016;31(8):1596–607.

292. Lescaille G, Coudert AE, Baaroun V, Javelot MJ, Cohen-Solal M, Berdal A, et al. Osteonecrosis of the jaw and nonmalignant disease: is there an association with rheumatoid arthritis? J Rheumatol. 2013;40(6):781–6.

293. Peer A, Khamaisi M. Diabetes as a risk factor for medication-related osteonecrosis of the jaw. J Dent Res. 2015;94(2):252–60.

294. Weinstein RS. Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis. Endocrinol Metab Clin North Am. 2012;41(3):595–611.

295. Tsao C, Darby I, Ebeling PR, Walsh K, O'Brien-Simpson N, Reynolds E, et al. Oral health risk factors for bisphosphonate-associated jaw osteonecrosis. J Oral Maxillofac Surg. 2013;71(8):1360–6.

296. Fleisher KE, Welch G, Kottal S, Craig RG, Saxena D, Glickman RS. Predicting risk for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: CTX versus radiographic markers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;110(4):509–16.

297. Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F, Aljohani S, Vescovi P, Manfredi M, et al. Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. Am J Med. 2010;123(11):1060–4.

298. Guggenberger R, Koral E, Zemann W, Jacobsen C, Andreisek G, Metzler P. Cone beam computed tomography for diagnosis of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: evaluation of quantitative and qualitative image parameters. Skeletal Radiol. 2014;43(12):1669–78.

299. Guggenberger R, Fischer DR, Metzler P, Andreisek G, Nanz D, Jacobsen C, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw: comparison of disease extent on contrast-enhanced MR imaging, [18F] fluoride PET/CT, and conebeam CT imaging. AJNR Am J Neuroradiol. 2013;34(6):1242–7.

300. Hutchinson M, O'Ryan F, Chavez V, Lathon PV, Sanchez G, Hatcher DC, et al. Radiographic findings in bisphosphonate-treated patients with stage 0 disease in the absence of bone exposure. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68(9):2232–40.

301. Stockmann P, Hinkmann FM, Lell MM, Fenner M, Vairaktaris E, Neukam FW, et al. Panoramic radiograph, computed tomography or magnetic resonance imaging. Which imaging technique should be preferred in bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw? A prospective clinical study. Clin Oral Investig. 2010;14(3):311–7.

302. Ristow O, Schnug G, Smielowksi M, Moratin J, Pilz M, Engel M, et al. Diagnostic accuracy comparing OPT and CBCT in the detection of non-vital bone changes before tooth extractions in patients with antiresorptive intake. Oral Dis. 2023;29(3):1039–49.

303. Zaman MU, Nakamoto T, Tanimoto K. A retrospective study of digital subtraction technique to detect sclerotic changes in alveolar bone on intraoral radiographs of bisphosphonate-treated patients. Dentomaxillofac Radiol. 2013;42(10):20130242.

304. Soundia A, Hadaya D, Mallya SM, Aghaloo TL, Tetradis S. Radiographic predictors of bone exposure in patients with stage 0 medication-related osteonecrosis of the jaws. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2018;126(6):537–44.

305. Rocha GC, Jaguar GC, Moreira CR, Neves EG, Fonseca FP, Pedreira EN. Radiographic evaluation of maxillofacial region in oncology patients treated with bisphosphonates. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012;114(5 Suppl):S19–25.

306. Guo Y, Wang D, Wang Y, Peng X, Guo C. Imaging features of medicine-related osteonecrosis of the jaws: comparison between panoramic radiography and computed tomography. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016;122(2):e69–76.

307. Krishnan A, Arslanoglu A, Yildirm N, Silbergleit R, Aygun N. Imaging findings of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with emphasis on early magnetic resonance imaging findings. J Comput Assist Tomogr. 2009;33(2):298–304.

308. Walton K, Grogan TR, Eshaghzadeh E, Hadaya D, Elashoff DA, Aghaloo TL, et al. Medication related osteonecrosis of the jaw in osteoporotic vs oncologic patients-quantifying radiographic appearance and relationship to clinical findings. Dentomaxillofac Radiol. 2019;48(1):20180128.

309. Goller-Bulut D, Ozcan G, Avci F. Changes in dimension of neurovascular canals in the mandible and maxilla: A radiographic finding in patients diagnosed with MRONJ. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2018;23(3):e282–e9.

310. Gonen ZB, Yillmaz Asan C, Zararsiz G, Kilic E, Alkan A. Osseous changes in patients with medication-related osteonecrosis of the jaws. Dentomaxillofac Radiol. 2018;47(1):20170172.

311. Demir A, Pekiner FN. Radiographic findings of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: Comparison with cone-beam computed tomography and panoramic radiography. Niger J Clin Pract. 2017;20(3):346–54.

312. De Antoni CC, Matsumoto MA, Silva AAD, Curi MM, Santiago Junior JF, Sassi LM, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw, osteoradionecrosis, and osteomyelitis: A comparative histopathological study. Braz Oral Res. 2018;32:e23.

313. Huber FA, Schumann P, von Spiczak J, Wurnig MC, Klarhofer M, Finkenstaedt T, et al. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-Comparison of Bone Imaging Using Ultrashort Echo-Time Magnetic Resonance Imaging and Cone-Beam Computed Tomography. Invest Radiol. 2020;55(3):160–7.

314. Baba A, Goto TK, Ojiri H, Takagiwa M, Hiraga C, Okamura M, et al. CT imaging features of antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw/medication-related osteonecrosis of the jaw. Dentomaxillofac Radiol. 2018;47(4):20170323.

315. Moreno Rabie C, Cavalcante Fontenele R, Oliveira Santos N, Nogueira Reis F, Van den Wyngaert T, Jacobs R. Three-dimensional clinical assessment for MRONJ risk in oncologic patients following tooth extractions. Dentomaxillofac Radiol. 2023;52(8):20230238.

316. Hadaya D, Soundia A, Freymiller E, Grogan T, Elashoff D, Tetradis S, et al. Nonsurgical Management of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws Using Local Wound Care. J Oral Maxillofac Surg. 2018;76(11):2332–9.

317. Fliefel R, Troltzsch M, Kuhnisch J, Ehrenfeld M, Otto S. Treatment strategies and outcomes of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) with characterization of patients: a systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg. 2015;44(5):568–85.

318. Coropciuc RG, Grisar K, Aerden T, Schol M, Schoenaers J, Politis C. Medication-related osteonecrosis of the jaw in oncological patients with skeletal metastases: conservative treatment is effective up to stage 2. Br J Oral Maxillofac Surg. 2017;55(8):787–92.

319. Varoni EM, Lombardi N, Villa G, Pispero A, Sardella A, Lodi G. Conservative Management of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws (MRONJ): A Retrospective Cohort Study. Antibiotics (Basel). 2021;10(2).

320. Williamson RA. Surgical management of bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaws. Int J Oral Maxillofac Surg. 2010;39(3):251–5.

321. Wilde F, Heufelder M, Winter K, Hendricks J, Frerich B, Schramm A, et al. The role of surgical therapy in the management of intravenous bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaw. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2011;111(2):153–63.

322. Stanton DC, Balasanian E. Outcome of surgical management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: review of 33 surgical cases. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67(5):943–50.

323. Wutzl A, Biedermann E, Wanschitz F, Seemann R, Klug C, Baumann A, et al. Treatment results of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. Head Neck. 2008;30(9):1224–30.

324. Carlson ER, Basile JD. The role of surgical resection in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67(5 Suppl):85–95.

325. Watters AL, Hansen HJ, Williams T, Chou JF, Riedel E, Halpern J, et al. Intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: long-term follow-up of 109 patients. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2013;115(2):192–200.

326. Carlson ER. Management of antiresorptive osteonecrosis of the jaws with primary surgical resection. J Oral Maxillofac Surg. 2014;72(4):655–7.

327. Carlson ER, Schlott BJ. Anti-resorptive osteonecrosis of the jaws: facts forgotten, questions answered, lessons learned. Oral Maxillofac Surg Clin North Am. 2014;26(2):171–91.

328. Carlson ER, Fleisher KE, Ruggiero SL. Metastatic cancer identified in osteonecrosis specimens of the jaws in patients receiving intravenous bisphosphonate medications. J Oral Maxillofac Surg. 2013;71(12):2077–86.

329. Epstein MS, Wicknick FW, Epstein JB, Berenson JR, Gorsky M. Management of bisphosphonate-associated osteonecrosis: pentoxifylline and tocopherol in addition to antimicrobial therapy. An initial case series. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010;110(5):593–6.

330. Freiberger JJ, Padilla-Burgos R, McGraw T, Suliman HB, Kraft KH, Stolp BW, et al. What is the role of hyperbaric oxygen in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a randomized controlled trial of hyperbaric oxygen as an adjunct to surgery and antibiotics. J Oral Maxillofac Surg. 2012;70(7):1573–83.

331. Morishita K, Yamada SI, Kawakita A, Hashidume M, Tachibana A, Takeuchi N, et al. Treatment outcomes of adjunctive teriparatide therapy for medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): A multicenter retrospective analysis in Japan. J Orthop Sci. 2020;25(6):1079–83.

332. Ripamonti CI, Cislaghi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O(3)) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I-II study. Oral Oncol. 2011;47(3):185–90.

333. Sim IW, Borromeo GL, Tsao C, Hardiman R, Hofman MS, Papatziamos Hjelle C, et al. Teriparatide Promotes Bone Healing in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Placebo-Controlled, Randomized Trial. J Clin Oncol. 2020;38(26):2971–80.

334. Giudice A, Barone S, Diodati F, Antonelli A, Nocini R, Cristofaro MG. Can Surgical Management Improve Resolution of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw at Early Stages? A Prospective Cohort Study. J Oral Maxillofac Surg. 2020;78(11):1986–99.

335. Badros A, Weikel D, Salama A, Goloubeva O, Schneider A, Rapoport A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. J Clin Oncol. 2006;24(6):945–52.

336. Bamias A, Kastritis E, Bamia C, Moulopoulos LA, Melakopoulos I, Bozas G, et al. Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates: incidence and risk factors. J Clin Oncol. 2005;23(34):8580–7.

337. Corso A, Varettoni M, Zappasodi P, Klersy C, Mangiacavalli S, Pica G, et al. A different schedule of zoledronic acid can reduce the risk of the osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma. Leukemia. 2007;21(7):1545–8.

338. Amadori D, Aglietta M, Alessi B, Gianni L, Ibrahim T, Farina G, et al. Efficacy and safety of 12-weekly versus 4-weekly zoledronic acid for prolonged treatment of patients with bone metastases from breast cancer (ZOOM): a phase 3, open-label, randomised, non-inferiority trial. Lancet Oncol. 2013;14(7):663–70.

339. Ripamonti CI, Maniezzo M, Campa T, Fagnoni E, Brunelli C, Saibene G, et al. Decreased occurrence of osteonecrosis of the jaw after implementation of dental preventive measures in solid tumour patients with bone metastases treated with bisphosphonates. The experience of the National Cancer Institute of Milan. Ann Oncol. 2009;20(1):137–45.

340. Dimopoulos MA, Kastritis E, Anagnostopoulos A, Melakopoulos I, Gika D, Moulopoulos LA, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates: evidence of increased risk after treatment with zoledronic acid. Haematologica. 2006;91(7):968–71.

341. Vandone AM, Donadio M, Mozzati M, Ardine M, Polimeni MA, Beatrice S, et al. Impact of dental care in the prevention of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a single-center clinical experience. Ann Oncol. 2012;23(1):193–200.

342. Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A. Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a review of 282 patients. J Can Dent Assoc. 2011;77:b147.

343. Montefusco V, Gay F, Spina F, Miceli R, Maniezzo M, Teresa Ambrosini M, et al. Antibiotic prophylaxis before dental procedures may reduce the incidence of osteonecrosis of the jaw in patients with multiple myeloma treated with bisphosphonates. Leuk Lymphoma. 2008;49(11):2156–62.

344. Hellstein JW, Adler RA, Edwards B, Jacobsen PL, Kalmar JR, Koka S, et al. Managing the care of patients receiving antiresorptive therapy for prevention and treatment of osteoporosis: executive summary of recommendations from the American Dental Association Council on Scientific Affairs. J Am Dent Assoc. 2011;142(11):1243–51.

345. Vescovi P, Giovannacci I, Otto S, Manfredi M, Merigo E, Fornaini C, et al. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: An Autofluorescence-Guided Surgical Approach Performed with Er:YAG Laser. Photomed Laser Surg. 2015;33(8):437–42.

346. Vescovi P, De Francesco P, Giovannacci I, Leao JC, Barone A. Piezoelectric Surgery, Er:YAG Laser Surgery and Nd:YAG Laser Photobiomodulation: A Combined Approach to Treat Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws (MRONJ). Dent J (Basel). 2024;12(8).

347. Scoletta M, Arduino PG, Reggio L, Dalmasso P, Mozzati M. Effect of low-level laser irradiation on bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws: preliminary results of a prospective study. Photomed Laser Surg. 2010;28(2):179–84.

348. Mozzati M, Maggiora M, Scoletta M, Vasta A, Canuto R, Muzio G. Preventive oral surgery before bisphosphonate administration to reduce osteonecrosis of the jaws. Oral Dis. 2014;20(8):809–14.

349. Ristow O, Ruckschloss T, Muller M, Berger M, Kargus S, Pautke C, et al. Is the conservative non-surgical management of medication-related osteonecrosis of the jaw an appropriate treatment option for early stages? A long-term single-center cohort study. J Craniomaxillofac Surg. 2019;47(3):491–9.

350. Dal Pra KJ, Lemos CA, Okamoto R, Soubhia AM, Pellizzer EP. Efficacy of the C-terminal telopeptide test in predicting the development of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg. 2017;46(2):151–6.

351. Enciso R, Keaton J, Saleh N, Ahmadieh A, Clark GT, Sedghizadeh PP. Assessing the utility of serum C-telopeptide cross-link of type 1 collagen as a predictor of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A systematic review and meta-analysis. J Am Dent Assoc. 2016;147(7):551–60 e11.

352. Otto S, Pautke C, Arens D, Poxleitner P, Eberli U, Nehrbass D, et al. A Drug Holiday Reduces the Frequency and Severity of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw in a Minipig Model. J Bone Miner Res. 2020;35(11):2179–92.

353. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature. 2008;454(7203):428–35.

354. Shuster A, Reiser V, Trejo L, Ianculovici C, Kleinman S, Kaplan I. Comparison of the histopathological characteristics of osteomyelitis, medication-related osteonecrosis of the jaw, and osteoradionecrosis. Int J Oral Maxillofac Surg. 2019;48(1):17–22.

355. Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Microbial biofilms in osteomyelitis of the jaw and osteonecrosis of the jaw secondary to bisphosphonate therapy. J Am Dent Assoc. 2009;140(10):1259–65.

356. Heyman O, Koren N, Mizraji G, Capucha T, Wald S, Nassar M, et al. Impaired Differentiation of Langerhans Cells in the Murine Oral Epithelium Adjacent to Titanium Dental Implants. Front Immunol. 2018;9:1712.

357. Jie Z, Yang JY, Gu M, Wang H, Xie X, Li Y, et al. NIK signaling axis regulates dendritic cell function in intestinal immunity and homeostasis. Nat Immunol. 2018;19(11):1224–35.

358. Coughlin MM, Bellini WJ, Rota PA. Contribution of dendritic cells to measles virus induced immunosuppression. Rev Med Virol. 2013;23(2):126–38.

359. Luan YY, Zhang L, Zhu FJ, Dong N, Lu JY, Yao YM. Effect of TIPE1 on Immune Function of Dendritic Cells and Its Signaling Pathway in Septic Mice. J Infect Dis. 2019;220(4):699–709.

360. Bringmann A, Schmidt SM, Weck MM, Brauer KM, von Schwarzenberg K, Werth D, et al. Zoledronic acid inhibits the function of Toll-like receptor 4 ligand activated monocyte-derived dendritic cells. Leukemia. 2007;21(4):732–8.

361. Orsini G, Failli A, Legitimo A, Adinolfi B, Romanini A, Consolini R. Zoledronic acid modulates maturation of human monocyte-derived dendritic cells. Exp Biol Med (Maywood). 2011;236(12):1420–6.

362. Elsayed R, Kurago Z, Cutler CW, Arce RM, Gerber J, Celis E, et al. Role of dendritic cell-mediated immune response in oral homeostasis: A new mechanism of osteonecrosis of the jaw. FASEB J. 2020;34(2):2595–608.

363. Wynn TA, Vannella KM. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. Immunity. 2016;44(3):450–62.

364. Bain CC, Mowat AM. Macrophages in intestinal homeostasis and inflammation. Immunol Rev. 2014;260(1):102–17.

365. Hoefert S, Schmitz I, Weichert F, Gaspar M, Eufinger H. Macrophages and bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): evidence of local immunosuppression of macrophages in contrast to other infectious jaw diseases. Clin Oral Investig. 2015;19(2):497–508.

366. Hoefert S, Sade Hoefert C, Munz A, Northoff H, Yuan A, Reichenmiller K, et al. Altered macrophagic THP-1 cell phagocytosis and migration in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). Clin Oral Investig. 2016;20(5):1043–54.

367. Hayano H, Kuroshima S, Sasaki M, Tamaki S, Inoue M, Ishisaki A, et al. Distinct immunopathology in the early stages between different antiresorptives-related osteonecrosis of the jaw-like lesions in mice. Bone. 2020;135:115308.

368. Hoefert S, Hoefert CS, Albert M, Munz A, Grimm M, Northoff H, et al. Zoledronate but not denosumab suppresses macrophagic differentiation of THP-1 cells. An aetiologic model of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). Clin Oral Investig. 2015;19(6):1307–18.

369. Ruytinx P, Proost P, Van Damme J, Struyf S. Chemokine-Induced Macrophage Polarization in Inflammatory Conditions. Front Immunol. 2018;9:1930.

370. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. J Cell Physiol. 2018;233(9):6425–40.

371. Paschalidi P, Gkouveris I, Soundia A, Kalfarentzos E, Vardas E, Georgaki M, et al. The role of M1 and M2 macrophage polarization in progression of medication-related osteonecrosis of the jaw. Clin Oral Investig. 2021;25(5):2845–57.

372. Zhu W, Xu R, Du J, Fu Y, Li S, Zhang P, et al. Zoledronic acid promotes TLR-4-mediated M1 macrophage polarization in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. FASEB J. 2019;33(4):5208–19.

373. Hagelauer N, Pabst AM, Ziebart T, Ulbrich H, Walter C. In vitro effects of bisphosphonates on chemotaxis, phagocytosis, and oxidative burst of neutrophil granulocytes. Clin Oral Investig. 2015;19(1):139–48.

374. de Barros Silva PG, de Oliveira CC, Brizeno L, Wong D, Lima Junior R, Goncalves RP, et al. Immune cellular profile of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Oral Dis. 2016;22(7):649–57.

375. Kuiper JW, Forster C, Sun C, Peel S, Glogauer M. Zoledronate and pamidronate depress neutrophil functions and survival in mice. Br J Pharmacol. 2012;165(2):532–9.

376. Favot CL, Forster C, Glogauer M. The effect of bisphosphonate therapy on neutrophil function: a potential biomarker. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013;42(5):619–26.

377. Zhang Q, Yu W, Lee S, Xu Q, Naji A, Le AD. Bisphosphonate Induces Osteonecrosis of the Jaw in Diabetic Mice via NLRP3/Caspase-1-Dependent IL-1beta Mechanism. J Bone Miner Res. 2015;30(12):2300–12.

378. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. Immune Netw. 2018;18(1):e8.

379. Marahleh A, Kitaura H, Ohori F, Kishikawa A, Ogawa S, Shen WR, et al. TNF-alpha Directly Enhances Osteocyte RANKL Expression and Promotes Osteoclast Formation. Front Immunol. 2019;10:2925.

380. Kim HJ, Kim HJ, Choi Y, Bae MK, Hwang DS, Shin SH, et al. Zoledronate Enhances Osteocyte-Mediated Osteoclast Differentiation by IL-6/RANKL Axis. Int J Mol Sci. 2019;20(6).

381. Oz HS, Puleo DA. Animal models for periodontal disease. J Biomed Biotechnol. 2011;2011:754857.

382. Graves DT, Kang J, Andriankaja O, Wada K, Rossa C, Jr. Animal models to study host-bacteria interactions involved in periodontitis. Front Oral Biol. 2012;15:117–32.

383. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. Open Dent J. 2010;4:37–47.

384. Biasotto M, Chiandussi S, Zacchigna S, Moimas S, Dore F, Pozzato G, et al. A novel animal model to study non-spontaneous bisphosphonates osteonecrosis of jaw. J Oral Pathol Med. 2010;39(5):390–6.

385. Tsurushima H, Kokuryo S, Sakaguchi O, Tanaka J, Tominaga K. Bacterial promotion of bisphosphonate-induced osteonecrosis in Wistar rats. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013;42(11):1481–7.

386. Tanaka J, Kokuryo S, Yoshiga D, Tsurushima H, Sakaguchi O, Habu M, et al. An osteonecrosis model induced by oral bisphosphonate in ovariectomised rats. Oral Dis. 2015;21(8):969–76.

387. Molez AM, do Nascimento EHL, Haiter Neto F, Cirano FR, Pimentel SP, Ribeiro FV, et al. Effect of resveratrol on the progression of experimental periodontitis in an ovariectomized rat model of osteoporosis: Morphometric, immune-enzymatic, and gene expression analysis. J Periodontal Res. 2020;55(6):840–9.

388. Li CL, Lu WW, Seneviratne CJ, Leung WK, Zwahlen RA, Zheng LW. Role of periodontal disease in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in ovariectomized rats. Clin Oral Implants Res. 2016;27(1):1–6.

389. Li CL, Seneviratne CJ, Huo L, Lu WW, Zheng LW. Impact of Actinomyces naeslundii on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in ovariectomized rats with periodontitis. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43(8):1662–9.

390. Moreira MM, Bradaschia-Correa V, Marques ND, Ferreira LB, Arana-Chavez VE. Ultrastructural and immunohistochemical study of the effect of sodium alendronate in the progression of experimental periodontitis in rats. Microsc Res Tech. 2014;77(11):902–9.

391. Cetinkaya BO, Keles GC, Ayas B, Gurgor P. Effects of risedronate on alveolar bone loss and angiogenesis: a stereologic study in rats. J Periodontol. 2008;79(10):1950–61.

392. Soundia A, Hadaya D, Esfandi N, Gkouveris I, Christensen R, Dry SM, et al. Zoledronate Impairs Socket Healing after Extraction of Teeth with Experimental Periodontitis. J Dent Res. 2018;97(3):312–20.

393. Hadaya D, Soundia A, Gkouveris I, Dry SM, Aghaloo TL, Tetradis S. Development of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw After Extraction of Teeth With Experimental Periapical Disease. J Oral Maxillofac Surg. 2019;77(1):71–86.

394. Pacheco VN, Langie R, Benfica JRD, Munaretto JC, Etges A, Ponzoni D, et al. Nitrogen-containing bisphosphonate therapy-Part II: Assessment of alveolar bone tissue inflammatory response in rats-A blind randomized controlled trial. Int J Exp Pathol. 2018;99(5):258–63.

395. Franca TRT, Ramos-Perez FMM, Pontual ADA, Castro JFL, Bonan PRF, Perez D. Effects of Zoledronic Acid in Experimental Periapical Lesions in Rats: An Imaging and Histological Analysis. Braz Dent J. 2017;28(5):566–72.

396. Bolette A, Lecloux G, Rompen E, Albert A, Kerckhofs G, Lambert F. Influence of induced infection in medication-related osteonecrosis of the jaw development after tooth extraction: A study in rats. J Craniomaxillofac Surg. 2019;47(2):349–56.

397. Song M, Alshaikh A, Kim T, Kim S, Dang M, Mehrazarin S, et al. Preexisting Periapical Inflammatory Condition Exacerbates Tooth Extraction-induced Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaw Lesions in Mice. J Endod. 2016;42(11):1641–6.

398. Soundia A, Hadaya D, Esfandi N, de Molon RS, Bezouglaia O, Dry SM, et al. Osteonecrosis of the jaws (ONJ) in mice after extraction of teeth with periradicular disease. Bone. 2016;90:133–41.

399. Inoue M, Matsumoto C, Nakajima K, Kuroshima S, Sawase T. Alendronate/dexamethasone combination therapy worsens soft and hard tissue wound healing around implants in rat maxillae. Bone. 2021;148:115942.

400. Park JY, Heo HA, Park S, Pyo SW. Enhancement of peri-implant bone formation via parathyroid hormone administration in a rat model at risk for medication-related osteonecrosis of the jaw. J Periodontal Implant Sci. 2020;50(2):121–31.

401. Kniha K, Bock A, Peters F, Magnuska ZA, Gremse F, Mohlhenrich SC, et al. Microstructural volumetric analysis of the jaw following dental implantation under systemic bisphosphonate delivery: An in vivo and ex vivo rat study. J Periodontol. 2021;92(7):66–75.

402. Abtahi J, Agholme F, Sandberg O, Aspenberg P. Effect of local vs. systemic bisphosphonate delivery on dental implant fixation in a model of osteonecrosis of the jaw. J Dent Res. 2013;92(3):279–83.

403. Park R, Kim JH, Choi H, Park YB, Jung HS, Moon HS. Effect of alendronate on bone remodeling around implant in the rat. J Adv Prosthodont. 2013;5(4):374–81.

404. Oh KC, Moon HS, Lee JH, Park YB, Kim JH. Effects of alendronate on the peri-implant bone in rats. Oral Dis. 2015;21(2):248–56.

405. Zandi M, Dehghan A, Amini P, Doulati S, Rezaeian L. Evaluation of the effect of teriparatide therapy on mandibular fracture healing in rats with medication-related osteonecrosis of the jaw. Clin Oral Investig. 2019;23(11):3987–93.

406. Yamashita J, Koi K, Yang DY, McCauley LK. Effect of zoledronate on oral wound healing in rats. Clin Cancer Res. 2011;17(6):1405–14.

407. Keskinruzgar A, Bozdag Z, Aras MH, Demir T, Yolcu U, Cetiner S. Histopathological Effects of Teriparatide in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: An Animal Study. J Oral Maxillofac Surg. 2016;74(1):68–78.

408. Zandi M, Dehghan A, Mohammadi-Mofrad A, Amini P, Vahdatinia F. Short-term perioperative teriparatide therapy for the prevention of medication-related osteonecrosis of the jaw: A randomized, controlled preclinical study in rats. J Craniomaxillofac Surg. 2017;45(2):275–80.

409. Kim JY, Jang HW, Kim JI, Cha IH. Effects of pre-extraction intermittent PTH administration on extraction socket healing in bisphosphonate administered ovariectomized rats. Sci Rep. 2021;11(1):54.

410. Dayisoylu EH, Senel FC, Ungor C, Tosun E, Cankaya M, Ersoz S, et al. The effects of adjunctive parathyroid hormone injection on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: an animal study. Int J Oral Maxillofac Surg. 2013;42(11):1475–80.

411. Kuroshima S, Entezami P, McCauley LK, Yamashita J. Early effects of parathyroid hormone on bisphosphonate/steroid-associated compromised osseous wound healing. Osteoporos Int. 2014;25(3):1141–50.

412. Sarkarat F, Modarresi A, Chiniforush N, Yazdanparast L, Rakhshan V. Efficacy of Photodynamic Therapy in Minimizing Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws After Dental Extraction: A Preliminary Animal Study. J Oral Maxillofac Surg. 2019;77(2):307–14.

413. Ervolino E, Statkievicz C, Toro LF, de Mello-Neto JM, Cavazana TP, Issa JPM, et al. Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. Bone. 2019;120:101–13.

414. Statkievicz C, Toro LF, de Mello-Neto JM, de Sa DP, Casatti CA, Issa JPM, et al. Photomodulation multiple sessions as a promising preventive therapy for medication-related osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in rats. J Photochem Photobiol B. 2018;184:7–17.

415. Weber JBB, Camilotti RS, Jasper J, Casagrande LCO, Maito F. Effect of low-level laser therapy on tissue repair after dental extraction in rats administered zoledronic acid and dexamethasone. J Biomed Opt. 2017;22(5):58001.

416. Mergoni G, Vescovi P, Sala R, Merigo E, Passerini P, Maestri R, et al. The effect of laser therapy on the expression of osteocalcin and osteopontin after tooth extraction in rats treated with zoledronate and dexamethasone. Support Care Cancer. 2016;24(2):807–13.

417. Liu SS, Lin TY, Fu E, Hsia YJ, Chiu HC, Tu HP, et al. Immediate hyperbaric oxygen after tooth extraction ameliorates bisphosphonate-related osteonecrotic lesion in rats. J Periodontol. 2019;90(12):1449–56.

418. Silva ML, Tasso L, Azambuja AA, Figueiredo MA, Salum FG, da Silva VD, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on tooth extraction sites in rats subjected to bisphosphonate therapy-histomorphometric and immunohistochemical analysis. Clin Oral Investig. 2017;21(1):199–210.

419. Movahedian Attar B, Razavi SM, Daneshmand M, Davoudi A. Protective effects of resveratrol against osteonecrosis at the extraction site in bisphosphonate-treated rats. Int J Oral Maxillofac Surg. 2020;49(11):1518–22.

420. Elsayed R, Abraham P, Awad ME, Kurago Z, Baladhandayutham B, Whitford GM, et al. Removal of matrix-bound zoledronate prevents post-extraction osteonecrosis of the jaw by rescuing osteoclast function. Bone. 2018;110:141–9.

421. Howie RN, Bhattacharyya M, Salama ME, Refaey ME, Isales C, Borke J, et al. Removal of pamidronate from bone in rats using systemic and local chelation. Arch Oral Biol. 2015;60(12):1699–707.

422. Rodriguez-Lozano FJ, Onate-Sanchez R, Gonzalvez-Garcia M, Valles-Bergada M, Martinez CM, Revilla-Nuin B, et al. Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Tooth Extractions Sites Ameliorates the Incidence of Osteonecrotic Jaw-Like Lesions in Zoledronic Acid-Treated Rats. J Clin Med. 2020;9(6).

423. Huang J, Wang L, Tian W. Small Extracellular Vesicles Derived from Adipose Tissue Prevent Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw by Promoting Angiogenesis. Int J Nanomedicine. 2021;16:3161–72.

424. Watanabe J, Sakai K, Urata Y, Toyama N, Nakamichi E, Hibi H. Extracellular Vesicles of Stem Cells to Prevent BRONJ. J Dent Res. 2020;99(5):552–60.

425. Hadaya D, Soundia A, Gkouveris I, Bezouglaia O, Dry SM, Pirih FQ, et al. Antiresorptive-Type and Discontinuation-Timing Affect ONJ Burden. J Dent Res. 2021;100(7):746–53.

426. Zandi M, Dehghan A, Ghadermazi K, Malekzadeh H, Akbarzadeh M. Perioperative discontinuation of intravenous bisphosphonate therapy reduces the incidence and severity of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A randomized, controlled, prospective experimental study in rats. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43(9):1823–8.

427. Cheong S, Sun S, Kang B, Bezouglaia O, Elashoff D, McKenna CE, et al. Bisphosphonate uptake in areas of tooth extraction or periapical disease. J Oral Maxillofac Surg. 2014;72(12):2461–8.

428. Rao NJ, Wang JY, Yu RQ, Leung YY, Zheng LW. Role of Periapical Diseases in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws. Biomed Res Int. 2017;2017:1560175.

429. Schwarz F, John G, Becker J, Grotz KA, Sader R, Mihatovic I. Influence of ridge preservation procedures on extraction socket healing under antiresorptive therapy: An experimental study in rabbits. Clin Implant Dent Relat Res. 2020;22(4):477–85.

430. Zang X, He L, Zhao L, He Y, Xiao E, Zhang Y. Adipose-derived stem cells prevent the onset of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw through transforming growth factor beta-1-mediated gingival wound healing. Stem Cell Res Ther. 2019;10(1):169.

431. Choi JY, Kim HJ, Lee YC, Cho BO, Seong HS, Cho M, et al. Inhibition of bone healing by pamidronate in calvarial bony defects. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;103(3):321–8.

432. Allen MR, Chu TM, Ruggiero SL. Absence of exposed bone following dental extraction in beagle dogs treated with 9 months of high-dose zoledronic acid combined with dexamethasone. J Oral Maxillofac Surg. 2013;71(6):1017–26.

433. Allen MR, Kubek DJ, Burr DB, Ruggiero SL, Chu TM. Compromised osseous healing of dental extraction sites in zoledronic acid-treated dogs. Osteoporos Int. 2011;22(2):693–702.

434. Allen MR, Burr DB. Mandible matrix necrosis in beagle dogs after 3 years of daily oral bisphosphonate treatment. J Oral Maxillofac Surg. 2008;66(5):987–94.

435. Nowicki B, Nehrbass D, Arens D, Stadelmann VA, Zeiter S, Otto S, et al. Medication-related osteonecrosis of the jaw in a minipig model: Parameters for developing a macroscopic, radiological, and microscopic grading scheme. J Craniomaxillofac Surg. 2019;47(7):1162–9.

436. Mitsimponas KT, Moest T, Iliopoulos C, Rueger T, Mueller C, Lutz R, et al. Search for a reliable model for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: establishment of a model in pigs and description of its histomorphometric characteristics. Br J Oral Maxillofac Surg. 2016;54(8):883–8.

437. Pautke C, Kreutzer K, Weitz J, Knodler M, Munzel D, Wexel G, et al. Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: A minipig large animal model. Bone. 2012;51(3):592–9.

438. Voss PJ, Stoddart MJ, Bernstein A, Schmelzeisen R, Nelson K, Stadelmann V, et al. Zoledronate induces bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in osteopenic sheep. Clin Oral Investig. 2016;20(1):31–8.

439. Voss PJ, Stoddart M, Ziebart T, Zeiter S, Nelson K, Bittermann G, et al. Zoledronate induces osteonecrosis of the jaw in sheep. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43(7):1133–8.

440. Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. Hum Mutat. 1992;1(6):445–66.

441. Mishra TK, Routray S. Current perspectives on statins. J Indian Med Assoc. 2003;101(6):381–3.

442. Grundy SM. Consensus statement: Role of therapy with "statins" in patients with hypertriglyceridemia. Am J Cardiol. 1998;81(4A):1B–6B.

443. Liao JK. Beyond lipid lowering: the role of statins in vascular protection. Int J Cardiol. 2002;86(1):5–18.

444. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. Pharmacol Ther. 1999;84(3):413–28.

445. Pedersen T, Gaw A. Statins--similarities and differences. Am J Manag Care. 2001;7(5 Suppl):S132–7.

446. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. Science. 2001;292(5519):1160–4.

447. Corsini A, Maggi FM, Catapano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMG-CoA reductase. Pharmacol Res. 1995;31(1):9–27.

448. Cilla DD, Jr., Whitfield LR, Gibson DM, Sedman AJ, Posvar EL. Multiple-dose pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of atorvastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, in healthy subjects. Clin Pharmacol Ther. 1996;60(6):687–95.

449. Martin PD, Mitchell PD, Schneck DW. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. Br J Clin Pharmacol. 2002;54(5):472–7.

450. Lennernas H. Clinical pharmacokinetics of atorvastatin. Clin Pharmacokinet. 2003;42(13):1141–60.

451. Garcia MJ, Reinoso RF, Sanchez Navarro A, Prous JR. Clinical pharmacokinetics of statins. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2003;25(6):457–81.

452. Mundy GR. Statins and their potential for osteoporosis. Bone. 2001;29(6):495–7.

453. Weivoda MM, Hohl RJ. The effects of direct inhibition of geranylgeranyl pyrophosphate synthase on osteoblast differentiation. J Cell Biochem. 2011;112(6):1506–13.

454. Weivoda MM, Hohl RJ. Effects of farnesyl pyrophosphate accumulation on calvarial osteoblast differentiation. Endocrinology. 2011;152(8):3113–22.

455. Luisetto G, Camozzi V. Statins, fracture risk, and bone remodeling. J Endocrinol Invest. 2009;32(4 Suppl):32–7.

456. Ohnaka K, Shimoda S, Nawata H, Shimokawa H, Kaibuchi K, Iwamoto Y, et al. Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. Biochem Biophys Res Commun. 2001;287(2):337–42.

457. Zhang Y, Bradley AD, Wang D, Reinhardt RA. Statins, bone metabolism and treatment of bone catabolic diseases. Pharmacol Res. 2014;88:53–61.

458. Ruan F, Zheng Q, Wang J. Mechanisms of bone anabolism regulated by statins. Biosci Rep. 2012;32(6):511–9.

459. Borton AJ, Frederick JP, Datto MB, Wang XF, Weinstein RS. The loss of Smad3 results in a lower rate of bone formation and osteopenia through dysregulation of osteoblast differentiation and apoptosis. J Bone Miner Res. 2001;16(10):1754–64.

460. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. Cell. 2003;113(6):685–700.

461. Kaji H, Naito J, Inoue Y, Sowa H, Sugimoto T, Chihara K. Statin suppresses apoptosis in osteoblastic cells: role of transforming growth factor-beta-Smad3 pathway. Horm Metab Res. 2008;40(11):746–51.

462. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. Endocrinology. 2001;142(12):5050–5.

463. Kaji H, Kanatani M, Sugimoto T, Chihara K. Statins modulate the levels of osteoprotegerin/receptor activator of NFkappaB ligand mRNA in mouse bone-cell cultures. Horm Metab Res. 2005;37(10):589–92.

464. Woo JT, Kasai S, Stern PH, Nagai K. Compactin suppresses bone resorption by inhibiting the fusion of prefusion osteoclasts and disrupting the actin ring in osteoclasts. J Bone Miner Res. 2000;15(4):650–62.

465. Papadimitriou K, Karkavelas G, Vouros I, Kessopoulou E, Konstantinidis A. Effects of local application of simvastatin on bone regeneration in femoral bone defects in rabbit. J Craniomaxillofac Surg. 2015;43(2):232–7.

466. Noronha Oliveira M, Rau LH, Marodin A, Correa M, Correa LR, Aragones A, et al. Ridge Preservation After Maxillary Third Molar Extraction Using 30% Porosity PLGA/HA/beta-TCP Scaffolds With and Without Simvastatin: A Pilot Randomized Controlled Clinical Trial. Implant Dent. 2017;26(6):832–40.

467. Wu Z, Liu C, Zang G, Sun H. The effect of simvastatin on remodelling of the alveolar bone following tooth extraction. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008;37(2):170–6.

468. Jin J, Zhang X, Lu Z, Li Y, Lopes-Virella MF, Yu H, et al. Simvastatin inhibits lipopolysaccharide-induced osteoclastogenesis and reduces alveolar bone loss in experimental periodontal disease. J Periodontal Res. 2014;49(4):518–26.

469. Price U, Le HO, Powell SE, Schmid MJ, Marx DB, Zhang Y, et al. Effects of local simvastatin-alendronate conjugate in preventing periodontitis bone loss. J Periodontal Res. 2013;48(5):541–8.

470. Dalcico R, de Menezes AM, Deocleciano OB, Oria RB, Vale ML, Ribeiro RA, et al. Protective mechanisms of simvastatin in experimental periodontal disease. J Periodontol. 2013;84(8):1145–57.

471. Chen HL, Yin G, Zhang HJ. [Atorvastatin promotes the healing of alveolar bone defect in rats and its effect on Wnt/beta-catenin signaling pathway]. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2024;33(2):130–4.

472. Wu J, Chen T, Zhang M, Li X, Fu R, Xu J, et al. Atorvastatin exerts a preventive effect against steroid-induced necrosis of the femoral head by modulating Wnt5a release. Arch Toxicol. 2024;98(10):3365–80.

473. Hanayama R, Shimizu H, Nakagami H, Osako MK, Makino H, Kunugiza Y, et al. Fluvastatin improves osteoporosis in fructose-fed insulin resistant model rats through blockade of the classical mevalonate pathway and antioxidant action. Int J Mol Med. 2009;23(5):581–8.

474. Lin TK, Chou P, Lin CH, Hung YJ, Jong GP. Long-term effect of statins on the risk of new-onset osteoporosis: A nationwide population-based cohort study. PLoS One. 2018;13(5):e0196713.

475. Wang Z, Li Y, Zhou F, Piao Z, Hao J. Effects of Statins on Bone Mineral Density and Fracture Risk: A PRISMA-compliant Systematic Review and Meta-Analysis. Medicine (Baltimore). 2016;95(22):e3042.

476. Pradeep AR, Priyanka N, Kalra N, Naik SB, Singh SP, Martande S. Clinical efficacy of subgingivally delivered 1.2-mg simvastatin in the treatment of individuals with Class II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. J Periodontol. 2012;83(12):1472–9.

477. Jenabian N, Mohammadpour S, Haghanifar S, Kazemi S, Hajiahmady M. Clinical and Radiographic Evaluation of Applying Atorvastatin 1.2% Bio Adhesive with Plasma Rich in Growth Factor (PRGF) for

Treatment of Mandibular Class II Furcation Defects: a Randomized Clinical Trial. J Dent (Shiraz). 2022;23(2):86–94.

478. de Sousa VC, Sousa FRN, Vasconcelos RF, Martins CS, Lopes AP, Alves NM, et al. Atorvastatin reduces zoledronic acid-induced osteonecrosis of the jaws of rats. Bone. 2022;164:116523.

479. Adachi N, Ayukawa Y, Yasunami N, Furuhashi A, Imai M, Sanda K, et al. Preventive effect of fluvastatin on the development of medication-related osteonecrosis of the jaw. Sci Rep. 2020;10(1):5620.

480. Chatterjee M, Faot F, Correa C, Duyck J, Naert I, Vandamme K. A robust methodology for the quantitative assessment of the rat jawbone microstructure. Int J Oral Sci. 2017;9(2):87–94.

481. Aguirre JI, Castillo EJ, Kimmel DB. Preclinical models of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). Bone. 2021;153:116184.

482. Yan R, Jiang R, Hu L, Deng Y, Wen J, Jiang X. Establishment and assessment of rodent models of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). Int J Oral Sci. 2022;14(1):41.

483. Pauwels R, Jacobs R, Singer SR, Mupparapu M. CBCT-based bone quality assessment: are Hounsfield units applicable? Dentomaxillofac Radiol. 2015;44(1):20140238.

484. Cankaya AB, Erdem MA, Isler SC, Demircan S, Soluk M, Kasapoglu C, et al. Use of cone-beam computerized tomography for evaluation of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws in an experimental rat model. Int J Med Sci. 2011;8(8):667–72.

485. Tsukasaki M, Takayanagi H. Osteoimmunology: evolving concepts in bone-immune interactions in health and disease. Nat Rev Immunol. 2019;19(10):626–42.

486. Bagan J, Saez GT, Tormos MC, Gavalda-Esteve C, Bagan L, Leopoldo-Rodado M, et al. Oxidative stress in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Oral Pathol Med. 2014;43(5):371–7.

487. Li C, Ji H, Zhuang S, Xie X, Cui D, Zhang C. Update on the correlation between mitochondrial function and osteonecrosis of the femoral head osteocytes. Redox Rep. 2025;30(1):2491846.

488. Agidigbi TS, Kim C. Reactive Oxygen Species in Osteoclast Differentiation and Possible Pharmaceutical Targets of ROS-Mediated Osteoclast Diseases. Int J Mol Sci. 2019;20(14).

489. Domazetovic V, Marcucci G, Iantomasi T, Brandi ML, Vincenzini MT. Oxidative stress in bone remodeling: role of antioxidants. Clin Cases Miner Bone Metab. 2017;14(2):209–16.

490. Baek KH, Oh KW, Lee WY, Lee SS, Kim MK, Kwon HS, et al. Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures. Calcif Tissue Int. 2010;87(3):226–35.

491. Mansouri A, Reiner Z, Ruscica M, Tedeschi-Reiner E, Radbakhsh S, Bagheri Ekta M, et al. Antioxidant Effects of Statins by Modulating Nrf2 and Nrf2/HO-1 Signaling in Different Diseases. J Clin Med. 2022;11(5).

БИОГРАФИЈА НА АВТОРОТ

Филип Конески е роден во 1991 г. во Белград. Основно образование завршил во Прилеп, средно образование во Битола, а на Стоматолошкиот факултет во Скопје дипломирал во 2014 г. со што се стекнал со титулата Доктор по стоматологијата, за што е прогласен како најдобро дипломиран студент во својата генерација. Магистерскиот труд од областа на максилофацијалната хирургија на Стоматолошкиот факултет во Скопје го одбранил во 2017 г. со просечна оценка 10. Специјализација по максилофацијална хирургија завршил во 2024 г. Во 2021 г. се запишал на трет циклус студии на истиот факултет и предвидените предмети ги положил со просечна оценка 10. Д-р Конески има реализирано неколку престои во странство: во 2015 г. на Стоматолошкиот факултет и медицинскиот истражувачки центар на Универзитетот во Мемфис, Тенеси, САД; во 2018 г. на Универзитетот „Лудвиг Максимилијанс“ во Минхен, Германија; во 2023 г. на Универзитетот во Амстердам, Холандија, и истата година на Универзитетската клиника за максилофацијална хирургија во Безансон, Франција. Во 2013 година му е доделена наградата „13 Ноември“ на Град Скопје. Во 2021 г. ја добил наградата „Хелен Матрас“ од страна на Европската асоцијација за кранио-максило-фацијална хирургија, а наградата „Хуго Обвегезер“ во 2023 г. од истата асоцијација. Во 2023 г. е избран за најдобар млад научник во медицинските науки од страна на претседателот на државата. Има учествувано на многубројни конгреси и научни собири во земјата и странство, меѓу кои во Париз, Франција и Ванкувер, Канада. Има извршено превод на неколку стручни книги во областа на медицината, а е и редовен рецензент во неколку реномирани научни списанија со фактор на влијание. Д-р Конески има објавено над 40 труда како автор и коавтор, од кои дел се во престижни списанија со фактор на влијание. Од 2020 г. е вработен на Универзитетската клиника за максилофацијална хирургија во Скопје, а од 2024 г. работи како максилофацијален хирург во истата установа. Активно се служи со англиски и француски јазик.