Μελέτη της δομής του βλεννογόνου της γλώσσας με χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας μετά από επίδραση διφωσφονικών (Αλεδρονάτης).

Τα διφωσφονικά είναι μια κατηγορία φαρμάκων που συντέθηκαν τον 19ο αιώνα και χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στην βιομηχανία ως αποσκληρυντές νερού λόγω της ικανότητας τους να αναστέλλουν την εναπόθεση του ανθρακικού ασβεστίου. Η βιολογική τους δράση, αν και δεν είχε διαπιστωθεί μέχρι το 1968, στηρίζεται στον σύνθετο και πολυπαραγοντικό φαρμακοκινητικό τους μηχανισμό (Marx, 2011). Στα διφωσφονικά ανήκει ένα διευρυμένο σύνολο χημικών μορίων των οποίων βασική δομή χαρακτηρίζεται από έναν βασικό κορμό P-C-P. Οι φωσφορικές ομάδες είναι συνδεδεμένες με ισχυρούς υδρόφοβους δεσμούς καθιστώντας το μόριο σταθερό στη θέρμανση αλλά και στην ενζυματική υδρόλυση, εξηγώντας τον μεγάλο χρόνο ημιζωής του στο ανθρώπινο σώμα (Roelofs, et al., 2008) Εκατέρωθεν του κεντρικού άνθρακα συναντώνται και οι πλευρικές ομάδες R1 και R2, η ποικιλομορφία των οποίων επιτρέπει την δημιουργία εκατοντάδων διαφορετικών παραλλαγών, μια εκ των οποίων είναι η Αλεδρονάτη. Τα τελευταία χρόνια, τα αζωτούχα διφωσφονικά έχουν εφαρμογή στην ιατρική λόγω της ικανότητας τους να αποτρέπουν την οστική απορρόφηση λόγω της ικανότητας τους να επεμβαίνουν στην οστεολυτική λειτουργία των οστεκλαστών. Χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση παθήσεων που σχετίζονται με τα οστά, όπως την οστεοπόρωση, την νόσο του Paget, την οστεοπενία και την οστεογένεση imperfecta, αλλά και για την επαγωγή της απόπτωσης σε καρκινικά κύτταρα, στη μείωση των μακροφάγων και στην επιβράδυνση της αγγειογένεσης (Sabatino et al., 2014). Παρά την ευρεία χρήση τους, υπάρχουν πολυάριθμες αναφορές ανεπιθύμητων ενεργειών που περιλαμβάνουν κυρίως γαστρεντερικές διαταραχές του ανώτερου πεπτικού. Αυτές περιλαμβάνουν κοιλιακό άλγος, έλκος, δυσπεψία και οισοφαγίτιδα. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να προσδιοριστεί εάν προκαλούνται αλλοιώσεις στο βλεννογόνο της γλώσσας που σχετίζονται με την εμφάνιση των ανεπιθύμητων ενεργειών, μετά από χορήγηση αλεδρονάτης.

Για την παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν 10 αρουραίοι φυλής Wistar στους οποίους χορηγήθηκε Αλεδρονάτη (Fosamax) per os σε δοσολογία 0.05mg/kg. Μετά το πέρας δεκατριών εβδομάδων αφαιρέθηκαν οι γλώσσες των αρουραίων και δείγματα του ιστού μονιμοποιήθηκαν και παρατηρήθηκαν με την χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (ΤΕΜ). Τα δείγματα προετοιμάστηκαν ώστε να αντέχουν σε κενό, να περιέχουν βαρέα μέταλλα και να είναι σταθερά στον βομβαρδισμό ηλεκτρονίων, με σκοπό την βέλτιστη διατήρηση της δομής των ιστών για την ορθή τους παρατήρηση. Για την προετοιμασία ακολουθήθηκαν διαδοχικά οι διαδικασίες μονιμοποιήσης σε γλουταραλδεύδη 3% , χρώσης με οξικό ουρανύλιο και τετροξείδιο του οσμίου, αφυδάτωσης σε υδατικά διαλύματα αλκοόλης αυξανόμενης πυκνότητας, έγκλεισης σε καθαρή ρητίνη epon και τμήσης σε τομές πάχους 60-90nm με χρήση υπερμικροτόμου γυάλινου μαχαιριού ώστε να επιτραπεί η παρατήρησή τους με χρήση ΤΕΜ μικροσκοπίας. Παρατηρήθηκαν εστιακές αλλοιώσεις σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό σε όλα τα δείγματα. Η βασική μεμβράνη ήταν άθικτη και τα επιθηλιακά κύτταρα παρατηρήθηκαν να συνδέονται με τη βασική μεμβράνη με ημιδεσμοσώματα. Στο μεσαίο στρώμα επιθηλιακών κυττάρων παρατηρήθηκε αύξηση στους ενδοκυτταρικούς χώρους και τα δεσμοσώματα με τα οποία είναι συνδεδεμένα τα κύτταρα του μεσαίου στρώματος εμφανίστηκαν πολύ λεπτότερα και συχνά αποδιοργανωμένα. Στον υποβλεννογόνιο υμένα παρατηρήθηκαν εστιακές αραιώσεις, κυρίως από την καταστροφή των ινών κολλαγόνου. Στην ίδια περιοχή εντοπίστηκαν έντονα ενεργοί ινοβλάστες, αλλά και αποπτωτικά κύτταρα.

Συμπερασματικά, η επίδραση της αλεδρονάτης στο βλεννογόνο της γλώσσας παρουσίασε σημαντικές ομοιότητες με την επίδραση της στους οστεοκλάστες, και συνοψίζονται στην συνολική διατάραξη της δομής της μεμβράνης, του κυτταροσκελετού και των δομών κυτταρικών αλληλεπιδράσεων, έχοντας ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της κίνησης κυστιδίων και επάγοντας συνολικά την απόπτωση. Με αυτόν τον τρόπο, η παρούσα εργασία αποδεικνύει πως η εμφάνιση των ανεπιθύμητων ενεργειών είναι αποτέλεσμα της μη στοχευμένης δράσης της αλεδρονάτης αποκλειστικά σε οστίτη ιστό, καθώς φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά τους ιστούς με τους οποίους έρχεται σε επαφή και να μην εμφανίζει σημαντική ιστο-ειδικότητα.

Βιβλιογραφικές παραπομπές

Marx, R. E., 2011. Oral and Intravenous Bisphosphonate–Induced Osteonecrosis of the Jaws. Quintessence, Issue 2, pp. 9,26.

Roelofs, A. J., Frank H Ebetino, F. H., Reszka, A. A., Russell, R. G. G., & Rogers, M., 2008. Bisphosphonates: Mechanisms of action. Principles of Bone Biology: Volume 2 (3 ed., Vol. 2, pp. 1737-1767). Academic Press.

Sabatino R, Antonelli A, Battistelli S, Schwendener R, Magnani M, Rossi L. 2014. Macrophage Depletion by Free Bisphosphonates and Zoledronate-Loaded Red Blood Cells. PLoS ONE, 9(6).