

Diplomarbeit

**Antiresorptiva-assoziierte Kiefernekrosen - neueste
Erkenntnisse und potenzieller Einfluss des oralen
Mikrobioms**

eingereicht von

Konstantin Michael Taupp

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Zahnmedizin

(Dr. med. dent.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Lehrstuhl für Pharmakologie

Klinische Abteilung für Orale Chirurgie und Kieferorthopädie

unter der Anleitung der Betreuerinnen

Ass.-Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Aitak Farzi, PhD.

Doz. Univ. ZÄ Dr.in med.dent. et scient.med. Petra Rugani

Graz, 07.07.2024

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 07.07.2024

Konstantin Taupp eh.

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	II
Glossar & Abkürzungen	III
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Zusammenfassung	VI
Abstract	VIII
1 Einleitung	1
2 Antiresorptive Medikamente	3
2.1 <i>Physiologie des Knochens</i>	3
2.2 <i>Einteilung und jeweiliger Wirkmechanismus</i>	6
2.2.1 Bisphosphonate	6
2.2.2 Denosumab	11
2.2.3 Romosozumab.....	13
2.2.4 VEGF-Inhibitoren	13
2.2.5 Tyrosinkinase-Inhibitoren.....	14
3 Antiresorptiva-assoziierte Kiefernekrose	15
3.1 <i>Definition</i>	15
3.2 <i>Einteilung</i>	15
3.3 <i>Pathogenese</i>	17
3.4 <i>Prävention und Therapie</i>	22
3.4.1 Nicht-operative Therapie	23
3.4.2 Operative Therapie.....	25
4 Methodik	26
5 Einfluss des oralen Mikrobioms auf die Antiresorptiva-assoziierte Kiefernekrose	27
5.1 <i>Aufbau und Funktion des oralen Mikrobioms</i>	27
5.2 <i>Die potentielle Rolle des Mikrobioms bei MRONJ</i>	32
5.2.1 Aufbau des Mikrobioms bei MRONJ	32
5.2.2 Mykobiom.....	37
5.2.3 Pathogenität einiger in MRONJ gefundener Bakterien	38
5.3 <i>Antibiotische Therapie</i>	42
6 Diskussion	46
7 Literaturverzeichnis	51

Vorwort

Zuallererst möchte ich meinen beiden Betreuerinnen, Frau Ass.-Prof.in Priv.-Doz.in Dr.in med.univ. PhD. Aitak Farzi und Frau Doz.in Univ. ZÄ Dr.in med.dent. et scient.med. Petra Rugani für die unkomplizierte Zusammenarbeit und Betreuung danken.

Ein besonderer Dank gilt ebenfalls meinen Eltern, die mich in allem, was ich tue, unterstützen, dies auch weiterhin tun werden und mir dieses Studium ermöglicht haben.

Danke an meine ganzen Freunde, meinen Bruder und Studienkollegen, die nicht nur mentale Unterstützung geleistet haben, sondern mich auch motiviert haben. Gerade meine StudienkollegInnen haben diese Zeit unvergesslich gemacht.

Ein besonderer Dank geht ebenfalls an meine Freundin Lisa, die mich nicht nur beim Verfassen der Diplomarbeit unterstützt hat und mir mit Rat und Tat zur Seite stand, sondern mich auch immer motiviert und ertragen hat.

Glossar & Abkürzungen

AMP	Adenosin-Monophosphat
ANT	Adenin-Nucleotid-Translokase
ApppI	triphosphoric acid 1-adenosin-5'-yl ester 3-(3-methylbut-3-enyl) ester
AppCp	Adenosine-5'-[(beta,gamma)-methyleno]triphosphate
ARONJ	antiresorptive associated osteonekrosis of the jaw
ATP	Adenosin-Triphosphat
BP	Bisphosphonat
FPPS	Farnesylpyrophosphat-Synthase
IPP	Isopentenylpyrophosphat
MRONJ	medication-related osteonecrosis of the jaw
PPi	Pyrophosphat
RANKL	Receptor-Activator of NF-KB Ligand
VEGF	vascular endothelial growth factor
VEGFR	vascular endothelial growth factor receptor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Der Unterschied der chemischen Formel zwischen Pyrophosphat (links) und Bisphosphonaten (rechts). Grün markiert ist die dem Pyrophosphat ähnliche Struktur, blau markiert sind die Restketten dargestellt, die den Unterschied zwischen den verschiedenen Bisphosphonaten definieren. Die Bisphosphonate von klinischem Interesse besitzen alle zwei Phosphatgruppen, die ein gemeinsames Kohlenstoffatom haben.(25) 7

Abbildung 2: 10 Bisphosphonate, die in verschiedenen Ländern für den klinischen Einsatz zugelassen sind, unterteilt in nicht-stickstoffhaltige beziehungsweise stickstoffhaltige Bisphosphonate.(24) Auch hier sind die beiden Phosphatgruppen in der Struktur der Bisphosphonate gut erkennbar 8

Abbildung 3: Wirkmechanismus von einfachen Bisphosphonaten in Osteoklasten. Wie in Reaktion 1 kondensiert normalerweise intrazellulär im Osteoklasten eine Aminosäure mit ATP in einer reversiblen Reaktion, um ein Aminoacyl-AMP und ein Pyrophosphat zu bilden. Aufgrund der Ähnlichkeit zu Pyrophosphat (Ppi) geht diese Reaktion ein Bisphosphonat ebenfalls ein (Reaktion 3), nur dass hier AppCp gebildet wird. Das ANT wird nun aufgrund der Ähnlichkeit von AppCP zu ATP gehemmt, was zu einer Dysbalance des mitochondrialen Membranpotentials und somit zur Apoptose führt (Abbildung in Anlehnung an eine Abbildung von Rogers et al., 2020 erstellt). (29) 9

Abbildung 4: Wirkmechanismus von einfachen Bisphosphonaten und stickstoffhaltigen Bisphosphonaten. Das regulatorische Enzym FPPS wird gehemmt, wodurch Cholesterin, Isoprenoide und in weiterer Folge prenylierte GTPasen nicht mehr hergestellt werden können. Dadurch werden viele Zellprozesse in Osteoklasten gehemmt. Zusätzlich häuft sich IPP und damit ApppI in den Osteoklasten an, was zur Apoptose der Osteoklasten führt (Abbildung wurde angelehnt an eine Abbildung von Russell et al., 2008)(33) 11

Abbildung 5: Wirkmechanismus von Denosumab. Denosumab bindet RANKL, verhindert Bindung an RANK-Rezeptor und imitiert somit die Wirkung von OPG. Daraus resultiert eine verminderte Bildung von Osteoklasten, wodurch die Knochenresorption vermindert wird 12

Abbildung 6: Literatur Auswahlverfahren 27

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vorkommen von Bakterienspezies an verschiedenen Stellen der Mundhöhle nach der HOMD.(147) Der hohe Anteil von anderen Bakterienspezies kommt dadurch zustande, da eine sehr große Zahl an verschiedenen Bakterienspezies vorzufinden ist und hier nur die jeweils 10 häufigsten Spezies pro Lokalität aufgezeigt werde	31
Tabelle 2: Vorkommen der Bakteriengattungen an den verschiedenen Stellen der Mundhöhle nach der HOMD(147)	31
Tabelle 3: Einteilung der pathogenen Keime in Infektionen von Patienten mit MRONJ nach der Studie von Zirk, M. et al.(148)	33
Tabelle 4: Bakterielle Kolonisierung von nekrotischem Knochen nach den Studien von Zirk, M. et al.(148) und Ewald, F. et al.(150)	34
Tabelle 5: Übersicht der Artikel, die in der Diplomarbeit berücksichtigt wurden.(98, 148, 150-152) Alle Studien haben gemeinsam, dass MRONJ-PatientInnen operativ Proben entnommen und diese anschließend auf Bakterien untersucht wurden	36
Tabelle 6: Übersicht über einige wichtige Bakteriengattungen, die in MRONJ-Proben vorgefunden wurden.	42
Tabelle 7: Resistenzmuster der in Knochenproben nachgewiesenen Bakterien(148)	44
Tabelle 8: Resistenzmuster von Bakterien, die aus gleichzeitig bestehenden submukösen Infektionen stammen(148)	45
Tabelle 9: Überblick über die verschiedenen Antibiotika	46

Zusammenfassung

Einleitung

Antiresorptive Medikamente wie etwa Bisphosphonate und Denosumab sind mittlerweile sehr häufige, in der Behandlung von Erkrankungen, die mit einem erhöhten Knochenabbau einhergehen, verwendete Therapeutika. Eine häufige Nebenwirkung dieser Wirkstoffe ist die Medikamenten-assoziierte Kiefernekrose (MRONJ).

Daher entwickelte sich die MRONJ in den letzten Jahren zu einem ernstzunehmenden und immer häufiger werdenden Krankheitsbild. Bis heute ist die genaue Pathogenese der MRONJ nicht ganz geklärt, jedoch vermutet man, dass die Erkrankung von einem multifaktoriellen Geschehen aus Traumata, vermindertem Knochenremodelling, Entzündung des Knochens, bakterieller Besiedelung und vielen weiteren Faktoren ausgehen könnte. Man geht auch davon aus, dass das orale Mikrobiom eine Rolle, gerade beim Entzündungsgeschehen innerhalb der Erkrankung MRONJ, spielen könnte. Somit ist Ziel dieser Arbeit, den Einfluss des oralen Mikrobioms und pathogener Bakterien bei MRONJ näher zu beleuchten.

Material und Methoden

Zur Beantwortung der Fragestellung und Erstellung dieser Diplomarbeit erfolgte eine umfangreiche Literaturrecherche in Pubmed.

Unter anderem wurden die folgenden Schlüsselwörter in der Suche eingeschlossen: („medication-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria“), („medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome“), („medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiota“), („bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria“), („bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome“). Dabei wurden am Ende der Recherche und des Auswahlverfahrens 5 relevante Artikel in diese Arbeit eingeschlossen und ausgewertet.

Ergebnis

In den 5 relevanten Artikel wurden von insgesamt 219 MRONJ-PatientInnen Knochensequester entfernt und diese dann mittels 16S-rRNA-Sequenzierung untersucht.

Die Ergebnisse der einzelnen Arbeiten sind bezüglich der Häufigkeit der unterschiedlichen Bakteriengattungen relativ heterogen. Jedoch ist gerade in den MRONJ-Läsionen ein Wechsel zu anaeroben Bakterien wie zum Beispiel *Prevotella* und *Fusobakterien*, zu erkennen, was zu dem sauerstoffarmen Milieu im nekrotischem Knochen passen würde.

Auch sehr viele gram-negative Bakteriengattungen, unter anderem *Veillonella*, *Porphyromonas* oder *Leptotrichia*, sind vorzufinden. Dies lässt erahnen, dass das orale Mikrobiom und der im Entzündungsgeschehen der Kiefernekrose stattfindende Wechsel zu pathogeneren Bakterienspezies einen Einfluss auf Kiefernekrosen nehmen kann oder diese sogar mitverursachen kann.

Diskussion

Der tatsächliche Einfluss des Mikrobioms auf MRONJ-Läsionen wird aktuell hauptsächlich anhand der Pathogenität und Virulenz der einzelnen Bakteriengattungen und -arten abgeschätzt, da das jeweilige Mikrobiom aufgrund vieler einflussnehmender Faktoren individuell sehr unterschiedlich sein kann. Auch die bisher noch relativ geringe Anzahl an Studien zu diesem Thema zeigt auf, dass in diesem Bereich noch viel Forschung notwendig ist, um die genauen Zusammenhänge und Hintergründe besser zu verstehen.

Abstract

Introduction

Antiresorptive drugs such as bisphosphonates and denosumab are common therapeutic agents used in the treatment of diseases associated with increased bone resorption. A common side effect of these drugs is medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). Therefore, MRONJ has developed into a serious and increasingly common disorder. To date, the exact pathogenesis of MRONJ has not been fully elucidated, but it is assumed that the disease could be caused by a multifactorial process involving trauma, reduced bone remodeling, inflammation of the bone, bacterial colonization and other factors. It is also assumed that the oral microbiome could play a major role in the inflammatory process. The aim of this study is therefore to investigate the influence of the oral microbiome and pathogenic bacteria in MRONJ.

Material and methods

To answer the research question and prepare this thesis, an extensive literature search was conducted in Pubmed.

Among others, the following keywords were used in the search: ("medication-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria"), ("medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome"), ("medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiota"), ("bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria"), ("bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome").

At the end of the search and selection process, 5 relevant articles were included and evaluated in this work.

Results

In the 5 relevant articles, bone sequestrs were removed from a total of 219 MRONJ patients and analyzed using 16S-rRNA-sequencing.

The results of the individual studies vary greatly with regard to the frequency of the different bacterial genera. However, a switch to anaerobic bacteria such as *Prevotella* and *Fusobacteria* can be clearly observed in MRONJ lesions, which would be consistent with low-oxygen availability in necrotic bone. Many gram-negative bacterial genera like *Veillonella*, *Porphyromonas* or *Leptotrichia* can also be found. This suggests that the oral microbiome and the switch to more pathogenic bacterial species can have a potential influence on jaw necrosis.

Discussion

The actual influence of the microbiome on MRONJ lesions is currently mainly assessed based on the pathogenicity and virulence of the individual bacterial genera and species, as the respective microbiome can vary greatly from individual to individual due to many influencing factors. The mere 5 articles that have been published on this topic so far also suggest that a great deal of research is still needed in this area in order to understand the underlying mechanisms in more detail.

1 Einleitung

Antiresorptive Medikamente werden bei unterschiedlichen Knochenstoffwechselstörungen, wie bei Osteoporose und Morbus Paget, aber auch beim Multiplem Myelom, maligner Hyperkalzämie und bei ossärer Metastasierung, wie zum Beispiel im Rahmen von Prostata- und Mammakarzinomen, verabreicht.(1)

Die mit antiresorptiven Medikamenten assoziierten Kiefernekrosen (antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw, ARONJ, „medication-related osteonecrosis of the jaw“, MRONJ) sind unerwünschte Nebenwirkung im Rahmen der Therapie mit antiresorptiven Medikamenten wie zum Beispiel Bisphosphonaten und Denosumab.

Da mittlerweile nicht mehr nur die antiresorptiven Medikamente, wie Bisphosphonate und Denosumab, mit einer Kiefernekrose in Zusammenhang gebracht werden, sondern auch andere Medikamentenklassen, wird heute eher die Abkürzung MRONJ verwendet. Folglich werden in diese Bezeichnung alle Medikamente miteingeschlossen und nicht nur die antiresorptiv wirkenden.

In den vergangenen zehn Jahren ist die Anzahl der PatientInnen, die eine Therapie mit Bisphosphonaten, Receptor-Activator-of-NF-KB-Ligand-Inhibitoren (RANKL) und anderen mit MRONJ assoziierten Medikamenten wie Angiogenesehemmern (wie Bevacizumab) oder Proteinkinase-Inhibitoren (wie Sorafenib, Sunitinib und ähnliche) erhalten, deutlich angestiegen.(2, 3)

Die Inzidenz von MRONJ bei PatientInnen, die Bisphosphonate oder RANKL-Inhibitoren (wie Denosumab), humane monoklonale Antikörper (wie Bevacizumab) oder Proteinkinase-Inhibitoren (wie Sorafenib/Sunitinib) erhalten, liegt im Bereich von 0,4 bis 21 %. Dies ist abhängig von der Dosierung, dem spezifischen Medikament und der Art der Verabreichung.(2, 4, 5) Die intravenöse Applikation der Bisphosphonate deutet eine höhere Inzidenz für MRONJ an, was jedoch vermutlich dem geschuldet ist, dass diese Verabreichungsart häufiger für maligne Erkrankungen und in höheren Dosierungen gewählt wird, im Gegensatz zur oralen Einnahme.

In den vergangenen Jahren wurde zunehmend deutlich, dass die Kolonisation des Knochens mit Bakterien und möglicherweise Pilzen eine bedeutende Rolle bei der Entstehung von MRONJ spielt.(6) Gesundes Knochengewebe im Ober- und Unterkiefer scheint eine natürliche Resistenz gegen eine mikrobielle Besiedlung zu besitzen, selbst wenn es dem Mundmikrobiom ausgesetzt ist. Es wird jedoch angenommen, dass bei PatientInnen, die mit antiresorptiven oder antiangiogenen Medikamenten behandelt werden, Bedingungen entstehen könnten, die Bakterien und anderen Krankheitserregern den Zugang zum anfälligen Knochengewebe ermöglichen und dadurch die Entwicklung von MRONJ begünstigen. Zu diesen Bedingungen gehören zahnärztliche Eingriffe, Parodontalerkrankungen, Traumata oder schlechtsitzende prothetische Versorgungen.

Im Einklang mit dieser Annahme tritt MRONJ vorwiegend in Körperregionen auf, die einer mikrobiellen Besiedelung wie der in der Mundhöhle ausgesetzt sind, während MRONJ in anderen, aseptischen Regionen des Skelettsystems selten vorkommt.(6)

Obwohl die genauen Mechanismen noch nicht vollständig verstanden sind, existieren verschiedene Hypothesen über die möglichen Mechanismen, durch die eine bakterielle Besiedlung zu einer Osteonekrose führen könnte. Diese umfassen die Freisetzung von Säuren und Proteasen, die Hemmung der Synthese von Knochenmatrix oder die Stimulierung des Knochenabbaus.(6, 7) Es wird vermutet, dass gramnegative Bakterien eine entscheidende Rolle in diesem Prozess spielen, indem sie toxische Produkte wie zum Beispiel Lipopolysaccharide produzieren. In dieser Folge wird direkt die Differenzierung und Aktivität von Osteoklasten beeinflusst.(6) Ein zentraler Aspekt bei der Behandlung von PatientInnen mit MRONJ ist daher die Vorbeugung der weiteren Ausbreitung und Therapie von Infektionen des Knochens und der umgebenden Weichteile. Insbesondere in den Stadien 2 und 3 von MRONJ sollte die effektive Behandlung der bakteriellen Besiedlung und Infektion in den betroffenen Bereichen integraler Bestandteil des Therapieplans jedes Patienten/jeder Patientin sein.(7)

Deshalb ist das Ziel dieser Arbeit, den aktuellen Stand der Forschung bezüglich MRONJ unter zusätzlicher Berücksichtigung des Einflusses des oralen Mikrobioms zu recherchieren und zusammenzufassen.

2 Antiresorptive Medikamente

2.1 Physiologie des Knochens

Grundsätzlich kann man das Knochengewebe makroskopisch in zwei verschiedene Knochengewebearten einteilen, die sowohl architektonisch als auch funktionell unterschiedlich sind. Zum Einen erfolgt diese Einordnung in trabekuläres, spongiöses Knochengewebe und zum Anderen in kortikales, kompaktes Knochengewebe.(8) Insgesamt besteht die Gesamtknochenmasse zu etwa 20% aus trabekulärem, spongiösem Knochen und zu 80% aus kortikalem, kompaktem Knochen. Lokal kann das Verhältnis zwischen spongiösem und kortikalem Knochen je nach funktionellen und regionalen Anforderungen des einzelnen Knochens jedoch anders aufgeteilt sein.(9) Somit wird es den verschiedenen Knochen ermöglicht, aufgrund der strukturellen Feinheiten und Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Knochengeweben dennoch leicht und trotzdem haltbar, widerstandsfähig und stark zu sein.(10)

Der Knochen ist hochgradig anpassungsfähig, strukturell dynamisch, stoffwechselaktiv und allen anderen Biomaterialien in Bezug auf Festigkeit und Zähigkeit überlegen. (11) Angesichts der komplexen und mehrdimensionalen Beschaffenheit des Knochens wird seine Festigkeit letztlich durch die Interaktion und Anpassung seiner materiellen und strukturellen Eigenschaften bestimmt, die auf makroskopischer, mikroskopischer und nanoskopischer Ebene zu beobachten sind.(12) Die Struktur, Größe und Festigkeit des Knochens hängt von den routinemäßigen physiologischen und mechanischen Anforderungen ab, die an sie gestellt werden, und reagiert entsprechend auf diese.(13, 14) Mechanische Reize initiieren oder hemmen somit Knochenremodellierung und -umbauprozesse als Reaktion auf Veränderungen der internen oder externen Kräfte oder als Folge einer Immobilisierung.(15)

Genauer ausgeführt verändert und regeneriert sich der Knochen kontinuierlich in Gegenwart oder Abwesenheit von mechanischen Reizen, was in weiterer Folge zum Aufbau, zum Abbau oder zum Erhalt von Knochenmasse führt. Dies wird durch Prozesse erreicht, die die sorgfältige zelluläre Regulierung und Koordination von Osteoblasten (Aufbau von Knochenmatrix) und Osteoklasten (Abbau von Knochenmatrix) umfassen, geschädigtes Knochenmaterial entfernen und es anschließend wieder durch neues, robusteres

Knochenmaterial ersetzen.(16) Die vorherrschende Knochenstruktur spiegelt somit eine angemessene Anpassung an die mechanische Belastung wieder.

Auf materieller Ebene sorgt die extrazelluläre Matrix des Knochens für Zugfestigkeit, während die mineralischen und anorganischen Komponenten des Knochens für Druckfestigkeit sorgen.

Die Extrazellulärmatrix setzt sich zu 85 bis 90 % aus kollagenen Proteinen zusammen. Hauptbestandteil ist überwiegend Kollagen vom Typ I, ergänzt durch geringe Mengen anderer Kollagene und anderer Proteine in spezifischen Entwicklungsphasen der Knochenbildung.(9)

Der Knochen besteht zu ca. 80 % aus anorganischem Material wie Hydroxylapatit und Wasser.

Veränderungen des Kollagens (z.B. bei Osteogenesis imperfecta) oder der Mineralisierung (z.B. durch antiresorptive Medikamente) können den Knochen stärken oder schwächen. Mikroskopisch betrachtet haben die Trabekel im Trabekelwerk Auswirkungen auf die strukturelle Festigkeit des Knochens, und makroskopisch betrachtet erhöht oder verringert eine Veränderung der Knochenform die Biege- und Torsionsfestigkeit des Knochens.(17)

Die fest mit dem Schädel verbundene Maxilla besteht überwiegend aus spongiösem Knochen und einer eher dünnen Kompakta, wohingegen die bewegliche Mandibula verglichen zur Maxilla durch einen wesentlich höheren Anteil kompakten Knochens charakterisiert ist. Als Alveolarknochen bezeichnet man den mit einer dünnen Kompakta das Zahnfach auskleidenden Knochen der Mandibula und Maxilla.

Knochenzellen machen etwa 10 % des gesamten Knochenvolumens aus und entstehen aus 2 Zelllinien: Einerseits gibt es die Osteoprogenitorzellen aus mesenchymalen Stammzellen, die sich in Osteoblasten und Osteozyten differenzieren. Und andererseits existieren Osteoklasten, welche hämatopoetischen Ursprungs sind. Osteoprogenitorzellen, welche sich zu knochenbildenden Zellen entwickeln, befinden sich in den Knochenkanälen. Diese befinden sich im Endost, Periost und dem Knochenmark. Sie können auch aus vaskulären Perizyten entstehen. Osteoprogenitorzellen bleiben undifferenziert, bis sie Signale erhalten, an einen Ort zu wandern, sich zu vermehren und in Osteoblasten zu differenzieren.(9)

Osteoblasten kleiden die Oberflächen im Knochen aus und sind dicht aneinander gepackt. Sie sind die knochenbildenden Zellen, da sie die organische Knochenmatrix synthetisieren. Die Aktivität der Osteoblasten wird durch die Freisetzung von alkalischer Phosphatase gekennzeichnet. Wenn diese aktiviert werden, gibt es drei Möglichkeiten: Sie bleiben

ruhende Osteoblasten, die den Knochen auskleiden, werden Osteozyten oder kehren zur Zelllinie der Osteoprogenitorzellen zurück.(9)

Osteozyten machen 90 Prozent der Knochenzellen aus. In Abhängigkeit von der mechanischen Stimulation fördern Osteozyten biochemisch die Osteogenese, indem sie die Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten koordinieren. Folglich verändert sich die Knochenmorphologie und die Knochenform insgesamt zugunsten einer höheren Knochenfestigkeit positiv.(18)

Der Osteozytenkörper befindet sich in einer mineralischen Lakune und ist von Knochenflüssigkeit umgeben. Dabei handelt es sich um eine spezielle Flüssigkeit, die Sauerstoff und Nährstoffe liefert und die Lebensfähigkeit der Knochenzellen aufrechterhält. Die Knochenflüssigkeit befindet sich im Gleichgewicht mit dem Plasma, obwohl ihr Kalzium- und Phosphatgehalt niedriger ist als der des Plasmas.(19) Sobald Osteozyten von der Matrix umgeben sind, entwickeln sie zytoplasmatische Fortsätze. Diese durchqueren den Knochen und treten mit den Zellfortsätzen benachbarter Osteozyten in Kontakt, was eine direkte Kommunikation ermöglicht. Osteozyten erhalten die Knochenmatrix und sorgen für die Kalziumhomöostase.(9)

Osteoklasten sind große, vielkernige Zellen. Sie siedeln sich in flachen Vertiefungen auf der Knochenoberfläche in Lakunen an, denn sie sind die knochenresorptiven Zellen. Während des Umbaus und der Heilung des Knochens können sie sich auch in tiefen Resorptionshöhlen aufhalten. Sie heften sich über einen Bürstensaum an die Knochenmatrix an und lösen diese durch Ansäuerung auf, was schließlich die Phagozytose der Matrix ermöglicht. Osteoklasten können nur den mineralisierten Knochen resorbieren.

Es sind viele Faktoren und Zytokine bekannt, welche die Bildung und Aktivität von Osteoklasten regulieren. Darunter befindet sich der Rezeptor-Aktivator des NF-(kappa)(beta)-Liganden (RANKL), Osteoprotegerin (OPG), Interleukin-1, Interleukin-6, Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor, Parathormon, 1,25-Dihydroxyvitamin D und Calcitonin.(9)

Zusätzlich befindet sich hier ein sehr wichtiger Signalweg, der RANK-RANKL-OPG-Pfad. RANKL gehört zur Familie der Tumor-Nekrose-Faktoren (TNF), existiert als transmembranes, lösliches Protein.(20) Dieser wird von einer Vielzahl von Zelltypen produziert, darunter Osteoblasten, Osteozyten, stromale Knochenzellen und

Immunzellen.(21) RANKL bindet an RANK auf Osteoblasten beziehungsweise Osteoklastenvorläufern und wirkt als wesentlicher Faktor bei der Bildung, Aktivierung und dem Überleben von Osteoklasten. Diese Zellart ist die Einzige, die für Knochenresorption und Abbau von Knochengewebe verantwortlich ist.(20, 22). Die durch die Bindung von RANKL an den RANK-Rezeptor stimulierte Knochenresorption wird durch die Expression von OPG, eines Glykoproteins, ausgeglichen.(23)

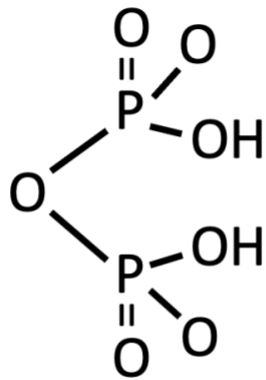
2.2 Einteilung und jeweiliger Wirkmechanismus

2.2.1 Bisphosphonate

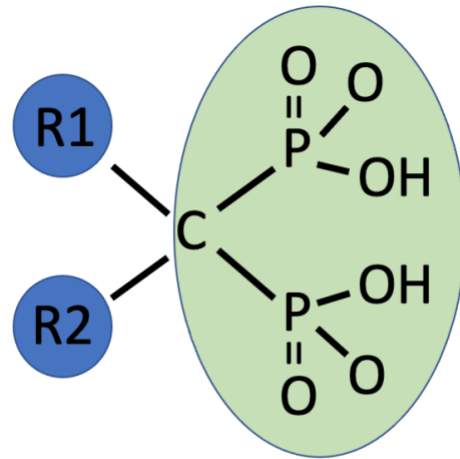
Bisphosphonate (BP) haben sich maßgeblich als Medikation zur Therapie von Skeletterkrankungen etabliert, welche durch einen gesteigerten Knochenabbau geprägt sind. Zu diesen Krankheitsbildern zählen unter anderem Morbus Paget, Knochenmetastasen, Multiples Myelom, Osteoporose und diverse Erbkrankheiten bei Kindern.(24)

Die wichtigsten Bisphosphonatpräparate waren in der Vergangenheit als Markenmedikamente verfügbar, sind jetzt aber generisch und kostengünstig herstellbar und erhältlich. Zu den klinisch erfolgreichen Bisphosphonaten gehören Etidronat, Alendronat, Risedronat, Pamidronat, Ibandronat und Zoledronat.(24).

Bisphosphonate stellen stabile Analoga des natürlich vorkommenden anorganischen Pyrophosphats dar. Die Stabilität ergibt sich durch den Austausch eines Kohlenstoffatoms an der Stelle des Sauerstoffatoms, das die beiden Phosphate verbindet. Diese Modifikation verleiht dem Molekül Widerstandsfähigkeit gegenüber dem biologischen Abbau.



Pyrophosphat

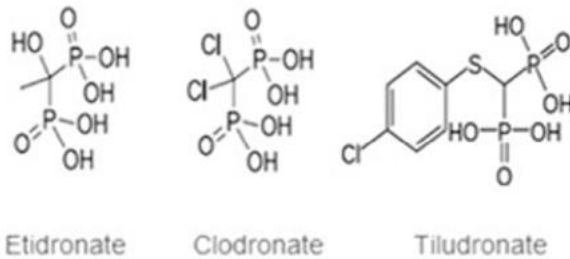


Bisphosphonat

Abbildung 1: Der Unterschied der chemischen Formel zwischen Pyrophosphat (links) und Bisphosphonaten (rechts). Grün markiert ist die dem Pyrophosphat ähnliche Struktur, blau markiert sind die Restketten dargestellt, die den Unterschied zwischen den verschiedenen Bisphosphonaten definieren. Die Bisphosphonate von klinischem Interesse besitzen alle zwei Phosphatgruppen, die ein gemeinsames Kohlenstoffatom haben.(25)

Aufgrund der hohen Ähnlichkeit zu Pyrophosphat folgt eine schnelle Eliminierung der Bisphosphonate aus dem Blutkreislauf, da sie eine starke Affinität an exponierte Oberflächen des Hydroxylapatit-Knochenminerals aufweisen. Somit werden sie in den Knochen eingebaut, indem sie an Calcium-Ionen binden.(26)

Einfache nicht-stickstoffhaltige Bisphosphonate



Stickstoffhaltige Bisphosphonate

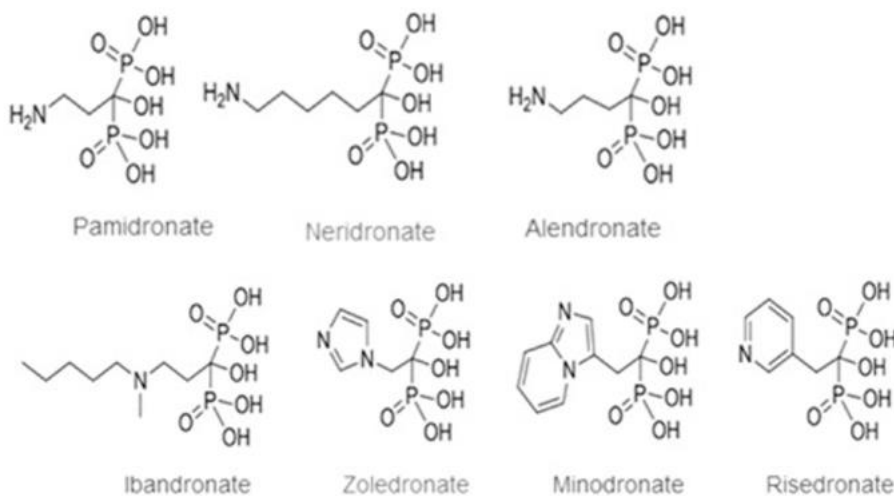


Abbildung 2: 10 Bisphosphonate, die in verschiedenen Ländern für den klinischen Einsatz zugelassen sind, unterteilt in nicht-stickstoffhaltige beziehungsweise stickstoffhaltige Bisphosphonate.(24) Auch hier sind die beiden Phosphatgruppen in der Struktur der Bisphosphonate gut erkennbar.

Nach der Bindung an das Knochenmineral sind Osteoklasten die einzigen Zellen in der Knochenmikroumgebung, die die Fähigkeit besitzen, während des Knochenabbaus große Mengen an Bisphosphonaten freizusetzen und anschließend über Endozytose zusammen mit Kalzium und anderen Knochenabbauprodukten zu internalisieren.(25, 26)

Innerhalb der Bisphosphonate unterscheidet man unter den einfachen Bisphosphonaten und stickstoffhaltigen Bisphosphonaten.

Bei einfachen Bisphosphonaten zeigten sich nach Aufnahme typische, beschriebene morphologische Veränderungen des apoptotischen Zelltods einschließlich Zellschrumpfung, Kernkondensation und Plasmamembranblasenbildung.(27) Normalerweise würde intrazellulär im Osteoklasten eine Aminosäure mit Adenosin-Triphosphat (ATP) in einer

reversiblen Reaktion kondensieren, um ein Aminoacyl-Adenosin-Monophosphat (AMP) und ein Pyrophosphat zu bilden (Reaktion 1 in Abbildung 3). Das Aminosäuren-AMP würde dann normalerweise weitere Reaktionen eingehen (Reaktion 2 in Abbildung 3). Aufgrund der Reversibilität der 1. Reaktion in Abbildung 3 und der Ähnlichkeit zu Pyrophosphat können die Pyrophosphat-ähnlichen Bisphosphonate nun ATP-Analoga bilden, sogenannte Adenosin-5'-[(beta,gamma)-methyleno]triphosphat-Metabolite (AppCp)(Reaktion 3 in Abbildung 3). Diese AppCp-Metabolite akkumulieren nun in den Osteoklasten im Zytosol, da diese nicht metabolisch abgebaut werden können. Sie ersetzen ATP, welches normalerweise als Energiequelle für viele intrazelluläre ATP-abhängige Enzyme dient.(28) Dazu zählt unter anderem Adenin-Nucleotid-Translokase (ANT), welches als Bestandteil von Poren in der Mitochondrienmembran für die Permeabilität zuständig und für die Translokation des ATP entlang der Mitochondrienmembran verantwortlich ist. Durch die Ähnlichkeit zu ATP, inhibieren die AppCp-Metabolite das ANT. Somit entsteht eine Dysbalance innerhalb des mitochondrialen Membranpotentials, was in weiterer Folge zur Apoptose des Osteoklasten führt.(29)

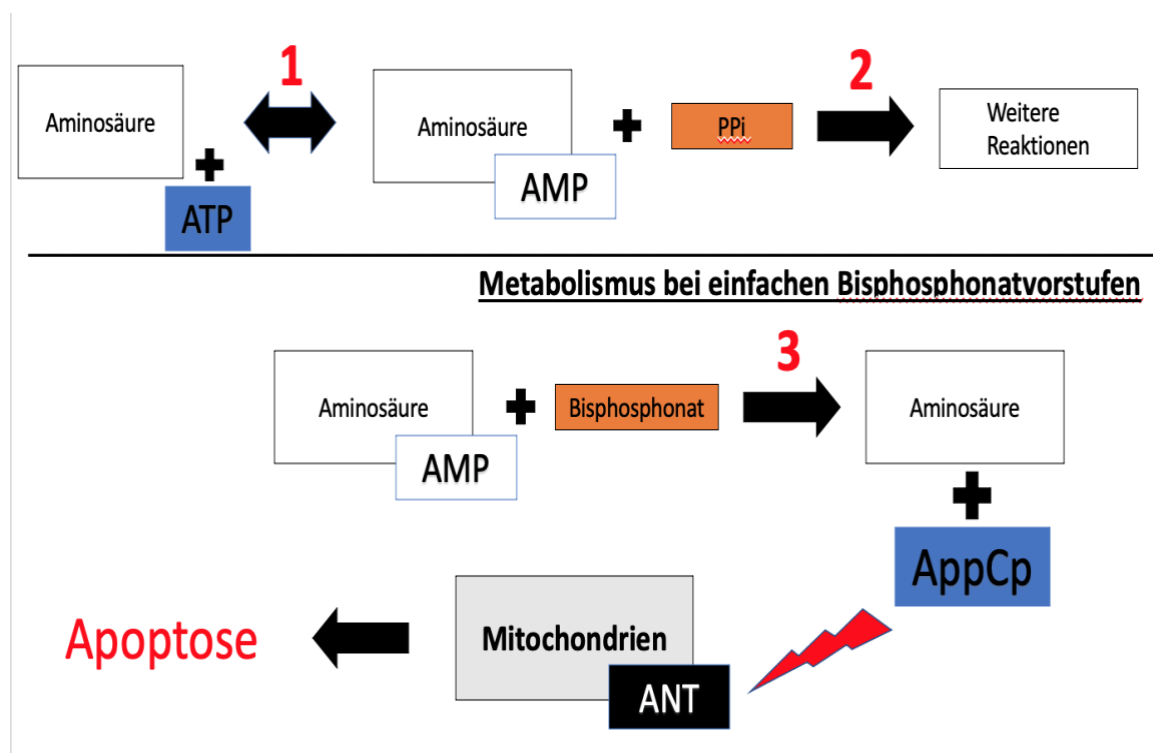


Abbildung 3: Wirkmechanismus von einfachen Bisphosphonaten in Osteoklasten. Wie in Reaktion 1 zu sehen ist, kondensiert normalerweise intrazellulär im Osteoklasten eine Aminosäure mit ATP in einer reversiblen Reaktion, um ein Aminoacyl-AMP und ein Pyrophosphat zu bilden. Aufgrund der Ähnlichkeit zu Pyrophosphat (PPi) geht diese Reaktion ein Bisphosphonat ebenfalls ein (Reaktion 3), nur dass hier AppCp gebildet wird.

Das ANT wird nun aufgrund der Ähnlichkeit von AppCP zu ATP gehemmt, was zu einer Dysbalance des mitochondrialen Membranpotentials und somit zur Apoptose führt (Abbildung in Anlehnung an eine Abbildung von Rogers MJ et al., 2020 erstellt).(29)

Im Vergleich zu den einfachen Bisphosphonaten haben stickstoffhaltige Bisphosphonate einen anderen Wirkmechanismus, denn diese wirken als Inhibitoren der Farnesylpyrophosphat-Synthase (FPPS) im Mevalonatweg. Die FPPS ist ein wichtiges regulatorisches Enzym im Mevalonatweg, denn dieser Stoffwechselweg liefert wichtige Lipidmoleküle wie Cholesterin und Isoprenoide. Letztere sind für posttranslationale Prenylierung (= Verbindung mit einem hydrophoben Terpen-Rest) kleiner Guanin-Triphosphatasen (GTPasen) unabdingbar.(30) Prenylierte GTPasen sind äußerst wichtige Signalproteine in Osteoklasten, die eine Vielzahl von Zellprozessen regulieren, die für die Knochenresorption von Bedeutung sind, darunter Anordnung des Zytoskeletts, die Membranordnung, Transport von Vesikel und die Apoptose selbst.(31) Im Falle der stickstoffhaltigen Bisphosphonate induzieren die einzigartigen pharmakokinetischen Eigenschaften dieser Verbindungen, die auf den Knochen abzielen, eine selektive Hemmung von FPPS. Damit verbunden steht der Verlust der prenylierten Proteine in Osteoklasten, wodurch die knochenabbauende Aktivität dieser Zellen unterbunden wird.(32)

Desweiteren kann die Hemmung der FPPS durch die Anhäufung von Isopentenylpyrophosphat (IPP) zur Entstehung des Apoptose-fördernden ATP-Analogons ApppI (triphosphoric acid 1-adenosin-5'-yl ester 3-(3-methylbut-3-enyl)ester) führen und somit die Apoptose einleiten. (33)

Die Eliminierung von Bisphosphonaten aus dem Blutkreislauf erfolgt entweder durch renale Ausscheidung oder durch Aufnahme in den Knochen.

Die anfängliche Clearance einer Bisphosphonat-Dosis geschieht rasch. Jedoch muss das im Knochen gebundene Medikament erst osteoklastenvermittelt durch Knochenabbau freigesetzt werden, was sich von Wochen über Monate bis hin zu Jahren erstrecken kann.(34)

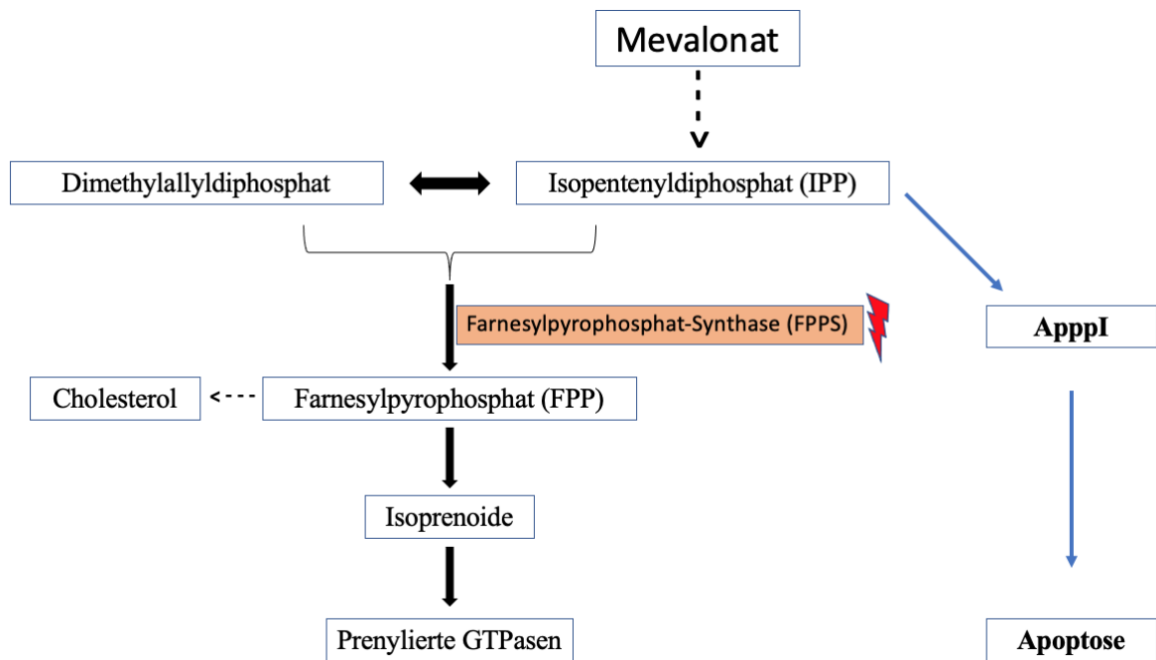


Abbildung 4: Wirkmechanismus von einfachen Bisphosphonaten und stickstoffhaltigen Bisphosphonaten. Das regulatorische Enzym FPPS wird gehemmt, wodurch Cholesterin, Isoprenoide und in weiterer Folge pränylierte GTPasen nicht mehr hergestellt werden können. Dadurch werden viele Zellprozesse in Osteoklasten gehemmt. Zusätzlich häuft sich IPP und damit ApppI in den Osteoklasten an, was zur Apoptose der Osteoklasten führt (Abbildung wurde angelehnt an eine Abbildung von Russell et al., 2008)(33)

2.2.2 Denosumab

Denosumab ist ein humaner monoklonaler IgG2-Antikörper, welcher antiresorptive Eigenschaften besitzt. Zu den Indikationen gehören die Vorbeugung von skelettbezogenen Ereignissen (z. B. Knochenschmerzen und Knochenbrüche) als Folge von Multiplem Myelom oder Knochenmetastasen von soliden Tumoren, Riesenzelltumoren des Knochens, maligner Hyperkalzämie, Osteoporose bei postmenopausalen Frauen mit hohem Frakturrisiko sowie bei Männern mit Osteoporose mit hohem Frakturrisiko, Glukokortikoid-induzierter Osteoporose und Knochenverlust.(35)

Denosumab zielt vor allem auf RANKL ab, verhindert die Bindung von RANKL am RANK-Rezeptor und hemmt dadurch die Entwicklung, Aktivierung und das Überleben von Osteoklasten. Der Hauptunterschied zwischen Denosumab und Bisphosphonaten liegt darin, dass Bisphosphonate von Osteoklasten aufgenommen werden müssen, um auf die Zellen zu wirken, wohingegen Denosumab im extrazellulären Milieu wirkt.(36) Die RANKL-

Hemmung verhindert die Fusion von monozytischen Osteoklastenvorläuferzellen zu mehrkernigen Osteoklasten.(37)

Dadurch, dass Denosumab die Wirkung von OPG als RANKL-bindendes Molekül im OPG/RANKL/RANK-Signalweg imitiert, unterdrückt Denosumab die Reifung von Osteoklastenvorläuferzellen und fördert die Apoptose von reifen, mehrkernigen Osteoklasten.(38)

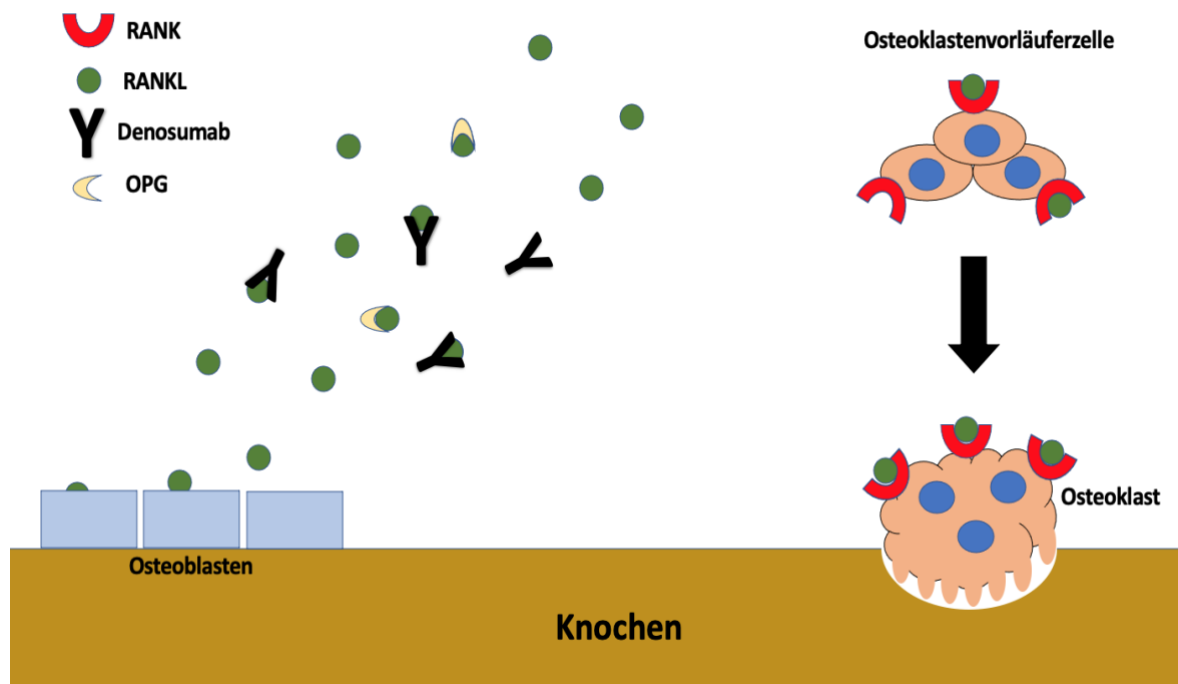


Abbildung 5: Wirkmechanismus von Denosumab. Denosumab bindet RANKL, verhindert Bindung an RANK-Rezeptor und imitiert somit die Wirkung von OPG. Daraus resultiert eine verminderte Bildung von Osteoklasten, wodurch die Knochenresorption vermindert wird

Als Antikörper wird davon ausgegangen, dass Denosumab über das retikuloendotheliale System aus dem Blutkreislauf mit einer Halbwertszeit von etwa 26 Tagen entfernt wird. Zusätzlich scheint es so, dass keine neutralisierenden Antikörper gebildet werden.(38)

2.2.3 Romosozumab

Romosozumab ist ein monoklonaler Antikörper, der zur Vorbeugung von Knochenbrüchen bei postmenopausalen Frauen mit Osteoporose eingesetzt wird. Es wird subkutan verabreicht und hemmt das Glykoprotein Sclerostin im Wnt-Signalweg. Der Wnt-Signalweg ist für die Regulation und das Gleichgewicht zwischen Knochenauf- und Knochenabbau zuständig, sorgt in osteoblastischen Vorläuferzellen zu einer Differenzierung und fördert Knochenaufbau durch die Osteoblasten.(39) Das von Osteozyten sezernierte Sclerostin ist ein Gegenspieler des Wnt-Signalwegs. Es verhindert somit den Knochenaufbau und sorgt durch eine Stimulierung von Osteoklasten für Knochenabbau.(39) Die Hemmung des Sclerostins durch Romosozumab führt somit zu einer Aktivierung des Wnt-Signalwegs und dadurch zu verstärkter Knochenbildung und einer verringerten Knochenresorption.(40) Romosozumab wurde erst kürzlich in der klinischen Anwendung eingeführt.(41) Als häufigere Nebenwirkungen der Romosozumab-Therapie gelten kardiovaskuläre Ereignisse, Arthralgien, wohingegen die MRONJ eher sehr selten zu sein scheint.(39)

2.2.4 VEGF-Inhibitoren

Das Ausbilden neuer Blutgefäße in Tumoren (Tumorangiogenese) wird mit verstärktem Tumorwachstum und erhöhtem Metastasierungspotenzial in Verbindung gebracht. Der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) ist einer der stärksten pro-angiogenen Faktoren und wird in den meisten soliden Krebsarten exprimiert.(42) Neben der Förderung der Angiogenese und der vaskulären Permeabilität, können VEGF und sein Rezeptor (VEGFR) immunsuppressive Wirkungen in Tumoren ausüben. Dies beinhaltet die Hemmung der Reifung dendritischer Zellen, die Erleichterung der Infiltration von immunsuppressiven Zellen und die Verstärkung der Expression von Immun-Checkpoint-Molekülen.(43) Zu den VEGF-Inhibitoren, die mit MRONJ assoziiert werden, zählt man vor allem Bevacizumab.

Bevacizumab ist ein rekombinanter humanisierter monoklonaler IgG1-Antikörper, der VEGF bindet und so dessen Wechselwirkung mit seinen Rezeptoren verhindert und seine biologische Aktivität neutralisiert.(44) Zusätzlich zur Reduktion der VEGF-vermittelten Immunsuppression innerhalb des Tumors und seiner Mikroumgebung können Anti-VEGF-

Therapien mit Bevacizumab die Wirksamkeit von Anti-PD-1 und Anti-PD-L1 (Checkpoint-Inhibitor-Rezeptoren) verstärken, indem sie die VEGF-vermittelte Immunsuppression umkehren und die T-Zell-Infiltration in den Tumor fördern. So wird die Wirksamkeit von Checkpoint-Inhibitoren verstärkt.(45)

Die Prävalenz von MRONJ in PatientInnen, welche nur mit Bevacizumab therapiert wurden, betrug 0,1 -0,4%.(46) Die Prävalenz von MRONJ schien in PatientInnen, die Bisphosphonate gemeinsam mit Bevacizumab erhielten, leicht erhöht im Vergleich zu PatientInnen, die nur Bevacizumab erhielten und betrug 0,9-2,4%.(47)

2.2.5 Tyrosinkinase-Inhibitoren

Zu den Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI), welche mit MRONJ assoziiert werden, zählt man Sunitinib und Sorafenib. Sunitinib ist ein oraler Multitarget-TKI für vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktorrezeptoren (VEGFR1/2/3), Thrombozyten-Wachstumsfaktoren, Stammzellfaktor-Rezeptor, Fms-ähnliche Tyrosinkinase-3, Kolonie-stimulierende Faktor-Rezeptor Typ 1 und den Rezeptor für den von Gliazellen abgeleiteten neurotrophen Faktor. Aufgrund seiner wirksamen antiangiogenen und antitumoralen Wirkung ist Sunitinib zu einem Rettungsanker für PatientInnen mit vielen verschiedenen Tumorentitäten geworden.(48)

Sorafenib, ebenfalls ein Multitarget-TKI, zeigt ebenfalls Anti-Angiogenese- und Anti-Proliferationseffekte und verlängert dadurch die Gesamtüberlebenszeit bei vielen TumorpatientInnen. Sorafenib unterdrückt die Proliferation von Tumorzellen durch Hemmung von Raf-1, B-Raf und der Kinaseaktivität in den Ras/Raf/MEK/ERK-Signalwegen. Darüber hinaus ist Sorafenib in der Lage, PDGFR- β , VEGFR2, noch andere Proteine zu hemmen, um die Tumorangio-genese zu blockieren.(49)

Gerade in kombinierten Therapien durch TKI mit Bisphosphonaten ergab eine hohe ONJ-Inzidenz von 10%.(50)

3 Antiresorptiva-assoziierte Kiefernekrose

3.1 Definition

Die MRONJ sollte von anderen Formen der Osteonekrose unterschieden und durch Anamnese und klinische Untersuchung identifiziert werden. Deshalb wird die MRONJ durch die 3 Kriterien

- aktuelle oder vorangegangene alleinige Antiresorptiva-Einnahme oder in Kombination mit anderen Medikamenten wie beispielsweise mit Antiangiogenese-Medikamenten
- Kieferknochen, der länger als 8 Wochen freiliegt beziehungsweise intraoral oder extraoral sondierbar ist
- keine Kopf-Hals-Radiatio in der Vergangenheit

definiert.(51)

3.2 Einteilung

Die American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) hat ein einfaches Staging-System zur korrekten Stratifizierung von MRONJ-PatientInnen entwickelt, um Aspekte der klinischen Manifestation genauer zu charakterisieren und einteilen zu können. Dies erleichtert die Erstellung rationaler Behandlungsrichtlinien und Beurteilung der Prognose und Behandlungsergebnisse der MRONJ-PatientInnen. Dieses Staging-System wurde unter anderem von der Deutsche Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (DGMKG) übernommen.

In folgende Stadien werden MRONJ durch die AAOMS eingeteilt (1), welche 2014 noch einmal angepasst und modifiziert wurden:

RisikopatientInnen: Symptomlose PatientInnen ohne Knochennekrosen, die eine antiresorptive Therapie erhalten haben.

Stadium 0: Es gibt keine klinischen Anzeichen, die für nekrotischen Knochen sprechen. Allerdings können unspezifische Symptome oder andere klinische beziehungsweise radiologische Anzeichen vorliegen:

Es können mehrere Symptome, darunter Odontalgien, die nicht durch odontogene Ursachen erklärt werden können, vorliegen. Zudem können dumpfe, ziehende Knochenschmerzen im Kiefer neben Kieferhöhlenschmerzen, die mit Entzündung oder Verdickung der Kieferhöhlenwand assoziiert werden können, und veränderte neurosensorische Funktionen auftreten.

Zu diesen klinischen Anzeichen zählen der Zahnverlust ohne Vorliegen einer chronischen Parodontitis und intra- beziehungsweise extraorale Schwellungen.

Als radiologische Anzeichen gelten der Alveolarknochenverlust oder die -resorption ohne Vorliegen einer chronischen Parodontitis, Veränderungen zu sklerosiertem Knochen mit und keine Knochenneubildung in Extraktionsalveolen. Auch Regionen mit Osteosklerose, die den Alveolarknochen betreffen, und Verdickungen und Verdunkelungen des parodontalen Ligaments, zählen zu den radiologischen Zeichen.(52)

All diese unspezifischen Anzeichen können ebenfalls bei bereits geheilten PatientInnen ohne freiliegenden Knochen mit der Vorgeschichte einer MRONJ auftreten.

In bis zu 50 Prozent der Fälle wurde bei PatientInnen im Stadium 0 eine Progression der Erkrankung auf Stadium 1 festgestellt(53), weshalb die AAOMS empfiehlt, das Stadium 0 als potenzielle Vorstufe einer MRONJ zu sehen.

Stadium 1: In diesem Stadium liegt exponierter oder nekrotischer, mit einer Sonde sondierbarer Knochen vor, der asymptomatisch und frei von Entzündungszeichen ist.

Stadium 2: In Stadium 2 haben wir ebenfalls exponierten oder sondierbaren, nekrotischen Knochen vorliegen, jedoch hierbei in Kombinationen mit Entzündungsanzeichen und Symptomen.

Stadium 3: Vorhandensein von exponiertem oder nekrotischem, sondierbarem Knochen in Kombination mit Entzündungszeichen bei symptomatischen PatientInnen ist hier ebenfalls gegeben. Jedoch erfolgt dies in zusätzlicher Kombination mit einem oder mehreren der folgenden Symptome: Vorliegen von exponiertem, nekrotischen Knochen mit Ausbreitung auf benachbarte Regionen wie zum Beispiel in Richtung Sinus maxillaris, Jochbein oder Unterkieferbasis zählt zu diesen Symptomen genauso wie pathologische Frakturen, extraorale Fisteln, Mund-Antrum-Verbindungen oder Osteolysen bis zum Unterrand des Unterkiefers oder des Sinusbodens.

3.3 Pathogenese

Es wurden verschiedene lokale Risikofaktoren identifiziert, die mit der Entstehung einer MRONJ in Verbindung gebracht werden.(51) Zu diesen Faktoren zählen chirurgische Eingriffe, wie Zahnextraktionen oder Implantatinsertion, Zahnerkrankungen, wie parodontale oder periapikale Erkrankungen, sowie mechanische Traumata durch schlechtsitzenden Zahnersatz oder die Mastikation in anatomisch anfälligen Bereichen.(54) Die Zahnextraktion ist der häufigste für eine MRONJ prädisponierende Faktor und es wird berichtet, dass sie in 60% bis 80% der Fälle auftritt.(55, 56)

Ein geringer Anteil der Fälle scheint keinerlei offensichtlichen lokalen Faktoren zuzuordnen zu sein und wird als spontane MRONJ bezeichnet.(57) Es ist unklar, ob diese Fälle tatsächlich spontan auftreten oder das Ergebnis eines nicht identifizierten Faktors sind, der die Entstehung der Krankheit begünstigt, wobei jedoch letzteres als wahrscheinlich anzusehen ist.

Obwohl die MRONJ schon lange bekannt ist und einige Risikofaktoren identifiziert wurden, gibt es keine eindeutige Pathophysiologie, sondern sehr viele Hypothesen, mit denen man die Pathophysiologie zu erklären versucht. Bisher war es jedoch nicht möglich, die Pathophysiologie allein mit einer dieser Hypothesen zu erklären, weshalb man eher von einer multifaktoriellen Erkrankung ausgeht.

Zur Erklärung der Pathophysiologie von MRONJ gibt es sehr viele Hypothesen. Einige, aber längst nicht alle, sind(58-68):

- eine hohe Knochenumsatzrate führt zu einer vermehrten Anhäufung von Bisphosphonaten im Kiefer;
- eine toxische Wirkung der Antiresorptiva auf die orale Mukosa;
- orale Zelltypen wie Osteoblasten, parodontale Fibroblasten oder mesenchymale Stammzellen zeigen eine gesteigerte Sensibilität gegenüber Bisphosphonaten;
- eine veränderte Immunreaktion des oralen Gewebes auf Verletzungen oder Infektionen;
- unzureichende Regeneration des oralen Gewebes in Gegenwart von Antiresorptiva führt zu einer beeinträchtigten Wundheilung;
- Hemmung der Angiogenese;
- genetische Prädisposition;

- systemische Komorbiditäten, die die orale Wundheilung beeinträchtigen und hindern.

Eine der Haupthypothesen besteht in der reduzierten Aktivität von Osteoklasten.

Eine entscheidende Rolle der reduzierten Aktivität der Osteoklasten als Auslöser für die Krankheit könnte durch die Tatsache gestützt werden, dass zwei pharmakologische Wirkstoffe (Bisphosphonate und Denosumab), die Osteoklastenfunktion durch verschiedene Mechanismen anscheinend hemmen und dennoch zu klinischen und experimentellen Krankheitsphänotypen führen, die sich nicht unterscheiden lassen.(69) Der einzige dokumentierte Unterschied zwischen Bisphosphonaten und Denosumab scheint in der höheren Inzidenz von MRONJ bei osteoporotischen Denosumab-AnwenderInnen zu bestehen.(51) Selbst dieser Unterschied könnte wahrscheinlich auf die effektivere Hemmung der Knochenresorption durch Denosumab zurückzuführen sein.

Es gibt zwar Anzeichen dafür, dass Bisphosphonate im Speichel nachweisbar sind,(70) und obwohl die direkten Auswirkungen von Bisphosphonaten auf die Magenschleimhaut *in vivo* und auf Zellen der Mundschleimhaut *in vitro* gut beschrieben sind,(71, 72) gibt es keine Belege dafür, dass Bisphosphonate die Mundschleimhaut *in vivo* beeinträchtigen oder dass Denosumab im Speichel ausgeschieden wird oder eine direkte Wirkung auf Mundschleimhautzellen hat. Daher ist die Verschlechterung des Weichgewebes während des MRONJ-Prozesses höchstwahrscheinlich das Ergebnis des Krankheitsverlaufs und nicht eine direkte toxische Wirkung der antiresorptiven Medikamente.(69)

Die Entstehung der MRONJ wird durch eine Knochennekrose als auslösendes Ereignis charakterisiert. Es existieren überzeugende klinische Beweise für das Vorhandensein von MRONJ im Stadium 0, einer Phase der Erkrankung, in der klinisch kein freiliegender Knochen erkennbar ist. In dieser Phase zeigen PatientInnen jedoch unspezifische Symptome und klinische Befunde, die nicht durch eine gewöhnliche Zahnerkrankung erklärbar sind. Oder auch radiologische Merkmale, wie eine veränderte Knochenarchitektur, Knochensklerose, fehlende Einheilung der knöchernen Alveole, Sequestrierung (nekrotischer Knochen, der von Körper abgestoßen wird) oder fehlende periostale Knochenbildung.(51, 73-75)

In vielen Tierstudien zeigte sich, dass beinahe alle Tiere, die Antiresorptiva und experimentelle Eingriffe erhalten haben, eine Knochennekrose entwickelt haben, jedoch lediglich bei einem Bruchteil dieser Tiere mit Knochennekrose auch Knochen freilag.(76-78)

Diese Beobachtungen, gepaart mit dem Mangel an *in-vivo*-Beweisen für eine direkte Wirkung von Antiresorptiva in der Mundschleimhaut, würden die Annahme unterstützen, dass die Knochennekrose das frühe Ereignis bei der Entstehung einer MRONJ ist. Der Weichteilabbau müsste theoretisch entweder nach der Knochennekrose erfolgen oder die unmittelbare Konsequenz eines traumatischen Eingriffs, wie einer Zahnextraktion oder einer Implantation sein.(69)

Desweiteren beeinträchtigen verschiedene Pathologien und Prozesse das orale Umfeld und stören die Homöostase des Kieferknochens. Zu den am häufigsten auftretenden pathologischen Prozessen im Kieferknochen zählt die Ausbreitung von infektiösen Zahnerkrankungen auf den Alveolarknochen, entweder durch das Zahnfleisch (Parodontitis) oder durch die Zahnpulpa (periapikale Entzündung).(79)

Zusätzlich können lokale Traumata wie Zahnextraktion, Implantatinsertion, schlechtsitzende Prothesen oder erhöhte Kaukräfte an Stellen, wie zum Beispiel Exostosen oder der lingualen mandibulären Kortikalis, im retromolaren Bereich die Weich- und Hartgewebe der Mundhöhle beeinflussen.(80, 81)

Entzündungen, die sich in den periapikalen oder parodontalen Geweben ausbreiten, führen zu damit verbundenem Knochenverlust.(79) Diese physiologische Reaktion des oralen Gewebes begrenzt die Infektion auf die periradikulären Gewebe und hemmt ihre Ausdehnung. Der Knochen wird vom Infektionsherd weg resorbiert, wodurch Raum für eine effektive Entzündungsreaktion geschaffen und der Knochen vor der toxischen Umgebung der Entzündung geschützt wird. Tatsächlich bildet sich bei parodontalen und periapikalen Entzündungen ein mikrobieller Biofilm auf der Wurzel oder der interradikulären Oberfläche, umgeben von einem intensiven entzündlichen Infiltrat. In der Peripherie der Entzündung werden entlang des resorbierenden Alveolarknochens aktivierte Osteoklasten beobachtet.(82, 83)

Bei Parodontitis wird eine erhöhte Apoptose von Entzündungszellen, parodontalen Zellen und Osteozyten beobachtet. Apoptotische Osteozyten sezernieren Zytokine, insbesondere RANKL, welche die Bildung und Aktivität von Osteoklasten stimulieren und zur Resorption des absterbenden Knochens führen. Das Fortbestehen einer parodontalen oder periapikalen Erkrankung führt zu einer fortschreitenden Zerstörung des parodontalen Gewebes und zu damit einhergehendem Knochenabbau.(84)

Ähnlich verhält es sich mit Traumen des Knochens. Iatrogene Eingriffe wie Zahnextraktionen oder das Einsetzen von Implantaten führen zu einem Trauma in der Mundhöhle, das auch zwangsläufig den Kieferknochen einschließt. An einer gesunden Reaktion des Knochens auf diese physiologische, paraphysiologische oder iatrogene Verletzungen sind mehrere Zelltypen beteiligt, wobei die Osteoklasten eine Schlüsselrolle beim Knochenumbau und der normalen Heilung spielen.(81)

Die durch die Verletzung hervorgerufene Entzündungsreaktion induziert die Bildung und Aktivierung von Osteoklasten, die nach der Extraktion zum Umbau der ursprünglichen Kontur der Alveole und zur Entfernung des nekrotischen Knochens an der Peripherie der Alveole beitragen.(80) Diese osteoklastische Aktivität wird von einer starken Differenzierung der mesenchymalen Stammzellen des Parodonts und des Knochenmarks zu Osteoblasten begleitet, die Knochen bilden und die Alveole von ihrer Peripherie her auffüllen.(85, 86) Durch die anschließende Aktivität wird ein großer Teil des Geflechtknochens entfernt und der verbleibende Knochen in normale, lamellenartig strukturierte Trabekel und Kortikalis umgewandelt.(80)

Während einer Implantatinsertion sorgt schließlich die koordinierte Funktion der rekrutierten Osteoklasten und der differenzierten Osteoblasten an der Implantatstelle für eine enge Assoziation des Knochens mit der Implantatoberfläche und eine erfolgreiche Osseointegration des Implantats.(86)

Das entzündliche Umfeld ist wahrscheinlich toxisch für Osteozyten. Tatsächlich könnten entzündliche Zytokine wie TNF-a, IL-6 und IL-1 die Apoptose von Osteozyten auslösen. Apoptierende Osteozyten sezernieren Signale, die entweder direkt oder indirekt Osteoklasten aktivieren, die den nekrotischen Knochen resorbieren.(84) In Gegenwart von Antiresorptiva und einer Hemmung der osteoklastischen Funktion würde der nekrotische Knochen jedoch eher erhalten werden. (77, 87, 88)

Leere osteozytäre Lakunen würden sich an den an die Entzündung angrenzenden Stellen häufen und nicht im gesamten Alveolarknochen, was für eine lokale Nische spricht, die eher eine lokale Osteonekrose als eine generalisierte und gleichmäßig verteilte Knochennekrose begünstigt.(89)

Die Osteozytenapoptose bei MRONJ und Zellnekrose werden früh in der Erkrankung beobachtet. Die freigesetzten zellulären Signale verstärken vermutlich die Entzündung des umliegenden Gewebes, während nicht entfernter nekrotischer Knochen die Heilung eher hemmt. Veränderungen in der oralen Submukosa, einschließlich verringertem Gefäßnetz,

erhöhtem Auftreten von oxidativem Stress, Hypoxie und Zelloptose sowie Unterbrechung des Kollagenfasernetzwerks treten bereits vor der Knochenfreilegung auf.(90-92)

Infolgedessen werden ein Anstieg des Entzündungsinfiltrats des an den nekrotischen Knochen angrenzenden parodontalen Gewebes und eine veränderte Entzündungsreaktion festgestellt.(78, 87)

In ähnlicher Weise wird bei einem lokalen Trauma durch eine palatinale Wunde oder eine Zahnextraktion eine intensive Neutrophilenaggregation in der Nähe des nekrotischen Knochens in Anwesenheit, aber nicht in Abwesenheit von Antiresorptiva beobachtet.(93) Ob dies direkt durch Antiresorptiva stattfindet, ist unklar. Wichtig scheint zu sein, dass während der Entwicklung der MRONJ eine Verschiebung hin zu einem anhaltenden pro-inflammatorischen Umfeld stattfindet.(58, 62)

Eine erhöhte Ansammlung von Immunzellen resultiert in einer vermehrten Zytokinsekretion. Auf diese Weise entsteht eine ständige Rückkopplungsschleife, welche die Entzündung fördert und die Heilung in Bereichen der Osteonekrose hemmt.(59, 67)

Aufgrund der Hemmung der alveolären Knochenresorption könnte sich der Abstand zwischen dem Epithel und dem nicht resorbierten nekrotischen Knochen verringern, das Epithel nach apikal wandern, zum Freiliegen des nekrotischen Knochens führen und einen Saum um den nekrotischen Knochen herum bilden.(78, 92, 94)

Die durch die Hemmung der Knochenresorption bedingte Nähe des Alveolarknochens zur Entzündung erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass sich die Infektion von zum Beispiel umliegenden Geweben durch Parodontitis etc. auf den nekrotischen Knochen ausbreitet. Bei PatientInnen mit klinischen MRONJ-Läsionen bildet sich auf der nekrotischen Knochenoberfläche ein starker Biofilm und wird somit von Bakterien besiedelt, welche die Entzündungsreaktion vermutlich weiter verstärken.(95-98) Eine konstante Rückkopplungsschleife könnte entstehen, was ein Fortschreiten der für eine MRONJ-charakteristische Veränderungen des Weich- und Knochengewebes begünstigen könnte. Die Präsenz des entzündlichen Prozesses beeinträchtigt somit auch höchstwahrscheinlich die Heilungsfähigkeit des Weich- und Knochengewebes. Das bedingt die Tatsache, dass eine lokale Wundversorgung des freiliegenden Knochens, welche die Plaqueakkumulierung und Entzündung reduziert, die allgemeine Krankheitsabheilung deutlich verbessert, eine Symptomverbesserung herbeiführt und somit eine Heilung beschleunigen kann.(99)

In Tierstudien, in denen die Extraktion gesunder und kranker Zähne in Gegenwart von antiresorptiver Therapie bei vorherrschenden Infektionen dentaler Genese direkt

miteinander verglichen werden, wird über eine höhere Inzidenz von MRONJ-ähnlichen Merkmalen berichtet. Hierbei wurden Osteonekrosen, die fehlende Heilung der Alveole und die Persistenz der Entzündung nach der Extraktion von Zähnen mit vorbestehender periapikaler oder parodontaler Erkrankung klinisch, radiologisch und histologisch festgestellt.(87, 92, 100)

Normalerweise führt eine Zahnextraktion zu einer Knochenbildung in der Extraktionsalveole, zur Persistenz der ursprünglichen Alveolenumrisse aufgrund der Hemmung des Remodellings und zu vermehrten nekrotischen Knochenbereichen. Vermutlich, weil diese nekrotischen Bereiche bei fehlender osteoklastischer Aktivität nicht ersetzt werden können. Die überwiegende Mehrheit der Extraktionsalveolen heilt jedoch mit normaler Schleimhaut aus und die Inzidenz von MRONJ mit Knochenfreilegung ist gering.(99)

3.4 Prävention und Therapie

Ein großes Ziel hinsichtlich der Behandlung von PatientInnen, bei denen das Risiko einer MRONJ Entwicklung besteht, ist die Prävention. Dabei müssen zum Beispiel die Priorisierung und Unterstützung der fortgesetzten onkologischen Behandlung bei PatientInnen, die eine antiresorptive Therapie allein oder in Kombination mit Immunmodulatoren oder antiangiogenen Medikamenten erhalten, gewährleistet sein. Denn gerade onkologische PatientInnen profitieren von der therapeutischen Wirkung der antiresorptiven Therapie, indem sie die Knochenschmerzen kontrollieren und das Auftreten von Fragilitätsbrüchen verhindern. Dasselbe gilt für PatientInnen mit Osteoporose und anderen metabolischen Erkrankungen.(51)

Das Sanieren von Herden und Keim-Eintrittspforten in der Mundhöhle vor dem Beginn der Bisphosphonat-Therapie reduziert die Inzidenz von MRONJ-Ereignissen bei PatientInnengruppen mit onkologischem Hintergrund.(101)

Deshalb gehört zu diesen präventiven Maßnahmen die Herdsanierung, die Verwendung von Antibiotika prä- und postoperativ, die Verwendung von Mundspüllösungen, der primäre Verschluss nach chirurgischen Maßnahmen sowie eine gute Mundhygiene.(102, 103) Die Behandlungsplanung und Herdsanierung für PatientInnen vor antiresorptiver sollte eine gründliche Untersuchung der Mundhöhle und gegebenenfalls eine Röntgenuntersuchung umfassen. Es ist wichtig, sowohl akute Entzündungsherde als auch potenzielle zukünftige

Infektionsherde zu identifizieren, um MRONJ zu verhindern, welche sich nach Beginn der medikamentösen Therapie präsentieren beziehungsweise verschlimmern könnten.(51)

Vor der antiresorptiven Therapie im Fall von nicht bösartigen Erkrankungen sollte eine Aufklärung aller PatientInnen über potenzielle Risiken, die mit einer langfristigen antiresorptiven Therapie verbunden sind, sowie eine gute Mundhygiene stattfinden. Im Falle von malignen Erkrankungen sollten PatientInnen über das erhöhte Risiko von MRONJ, sowie den damit verbundenen Stellenwert einer hinreichenden Mundhygiene und gegebenenfalls notwendigen Extraktionen von beherrdeten Zähnen vor Therapiebeginn aufgeklärt werden. Während laufender antiresorptiver Therapie bei nicht malignen Erkrankungen ist bei den meisten PatientInnen keine Änderung des Therapieplans erforderlich. Hierbei sind allerdings unter anderem das Medikamentenschema, die Dauer der Therapie, Begleiterkrankungen, andere Medikamente (insbesondere Chemotherapie, Steroide oder antiangiogene Mittel), akute vorhandene Infektionen/Entzündungen und das Ausmaß der durchzuführenden Behandlung zu berücksichtigen. Das Pausieren der antiresorptiven Therapie ist umstritten. Auch während laufender antiresorptiver Behandlung bei bestehender maligner Erkrankung müssen ebenfalls regelmäßige Aufklärungen der PatientInnen über das höhere MRONJ-Risiko im Falle von zahnärztlichen chirurgischen und prothetischen Behandlungen in der Mundhöhle und die Notwendigkeit einer gewissenhaften Zahnpflege stattfinden.(51)

3.4.1 Nicht-operative Therapie

Die Wirksamkeit nichtoperativer Therapien bei der Behandlung der MRONJ stellt eine nützliche Ergänzung zur operativen Behandlung dar. Nichtoperative Strategien können in allen Stadien sinnvoll sein, insbesondere wenn erhebliche Begleiterkrankungen eine operative Behandlung ausschließen. Sie können auch zu einer Stabilisierung der Krankheit oder zur Heilung in früheren Stadien führen. Das Ziel sowohl der operativen als auch der nichtoperativen Therapien bleibt dasselbe: Ausheilung der Symptome und der MRONJ selbst und zudem Verbesserung der Lebensqualität. Die nichtoperative Therapie konzentriert sich vor allem auf die Aufklärung der PatientInnen, die Kontrolle der Schmerzen und die Eindämmung der Sekundärinfektion, um eine Sequestrierung des freiliegenden nekrotischen Knochens zu ermöglichen.(51, 99)

Die Entscheidung über eine operative oder nichtoperative Therapie sollte individuell auf die Bedürfnisse der PatientInnen zugeschnitten sein. Das Verhältnis zwischen Risiko und Nutzen (einschließlich der Lebensqualität bei der aktuellen Symptomatik), die Fähigkeit, eine gute Wundversorgung durchzuführen, um Infektionen und eine Ausbreitung der Krankheit zu verhindern sowie die orale Funktion oder die dentale Rehabilitation nach einer marginalen oder segmentalen Resektion sollten berücksichtigt werden. Das Röntgenbild ist bei der Beurteilung von MRONJ-Läsionen von größter Bedeutung. Mit Hilfe der dreidimensionalen Bildgebung können sich bildende oder bereits ausgebildete Sequester identifiziert und die Invasivität eines chirurgischen Eingriffs möglicherweise verringert werden. Die Erhaltung der Integrität des Ober- oder Unterkiefers ist wünschenswert, da die Rekonstruktion von chirurgischen Defekten eine Herausforderung darstellen kann.(99, 104)

PatientInnen im Stadium 1 können mit Chlorhexidin-Wundpflege und verbesserter Mundhygiene behandelt werden, um den Biofilm von der nekrotischen Knochenoberfläche zu entfernen.(99) Ein chirurgischer Eingriff ist möglicherweise nicht indiziert, wenn die Krankheit nicht fortschreitet und der Patient/die Patientin eine angemessene Lebensqualität hat.(99, 105) PatientInnen im Stadium 2 haben möglicherweise Probleme mit der lokalen Wundpflege und benötigen Antibiotika zur Symptomkontrolle. PatientInnen, die auf eine nichtoperative Behandlung nicht ansprechen, oder PatientInnen, die keine angemessene Hygiene aufrechterhalten können, können von einer operativen Therapie profitieren. Bei sich entwickelnden oder etablierten knöchernen Sequestern kann eine nichtoperative Therapie indiziert sein, um eine endgültige Sequestrektomie zu ermöglichen. Die Sequesterentfernung des freiliegenden, nekrotischen Knochens führt häufig zu einem Abklingen der Erkrankung.(74, 105, 106) Bei PatientInnen mit einer MRONJ im Stadium 2 oder 3 kann trotzdem eine nichtoperative Therapie indiziert sein, wenn ein chirurgischer Eingriff kontraindiziert ist.(51)

Zusätzlich wird an neuen Behandlungsmethoden geforscht, wie z.B. um Beispiel mit Teriparatid, ein synthetisches Analogon des menschlichen Parathormons(PTH).

Es hat den beabsichtigten Effekt, den Knochenumbau zu initiieren, die Knochenbildung zu fördern, das Knochenwachstum zu stimulieren und bestehende Läsionen zu behandeln.(119) In einer 12-monatigen doppelblinden, randomisierten und kontrollierten Studie von Sim IW et al. wurden 34 TeilnehmerInnen mit MRONJ und insgesamt 47 verschiedene Läsionen

beobachtet. Die Ergebnisse deuteten darauf hin, dass Teriparatid mit einer höheren Heilungsraten der MRONJ-Läsionen assoziiert war: So wurden durch Teriparatid 45,4 % der Läsionen aufgelöst, im Vergleich zu 33,3 % in der Placebogruppe.(120)

3.4.2 Operative Therapie

Während die nichtoperative Therapie nach wie vor eine Behandlungsmöglichkeit für die MRONJ darstellt, wird zunehmend bei operativer Entfernung mit hohen Erfolgsraten für alle Stadien der Erkrankung berichtet und hat sich mittlerweile etabliert. In zahlreichen Berichten wurden hohe Erfolgsraten im Zusammenhang mit der Resektion von MRONJ-Läsionen festgestellt.(107-110) Daher sollte in allen Fällen ein operativer Eingriff zumindest geprüft und als Behandlungsoption vorgestellt werden, um das Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern.(111)

Die segmentale oder marginale Resektion des Unterkiefers und die partielle Maxillektomie sind wirksame Methoden zur Therapie der MRONJ.(107, 108, 112, 113) Dieser Ansatz kann bei PatientInnen in allen Stadien der MRONJ angewandt werden, einschließlich des Stadiums 1 der Erkrankung.(55) Diese Resektionen erfordern Ränder über die Grenzen des nekrotischen Knochens hinaus bis zu einem Bereich mit vitalem, blutendem Knochen.(114, 115) In Übereinstimmung mit den chirurgischen Grundsätzen ist die Kontrolle komorbider Erkrankungen bei der Behandlung der MRONJ von oberster Priorität.(116) Geschwächte PatientInnen, zum Beispiel solche mit einer zunehmenden Belastung durch Fernmetastasen, sprechen möglicherweise nicht gut auf die Resektion des osteonekrotischen Kiefers an und können gelegentlich Rezidive entwickeln.(116)

Eine aktive klinische und röntgenologische Überwachung ist bei der nichtoperativen Behandlung von PatientInnen mit Erkrankungen im Stadium 1, 2 und 3 von entscheidender Bedeutung, um Anzeichen für ein Fortschreiten der Erkrankung zu erkennen. Für PatientInnen, bei denen eine nichtoperative Therapie versagt, wird ein frühzeitiger operativer Eingriff empfohlen.(51) Bei PatientInnen mit einer fortschreitenden klinischen oder röntgenologischen Erkrankung oder einer weiter fortgeschrittenen MRONJ sollte eine chirurgische Resektion der MRONJ durchgeführt werden.(51) Bei der MRONJ handelt es sich um ein komplexes Geschehen, bei welcher eine operative Therapie zeitnah durchgeführt

werden kann.(116, 117) Obwohl operative und nicht-operative Therapien umstritten sind, konnte die operative Behandlung von PatientInnen zeigen, dass die Schleimhautbedeckung erhalten bleibt, die Lebensqualität verbessert wird und die antiresorptive Therapie in allen Stadien der MRONJ zügig wieder aufgenommen beziehungsweise normal weitergeführt werden kann.(118)

4 Methodik

Die Literatursuche erfolgte im Zeitraum von Dezember 2022 bis Juli 2023. Zur Erhebung relevanter Literatur wurde die Pubmed-Onlinedatenbank verwendet. Pubmed wurde auf Artikel, die im Zeitraum von 01.01.2010 bis einschließlich 01.06.2023 veröffentlicht wurden, durchsucht. Zusätzlich zur elektronischen Suche wurden einige Referenzlisten manuell durchsucht.

Folgende Schlüsselwörter wurden in der Suche verwendet: („MRONJ AND bacteria“), („MRONJ AND microbiome“), („MRONJ AND Microbiota“), („medication-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria“), („medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome“), („medication-related osteonecrosis of the jaw AND microbiota“), („bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND bacteria“), („bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND microbiome“), („bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw AND microbiota“), („BRONJ AND bacteria“), („BRONJ AND microbiome“), („BRONJ AND Microbiota“).Bei Pudmed wurde unmittelbar bei der Eingabe der Suchbegriffe auf den Zeitraum geachtet.

Unter oben genannten Suchbegriffen wurden 277 Artikel gefunden.

Ausgeschlossen wurden Reviews, Metaanalysen und Case Reports. Eingeschlossen wurden beobachtende Studien und klinische Studien, die die Bakterienkolonisation von aus MRONJ-Patienten entnommenen Proben untersucht haben.

Zusätzlich wurden Artikel ausgeschlossen, die Proben auf einzelne Bakterienspezies und im Rahmen von Tierstudien Proben untersucht haben.

Von den 277 elektronisch durch die Suchbegriffe gefilterte Artikel wurden 177 Duplikate ausgeschlossen, somit blieben 110 Artikel übrig.

Von den 110 übrig gebliebenen Artikel wurden 12 Reviews, 78 aufgrund ungeeigneter Titel/Thematik, 3 aufgrund des Themenbereichs Osteoradionekrose, 2 Case-reports, 5 Tierstudien und 3 aufgrund spezifischer Artikel zu Actinomyces ausgeschlossen. Somit

blieben 7 Publikationen übrig, von welchen 2 weitere nach Volltextüberprüfung ausgeschlossen wurden. Somit wurden 5 Artikel in diese Arbeit eingeschlossen.

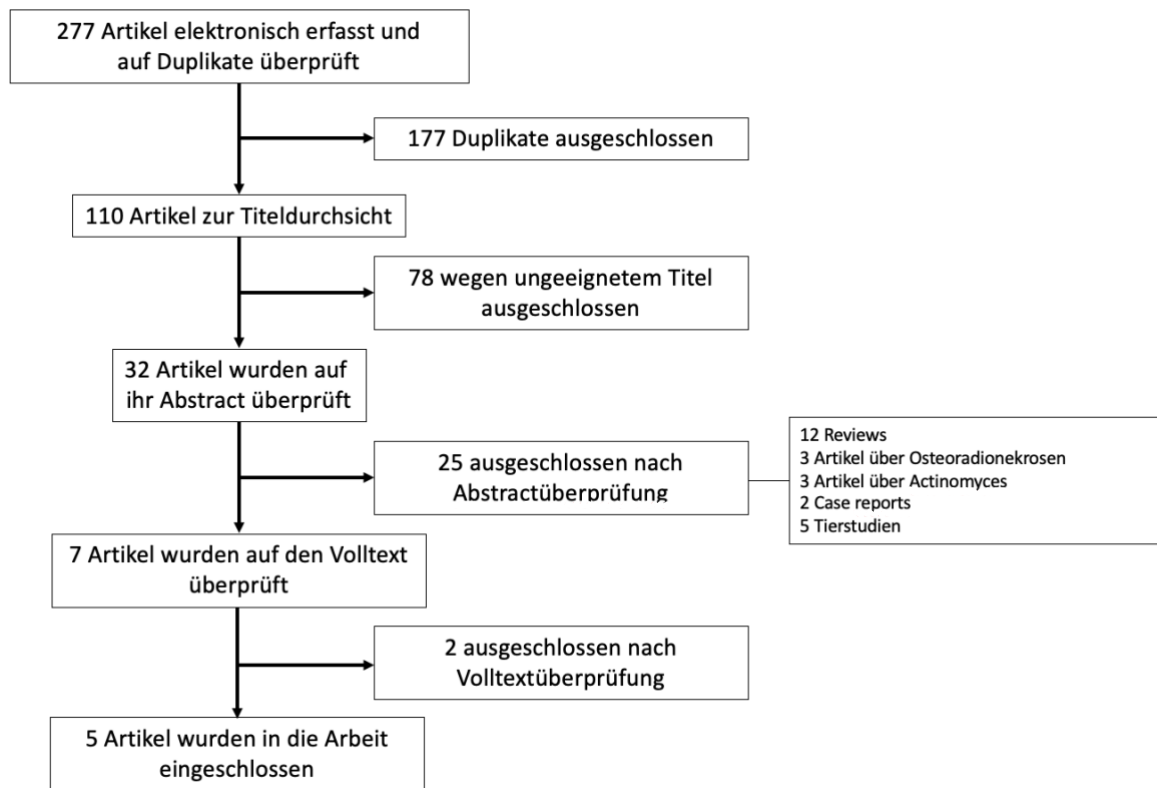


Abbildung 6: Literatur Auswahlverfahren

5 Einfluss des oralen Mikrobioms auf die Antiresorptiva-assoziierte Kiefernekrose

5.1 Aufbau und Funktion des oralen Mikrobioms

In den vergangenen Dekaden haben genetische Methoden Einsicht in Zusammensetzung und funktionale Kapazität des oralen Mikrobioms gewährt, die Grundlagen der Pathogenese von Karies und Parodontalerkrankungen aufgedeckt, sowie darüber hinaus ein Verständnis für die komplexe Dynamik und die Faktoren der verschiedenen Organismen im oralen Mikrobiom ermöglicht.(119)

Nach dem Kolon ist das orale Mikrobiom das zweitvielfältigste Mikrobiom im menschlichen Wirt, bestehend aus derzeit über 700 identifizierten Bakterienarten, Pilzen, Viren, Archaeen und Protozoen.(120, 121)

Damit hat sich im Laufe der Zeit ein integrierter Ansatz zur Erforschung oraler Erkrankungen aus einer polymikrobiellen Perspektive herauskristallisiert. Hierbei wird die Pathophysiologie diverser Erkrankungen nicht ausschließlich den Hauptpathogenen zugeschrieben, sondern vielmehr Netzwerken von koexistierenden Mikroorganismen, deren kollektive Aktivitäten zur Pathogenese beitragen.(122, 123)

Die Analyse der Unterschiede zwischen der oralen Mikrobiota im Zustand der Gesundheit und während pathologischer Zustände, einschließlich der jeweiligen Häufigkeiten und funktionellen Aktivitäten der Mikroorganismen, gewinnt in der Mundgesundheitsforschung zunehmend an Bedeutung. Dabei liegt ein besonderes Augenmerk auf genetischen Faktoren und ökologischem Druck, die diese Veränderungen beeinflussen.(122, 124)

Das mikrobielle Ökosystem in der Mundhöhle wird fortlaufend exogenen Fremdstoffen ausgesetzt. Diese Gegebenheiten spielen eine entscheidende Rolle für die Etablierung von Mikroorganismen und ihre Anpassungsfähigkeit an diese Umgebung, was zu vielfältigen Wechselwirkungen zwischen Mikrobe und Wirt führt.(124) Die Struktur des oralen Mikrobioms unterliegt im Verlauf des Lebens diversen Einflüssen, einschließlich genetischer Faktoren des Wirts, mütterlicher Übertragung sowie externer Umweltfaktoren wie Ernährungsgewohnheiten, Mundhygiene, Medikamenteneinfluss, Stress und systemischen Faktoren.(125)

Das Human Microbiome Project des National Institute of Health erforschte die mikrobielle Zusammensetzung an 9 intraoralen Bereichen bei 200 TeilnehmerInnen, darunter sowohl die relative Häufigkeit als auch repräsentative Mikroben. Es wurde festgestellt, dass das orale Mikrobiom im Vergleich zu anderen besiedelten Körperstellen, wie dem Darm und der Haut, den umfangreichsten Grundbestand an Mikroben aufweist, der auch bei nicht verwandten Personen vorkommt.(126, 127) Im gesunden Zustand besteht die orale Mikrobiom hauptsächlich aus fakultativ anaeroben gram-positiven Bakterien.(128) Außerdem stellte sich heraus, dass *Streptokokken*, insbesondere *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis* und *Streptococcus peroris*, die dominante Gattung an den intraoralen Lokalisationen ist, mit einer Häufigkeit von über 10 % in mehr als 75 % der Proben. Zu den weiteren Mikroben mit einer Häufigkeit von über 1 % in mindestens 80 % der Proben an einem oder mehreren Lokalisationen gehörten Mitglieder der Familie *Pasteurellaceae*, Gattungen wie *Gemella*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Neisseria*, *Capnocytophaga*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, sowie Mitglieder der Ordnungen *Lactobacillales* und *Lachnospiraceae*.(129) Die genaue Zusammensetzung des oralen Mikrobioms bei

individuellen Personen zu bestimmen, gestaltet sich jedoch als anspruchsvoll. Das ist wie bereits erwähnt der Tatsache geschuldet, dass die Mundhöhle ein offenes System darstellt, das regelmäßig Nahrung, Getränken, exogenen Mikroben, Sauerstoff und menschlichem Kontakt ausgesetzt ist.(122)

Das Mikrobiom in der Mundhöhle spielt eine wesentliche Rolle bei der Aufrechterhaltung der Mundgesundheit. Ein Mechanismus, welcher enorm zur Mundgesundheit beiträgt, besteht darin, eine Resistenz gegen die Besiedlung durch pathogene Mikroorganismen aufrechtzuerhalten. Beispielsweise konkurrieren die angesiedelten, die Mundgesundheit fördernden Bakterienspezies mit pathogenen Spezies um Besiedlungssubstrate, wodurch nur begrenzte Möglichkeiten für die Besiedelung exogener Pathogene geboten werden.(130)

Bestimmte orale Bakterienspezies, darunter *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces naeslundii* und *Haemophilus parainfluenzae*, zeigen nachweislich einen direkten Antagonismus gegenüber oralen Pathogenen. Insbesondere wird die Fähigkeit von *Porphyromonas gingivalis*, sich an ein Gewebe zu binden, signifikant reduziert.(131, 132)

Einige symbiotische Organismen haben die Fähigkeit, die von kariesassoziierten Bakterien erzeugte Säure zu neutralisieren, indem sie den pH-Wert des Speichels mittels der Produktion von alkalischen Stoffwechselprodukten erhöhen.(133) Nach der Zufuhr von Glukose und dem damit verbundenen Anstieg von Säure werden zelluläre Prozesse aktiviert, die alkalische Verbindungen produzieren, darunter Ornithin, Citrullin, Glutamat, Serin, Threonin und Harnstoff.(134) Organismen wie *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis* und *Lactobacillus casei* sind beispielhaft an diesem Prozess zur Wiederherstellung der pH-Homöostase beteiligt.(135)

In umgekehrter Richtung werden orale Erkrankungen durch eine Dysbiose des oralen Mikrobioms induziert.(136) Eine solche Dysbiose wird durch verschiedene Faktoren ausgelöst, darunter die Ernährung, Entzündungsreaktionen, systemische Erkrankungen und Gewohnheiten wie Tabakrauchen und Alkoholkonsum.(137, 138) Karies wird beispielsweise auf eine hohe Kohlenhydratzufuhr zurückgeführt, die zu einer erhöhten Säureproduktion durch Mikroben (die die Pufferfähigkeit des Speichels verringern), einer Verringerung des Speichel-pH-Werts, einer erhöhten Produktion von Biofilm-Exopolysaccharid-Matrix (die Säuren auf der Zahnschmelzoberfläche einschließt und konzentriert) und der Induktion positiver Rückkopplungsschleifen führt. Dadurch wird das

Wachstum von säurebildenden und säureerzeugenden Spezies, einschließlich *Streptococcus mutans* und *Lactobacillus*-Spezies, gefördert.(122, 139)

Auch Parodontalerkrankungen werden durch eine Dysbiose der subgingivalen mikrobiellen Gemeinschaften verursacht, welche sich negativ auf das Immunsystem des Wirts auswirken können. Infolgedessen kann eine ungebremste Entzündung im Zahnfleisch und Parodontalgewebe hervorgerufen und aufrechterhalten werden, sodass eine Gewebeerholung verhindert wird.(140) Gewisse Spezies im oralen Biofilm sind als ätiologische Faktoren bei der Entwicklung von Parodontalerkrankungen anerkannt: Zu diesen Spezies gehören zum Beispiel die Bakterien des Roten Komplexes – *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* und *Porphyromonas gingivalis* - die die Umstrukturierung der Mikrobiota induzieren und Entzündungen fördern durch Sekretion von Proteasen, Aktivierung von toll-like receptors, Adhäsion mittels Fimbrien, Hämolyse auslösende Hämoglutinine, Invasion von Epithelzellen, Toxinproduktion, Bewegung mit Flagellen und weiteren Mechanismen(141) Entzündliche und immunvermittelte Prozesse, die direkt von den Mikroben in der lokalen Plaque-Umgebung ausgelöst werden, sind für die Entwicklung von Gingivitis und Parodontalerkrankungen verantwortlich.(142)

Während die Entzündungsmerkmale der Gingivitis meist reversibel sind, führt die Parodontitis zu einer langfristigen, irreversiblen Schädigung des parodontalen Gewebes und des Alveolarknochens. Diese kann sich in einer Ablösung des Gewebes vom Zahn, also der Bildung einer Tasche manifestieren, in welcher sich pathogene Bakterien weiter vermehren und in fortgeschrittenen Krankheitsstadien schließlich in Zahnverlust enden können.(143)

Orale Infektionen haben auch Auswirkungen auf systemische Krankheiten. Drei Hauptmechanismen verbinden orale Infektionen mit systemischen Pathologien, darunter die Ausbreitung von Infektionen durch Bakteriämie, die Zirkulation von mikrobiellen Toxinen und systemische Entzündungen durch ungünstige immunologische Reaktionen auf orale Mikroben.(144) Der täglich produzierte Speichel enthält eine große Anzahl von Bakterien, die häufig in den Darm übertragen werden.(144) Entzündete parodontale Gewebe setzen proinflammatorische Mediatoren wie zum Beispiel Zytokine und Proteasen frei, die systemische Effekte auslösen und eine enge Verbindung zur kardiovaskulären Erkrankung zeigen. Weiters erhöhen parodontale Krankheiten die Anfälligkeit für rheumatoide Arthritis und neurodegenerative Erkrankungen, wie Alzheimer, durch komplexe immunologische Wechselwirkungen.(144)

Es wurde die Human Oral Microbiome Database (HOMD) (www.homd.org) auf der Grundlage von 2 Studien (145, 146) und einer bisher laut HOMD unveröffentlichten Studie von Dewhirst F. et al. eingerichtet, um durch die Analyse des gesamten Mikrobioms ein tiefgreifendes funktionelles Verständnis der oralen Gemeinschaft zu ermöglichen.(146)

Die HOMD hat in ihren Studien die 16S-rRNA-Amplicon-Sequenzierungstechnik verwendet.

Bakteriengattungen und -spezies an verschiedenen oralen Stellen nach der HOMD sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

Bakterienspezies in subgingivaler Plaque	%	Bakterienspezies in supragingivaler Plaque	%	Bakterienspezies auf keratinisierter Gingiva	%	Bakterienspezies in buccaler Mucosa	%
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	9,23	<i>Streptococcus oralis</i>	6,36	<i>Streptococcus oralis</i>	15	<i>Streptococcus oralis</i>	17
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	4,58	<i>Corynebacterium matruchotii</i>	5,84	<i>Streptococcus mitis</i>	8,99	<i>Streptococcus mitis</i>	6,64
<i>Streptococcus oralis</i>	4,42	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	5,02	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	6,75	<i>Streptococcus infantis</i>	6,39
<i>Streptococcus sanguinis</i>	2,75	<i>Streptococcus sanguinis</i>	4,08	<i>Streptococcus infantis</i>	5,83	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	5,96
<i>Rothia aeria</i>	2,42	<i>Lautropia mirabilis</i>	3,05	<i>Streptococcus sp._HMT_423</i>	4,36	<i>Streptococcus sp._HMT_423</i>	4,23
<i>Rothia dentocariosa</i>	2,36	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	3,04	<i>Alloprevotella sp._HMT_473</i>	4,08	<i>Gemella haemolysans</i>	4,17
<i>Lautropia mirabilis</i>	2,28	<i>Rothia aeria</i>	2,95	<i>Streptococcus salivarius</i>	3,94	<i>Streptococcus salivarius</i>	3,4
<i>Veillonella parvula</i>	2,1	<i>Rothia dentocariosa</i>	2,35	<i>Streptococcus sp._HMT_074</i>	3,1	<i>Streptococcus sp._HMT_074</i>	3,32
<i>Prevotella oris</i>	1,96	<i>Veillonella parvuta</i>	2,23	<i>Gemella haemolysans</i>	2,97	<i>Streptococcus cristatus</i>	2,98
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,87	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	2	<i>Streptococcus cristatus</i>	2,68	<i>Streptococcus australis</i>	2,18
Andere	66,03	Andere	63,08	Andere	42,3	Andere	43,8

Tabelle 1: Vorkommen von Bakterienspezies an verschiedenen Stellen der Mundhöhle nach der HOMD (147) Der hohe Anteil von anderen Bakterienspezies kommt dadurch zustande, da eine sehr große Zahl an verschiedenen Bakterienspezies vorzufinden ist und hier nur die jeweils 10 häufigsten Spezies pro Lokalisation aufgezeigt werden

Bakteriengattung in subgingivaler Plaque	%	Bakteriengattung in supragingivaler Plaque	%	Bakteriengattung auf keratinisierter Gingiva	%	Bakteriengattung auf buccaler Mucosa	%
Streptococcus	14,84	Streptococcus	19,77	Streptococcus	53,35	Streptococcus	56,03
Fusobacterium	12	Capnocytophaga	8,88	Haemophilus	11,9	Haemophilus	7,14
Prevotella	7,34	Corynebacterium	8,57	Veillonella	4,59	Gemella	6,13
Capnocytophaga	7,01	Actinomyces	7,68	Gemella	3,93	Veillonella	3,63
Actinomyces	6,67	Fusobacterium	6,61	Alloprevotella	3,16	Neisseria	3,3
Corynebacterium	6,17	Leptotrichia	5,7	Porphyromonas	3,09	Rothia	2,96
Rothia	4,67	Rothia	5,59	Granulicatella	2,64	Porphyromonas	2,74
Neisseria	4,17	Neisseria	5,46	Neisseria	2,44	Prevotella	2,74
Veillonella	3,84	Veillonella	4,02	Fusobacterium	2,01	Fusobacterium	2,32
Leptotrichia	3,47	Prevotella	2,84	Prevotella	1,41	Actinomyces	1,48
Andere	29,82	Andere	24,88	Andere	11,48	Andere	11,53

Tabelle 2: Vorkommen der Bakteriengattungen an den verschiedenen Lokalisationen der Mundhöhle nach der HOMD (147)

5.2 Die potentielle Rolle des Mikrobioms bei MRONJ

5.2.1 Aufbau des Mikrobioms bei MRONJ

In den letzten Jahren wurde zunehmend erkannt, dass die Kolonisation des Knochens mit Bakterien und möglicherweise Pilzen eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der MRONJ spielt.(6)

Gesundes Knochengewebe im Ober- und Unterkiefer scheint gegen mikrobielle Besiedlung resistent zu sein, selbst wenn es dem Mundmikrobiom ausgesetzt ist. Allerdings wird angenommen, dass antiresorptive oder antiangiogene Wirkstoffe in Kombination mit gewissen Bedingungen Bakterien und anderen Krankheitserregern, die die Entwicklung von MRONJ vermutlich auslösen könnten, den Zugang zum anfälligen Knochen ermöglichen. Zu diesen Bedingungen gehören die zuvor beschriebenen zahnärztliche Eingriffe, Parodontalerkrankungen, Traumata oder schlechtsitzende prothetische Vorrichtungen. Konsistent mit dieser Hypothese manifestiert sich MRONJ hauptsächlich in Körperregionen, die einer mikrobiellen Besiedelung wie der Mundhöhle ausgesetzt sind, während sie in anderen aseptischen Regionen des Skelettsystems selten vorkommt.(6)

Obwohl die genauen Mechanismen noch aufgeklärt werden müssen, existieren mehrere Hypothesen zu den Mechanismen, durch die eine bakterielle Besiedlung oder Infektion eine Osteonekrose auslösen könnte.

Dazu gehören die Freisetzung von Säuren und Proteasen, die Hemmung der Knochenmatrixsynthese oder die Stimulierung des Knochenabbaus.(6, 7)

Es wird angenommen, dass gram-negative Bakterien eine prägende Rolle in diesem Prozess spielen, indem sie toxische Produkte wie Lipopolysaccharide produzieren, die direkt die Differenzierung und Aktivität von Osteoklasten beeinflussen.(6) Lipopolysaccharide sind Verbindungen mit Zucker- und Fettbestandteilen und sind in der Zellwand von gram-negativen Bakterien vorhanden. Zerfallen diese, werden diese Lipopolysaccharide frei und wirken anschließend als Endotoxine mit anschließender Induktion von zum Beispiel Interleukin- und Tumornekrosefaktor-Sekretion.

	Knochen	Weichgewebe
Anaerob gram -	40 (32,8%)	41 (34,7%)
fakultativ anaerob gram +	34 (27,9%)	30 (25,4%)
fakultativ anaerob gram -	27 (22,1%)	21 (17,8%)
anaerob gram +	17 (13,9%)	20 (16,9%)
aerob gram +	2 (1,6%)	5 (4,2%)
aerob gram -	1 (0,8%)	1 (0,8%)
fakultativ aerob gram +	1 (0,8%)	
insgesamt	122 (100%)	118 (100%)

Tabelle 3: Einteilung der pathogenen Keime in Infektionen von Patienten mit MRONJ nach der Studie von Zirk M. et al (148)

In den letzten Jahrzehnten deuteten Ergebnisse in Studien immer mehr darauf hin, dass die Mehrheit der Mikroben bei den von MRONJ betroffenen PatientInnen Anaerobier sind. Das macht sie zu idealen Organismen für das Überleben in sauerstoffarmen Bereichen nekrotischer Knochen macht, die nicht ausreichend durchblutet sind – und ebendas ist ein Kennzeichen der MRONJ.(149)

Aufgrund der vielfältigen Umstände im oralen Mikrobiom, sowohl unter gesunden Umständen als auch in pathologischem Milieu, die einen Einfluss auf das jeweilige Mikrobiom haben, ist es sehr schwer, einen ganz klaren Wechsel und immer wiederkehrende Muster im oralen Mikrobiom bei PatientInnen mit MRONJ zu erkennen.

Um dennoch Veränderungen innerhalb des Mikrobioms darzustellen, werden hierbei im Folgenden 5 Studien vorgestellt, die die bakterielle Besiedelung von MRONJ beschreiben:

In der retrospektiven Studie nach Ewald F. et al.(150) wurden 98 PatientInnen mit MRONJ Stadium 2 und 3 inkludiert. 55 PatientInnen erhielten Bisphosphonate, 33 Denosumab und 5 erhielten beides. Die restlichen PatientInnen hatten keine antiresorptive Therapie in der Anamnese, jedoch Chemotherapie mit antiangiogenen Präparaten.(150) Die meisten PatientInnen hatten als Grunderkrankung, weswegen sie die antiresorptive Therapie erhielten, Brust- oder Prostatakrebs beziehungsweise ein Multiples Myelom (65,2%).(150) Die intraoperativ entnommenen Proben wurden auf verschiedenen Nährmedien angezüchtet und mit Massenspektroskopie detektiert.(150)

Entsprechend Tabelle 4 wurden in der Studie nach Ewald F. et al.(150) am häufigsten *Streptococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Lactobacillus spp.* und *koagulase-negative Staphylococcus*-Gattungen nachgewiesen, die etwa 60 % aller Isolate ausmachten. Dabei waren insgesamt 63 % aller nachgewiesenen Bakterienarten gram-positiv. Zusätzlich wurden in 65 % aller Knochenproben jedoch mindestens ein gram-negatives Isolat identifiziert, d. h. in 52 % waren sowohl gram-positive als auch gram-negative Bakterien vorhanden, und in 13 % nur gram-negative Isolate.(150)

Ebenfalls Tabelle 4 entnehmbar sind in der Studie nach Zirk M. et al.(148) am häufigsten *Streptococcus spp.*, *Prevotella sp.*, *Actinomyces spp.*, *Veillonella spp.* und *Parvimonas spp.* nachgewiesen worden, die zusammen ebenfalls über 60% aller Isolate ausmachten.(148) Dabei waren insgesamt 44,2% aller Bakterienarten gram-positiv. 46,7% aller detektierten Bakterienarten sind anaerob, weitere 50% der Bakterienarten sind fakultativ anaerob entsprechend der Studie.(148) Die Studie nach Zirk M. et al. ist eine retrospektive Kohortenstudie mit 71 MRONJ-PatientInnen Stadium 2 und 3, denen Knochensequester operativ entnommen wurde. Bei den meisten PatientInnen dieser Studie liegt Brust- oder Prostatakrebs (52,1%) als Grunderkrankung vor, weshalb diese eine antiresorptive Therapie, meist mit Zoledronat, erhalten haben. Mittels Kulturen und MALDI-TOF-Massenspektroskopie (matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight) wurden Bakterienarten identifiziert.(148)

Bakteriengattung nach Ewald, F. et al.	%	Bakteriengattung nach Zirk, M. et al.	%
Streptococcus	29,9	Streptococcus	19,1
Neisseria	6,3	Prevotella	16,8
Lactobacillus	6	Actinomyces	9,9
koagulase-negative Staphylococcus	5,3	Veillonella	9,2
Enterobacter	5,3	Parvimonas	7,6
Actinomyces	4,2	Klebsiella	4,6
Haemophilus parainfluencae	3,9	E. coli	3,1
Rothia	3,5	Bacteroides sp	3,1
Veionella	2,8	Capnocytophaga	3,1
Prevotella	2,8	Eikenella	2,3
E. coli	2,8	Bifidobacterium dentium	2,3
Andere	27,2	Andere	18,9

Tabelle 4: Bakterielle Kolonisierung von nekrotischem Knochen nach den Studien von Zirk, M. et al.(148) und Ewald, F. et al.(150)

In einer anderen Studie nach Hallmer F. et al.(151) wurden acht dominierende taxonomische Gruppen auf Gattungsebene, sowohl in nekrotischen als auch in visuell gesunden Knochenproben, identifiziert: *Porphyromonas*, *Lactobacillus*, *Tannerella*, *Prevotella*, *Actinomyces*, *Treponema*, *Streptococcus* und *Fusobacterium*.(151)

Die Studie hat 18 MRONJ-PatientInnen eingeschlossen, 10 davon waren Osteoporose- und 8 KrebspatientInnen, denen schließlich operativ nekrotischer Knochen entfernt wurde. Die Bakteriendiversität wurden schließlich per 16S-rRNA-Sequenzierung festgestellt.(151)

Hierbei wurde auch beim Vergleich nekrotischer Proben von PatientInnen mit Osteoporose, die mit BP's behandelt wurden, in dieser Gruppe ein höherer Gehalt an als parodontal bekannten Bakterien wie zum Beispiel *Fusobakterien*, *Tanerella* und *Spirochäten* festgestellt als in der mit Denosumab (Xgeva) behandelten Gruppe. Auch in dieser Studie zeigte sich, dass hauptsächlich anaerobe Bakterien nekrotischen Knochen besiedeln.(151)

In der Studie nach Wei X. et al.(98), in der es um die Bakterienvielfalt in MRONJ-Patientinnen ging, die aufgrund einer Krebserkrankung mit Bisphosphonaten behandelt wurden, wurden Proben von 12 PatientInnen operativ entnommen und mittels 16S-rRNA-Sequenzierung untersucht.(98) Hier waren die 3 meistvorgefundenen Bakteriengattungen *Streptococcus* (29%), *Eubacterium* (9%) und *Pseudoramibacter* (8%).(98) Während in dieser Studie ebenfalls *Porphyromonas* und *Prevotella* nachgewiesen werden konnte, wurde *Actinomyces* vergleichsweise sehr gering nachgewiesen.(98) Zu berücksichtigen ist jedoch auch die Limitation dieser Studie aufgrund der geringen Probenanzahl von 12, die die Aussagekraft dieser Studie einschränkt.

Nach Ji X. et al.(152) machten *Parvimonas* und *Streptococcus* in beiden MRONJ-Gruppen einen größeren Anteil an der Bakteriengemeinschaft aus.(152) In dieser Studie wurden 20 PatientInnen inkludiert mit Bisphosphonat-Therapie und auch hier wurden jeweils Proben operativ entnommen und mittels 16S-rRNA-Sequenzierung untersucht. Die Gattungen *Eubacterium* (5,46 %) und *Pseudoramibacter* (3,83 %) waren in den Proben ohne Antibiotika häufiger vertreten, während *Lactobacillus* (8,14 %), *Peptostreptococcus* (6,44 %), *Mogibacterium* (5,08 %), *Solobacterium* (4,41 %) und *Dialister* (3,73 %) in den Proben mit Antibiotika (Tetrazykline, Doxycyclin, Ciprofloxacin oder Amoxicillin für 2 Wochen) vorkamen.(152) *Veillonella* (2,03 %) wurde nur in der mit Antibiotika behandelten Gruppe und *Gemella* (2,19 %) nur in der Gruppe ohne Antibiotika nachgewiesen. Auf der Ebene der Spezies zeigten sich *Streptococcus intermedius*, *Lactobacillus gasseri*, *Mogibacterium*

timidum und *Solobacterium moorei* vor allem bei PatientInnen, die mit Antibiotika behandelt wurden, während *Parvimonas micra*, *Streptococcus anginosus* und *Atopobium rimae* bei PatientInnen auftraten, die nicht mit Antibiotika behandelt wurden.(152) Es wurde eine hohe Korrelation zwischen *Veillonella* und *Laktobacillus*, *Streptococcus mutans* und *Actinomyces spp.* festgestellt, die Kohlenhydrate zu Laktat verstoffwechseln, so dass die *Veillonella*-Konzentrationen zunahmen.(152)

Zusammengefasst wurden in den 5 relevanten Artikel insgesamt 219 MRONJ-Patienten Knochensequester entfernt und diese dann mittels Massenspektroskopie oder 16S-rRNA-Sequenzierung untersucht.

Die Ergebnisse der einzelnen Arbeiten sind sehr unterschiedlich sowohl in der Häufigkeit der unterschiedlichen Arten als auch in der Häufigkeit der Bakteriengattungen. Jedoch ist gerade in den MRONJ-Läsionen ein Wechsel zu anaeroben Bakterien zu erkennen, was gut zu dem sauerstoffarmen Milieu in nekrotischem Knochen passt. Auch sehr viele gram-negative Bakteriengattungen sind vorzufinden. Der tatsächliche Einfluss des Mikrobioms bei und innerhalb MRONJ-Läsionen wird aktuell hauptsächlich anhand der Pathogenität und Virulenz der einzelnen Bakteriengattungen und -arten abgeschätzt, da das jeweilige Mikrobiom aufgrund vieler einflussnehmender Faktoren individuell sehr unterschiedlich sein kann.

Studie	PatientInnenzahl	PatientInnenart	Sequenzierungsmethode	Medikamente
Ewald F. et al. (2021)	98	maligne Erkrankungen wie Brust-, Prostatakrebs oder Multiples Myelom	Massenspektroskopie	55 Bisphosphonate, 33 Denosumab, der Rest antiangiogene Präparate
Zirk M. et al. (2019)	71	52,1% Brust-, Prostatakrebs, Rest Osteoporose und auch Multiples Myelom	Massenspektroskopie	8 Denosumab, 63 Bisphosphonate
Hallmer F. et al. (2017)	18	10 Osteoporose, 8 Krebserkrankung	16S-rRNA-Sequenzierung	9 Bisphosphonate, 6 Denosumab, 3 beides
Wei X. et al.	12	alle maligne Erkrankungen	16S-rRNA-Sequenzierung	Bisphosphonate
Ji X. et al. (2012)	20	6 Osteoporose, 14 maligne Erkrankungen wie Brust-, Nierenkrebs, Multiples Myelom	16S-rRNA-Sequenzierung	Bisphosphonate

Tabelle 5: Übersicht der Artikel, die in der Diplomarbeit berücksichtigt wurden.(98, 148, 150-152) Alle Studien haben gemeinsam, dass MRONJ-PatientInnen operativ Proben entnommen und diese anschließend auf Bakterien untersucht worden

5.2.2 Mykobiom

Das Mykobiom bezeichnet die Gesamtheit aller besiedelnden, kommensalen oder pathogenen Pilzarten eines Organismus oder ökologischen Lebensraums. Eine Studie an der Mundhöhle von 20 gesunden Personen zeigte, dass das orale Mykobiom 85 Gattungen umfasst - 74 kultivierbare und 11 nicht kultivierbare. *Candida*-Arten waren die am häufigsten gefundenen Gattungen und wurden in 75 % aller StudienteilnehmerInnen isoliert, gefolgt von *Cladosporium* (65 %), *Aureobasidium*, *Saccharomycetales* (jeweils 50 %), *Aspergillus* (35 %), *Fusarium* (30 %) und *Cryptococcus* (20 %). Bei den übrigen in den Mundspülproben nachgewiesenen Pilzen handelt es sich um Organismen, denen man keinen genauen Ursprung zuordnen konnte.(153) Neuere Untersuchungen offenbarten sogar über 100 kultivierbare Pilzarten allein in der Mundhöhle. Hierbei waren die Gattungen *Candida* (34,3%), gefolgt von *Fusarium* (9,7%), *Rhodotorula* (7,5%), *Alternaria* (5,0%) und *Cladosporium* (4,1%) am stärksten vertreten. Von allen Gattungen kam *Candida* in 65% aller 304 Proben vor und stellt damit eine Kerngattung der gesunden oralen Pilzmikrobiota dar.(154) Aktuelle Forschungsfelder fokussieren sich auf *Candida albicans*, ein häufig vorkommender Pilz in der Mundschleimhaut, der jedoch schnell pathogene Eigenschaften entwickeln kann.(155) Dazu zählen invasives Fadenwachstum in einer hypoxischen Umgebung und die Fähigkeit, unter minimalem Nährstoffangebot zu gedeihen, indem alternative Stoffwechselwege aktiviert werden.(156, 157)

Studien an Rattenmodellen zeigen, dass die Kombination von *Streptococcus mutans* und *Candida albicans* die Entwicklung von Zahnkaries verstärken kann.(158) Diese Interaktionen deuten darauf hin, dass *Candida albicans* als Brücke für Bakterien fungieren und ihre Anhaftung an Schleimhautoberflächen ermöglichen könnte.(159)

Umgekehrt hat sich gezeigt, dass *Streptococcus salivarius* die Anhaftung von *Candida albicans* an Schleimhautoberflächen verhindert, was auf eine mögliche Verwendung als Probiotikum hindeutet und trägt somit zur Aufrechterhaltung eines gesunden Mundschleimhautmilieus bei.(160)

Wenn *Candida albicans* in pathogenen Mengen vorhanden ist, tritt sowohl eine frühe als auch eine späte Immunreaktion des Wirts auf. Es gibt eine frühe Erkennung durch Neutrophile, Makrophagen und dendritische Zellen, aber auch eine adaptive antimykotische Reaktion.(161) Die Kombination all dieser Faktoren verdeutlicht die Bedeutung des

Mykobioms und seine Relevanz innerhalb des oralen Mikrobioms, jedoch scheint die Rolle bei MRONJ ungewiss zu sein.

5.2.3 Pathogenität einiger in MRONJ gefundener Bakterien

Prevotella ist, ähnlich wie *Bacteroidetes*, dafür bekannt, die Wundheilung zu verzögern oder Gewebeschäden zu verursachen, und ist eine von mehreren Gattungen, die zur Entwicklung von Parodontitis beitragen können.(162, 163)

Prevotella initiiert die Aktivierung des Toll-like-Rezeptors 2, der in der Folge zur Polarisierung von Th17 und somit zu einer vermehrten Produktion von entzündlichen Zytokinen führen kann.(162) Eine Hochregulierung von *Prevotella* und eine Herabregulierung von *Lactobacillus*, einem wichtigen Mitglied der Gruppe der Milchsäurebakterien, wurden mit Osteomyelitis in Mäusen in Verbindung gebracht. Wenn *Prevotella* reduziert und *Lactobacillus* erhöht wird, wurde ein Schutz vor Osteomyelitis beobachtet.(164) Eine Fortsetzung der Forschung zu *Prevotella* könnte die klinische Bedeutung ihrer Beteiligung an oralen Erkrankungen aufzeigen.

Auch *Porphyromonas gingivalis* kann ein hohes Maß an Knochenresorption und damit verbundene destruktive Parodontitis verursachen. (165) Außerdem war die Adhäsion von *Pseudomonas* in PatientInnen, die mit Bisphosphonaten behandelt wurden, dreimal so hoch wie bei den Kontrollen.(166) Dies bedeutet, dass mit Bisphosphonaten beladene Knochen anfälliger für Infektionen sind, und zwar nicht nur wegen der Unterdrückung von Abwehrmechanismen, insbesondere der Osteoklastenaktivität und des Knochenumbaus, sondern auch, weil mit Bisphosphonaten beladene Knochen vermutlich durch elektrostatische Wechselwirkungen mit der NH₃⁺-Gruppe, wie sie zum Beispiel bei Pamidronat vorzufinden ist, anfälliger für bakterielle Besiedlung sind.(166)

Veillonella-Arten, frühe Besiedler des oralen Biofilms, sind in der oralen Mikrobiota weit verbreitet. Orale *Veillonella* werden mit oralen Erkrankungen in Verbindung gebracht.(167) Sie tragen zur Anhaftung von *Streptococcus mutans* bei und verbrauchen das von den *Streptokokken* erzeugte Laktat, das als wichtigste Kohlenstoff- und Energiequelle für *Veillonella* dient. *Veillonella*-Arten spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Entwicklung von Parodontalerkrankungen, indem sie *Porphyromonas gingivalis*

Anhaftungsstellen bieten und Immunreaktionen verstärken.(167) Auch die Produktion von Lipopolysaccharid und H₂S steht im Zusammenhang mit anderen oralen Erkrankungen. Es wurde auch gezeigt, dass *Veillonella* Häm produzieren kann, was die bevorzugte Eisenquelle des Parodontopathogens *Porphyromonas gingivalis* darstellt.(168) Es wurden mehrere Studien über die Beziehung zwischen *Veillonella* und oralen Erkrankungen, sowie über die Interaktion zwischen *Veillonella* und anderen pathologischen Mikroorganismen durchgeführt, wobei auf molekularer Ebene nur begrenzte Erkenntnisse vorliegen.(167)

Fusobacterium, ein gram-negatives Bakterium, bildet Kolonien in supragingivaler und subgingivaler Zahnplaque und fungiert als Brücke zwischen frühen und späten mikrobiellen Kolonien in der Pathogenese der Parodontalerkrankung.(169) Die Ergebnisse mehrerer Studien konnten im Einklang miteinander stehend nachweisen, dass die Inokulation von *Fusobacterium nucleatum* in eine mit Bisphosphonat behandelte Extraktionsstelle bei Mäusen Osteonekrosen verschlimmerte.(170, 171)

Leptotrichia buccalis ist ein fakultativ anaerobes, gram-negatives, stäbchenförmiges Bakterium, das natürlicher Bestandteil des Mundmikrobioms ist und zur Familie *Leptotrichiaceae* im Phylum *Fusobakterien* gehört.(172) Es fermentiert Kohlenhydrate und produziert Milchsäure als Endprodukt. Untersuchungen deuten darauf hin, dass *Leptotrichia buccalis*, isoliert von PatientInnen mit Gingivitis, eine Rolle bei der Regulierung der Expression von entzündungsfördernden und entzündungshemmenden Zytokinen wie IL-1 β , IL-6, IL-8 und IL-10 spielen kann.(172, 173) Obwohl eine direkte Beteiligung von *Leptotrichia* am Entzündungsprozess möglich ist, sind höchstwahrscheinlich mehrere Mikroorganismen beteiligt. Weitere Forschung ist erforderlich, um die spezifische Rolle einzelner Schlüsselbakterien zu klären.

Streptokokken werden häufig bei Parodontalerkrankungen und MRONJ-Läsionen gefunden(98, 151, 174, 175); zuckerabbauende Bakterien, einschließlich *Streptokokken*, schaffen ein saures Milieu(98), welches die Wundheilung behindern kann. Darüber hinaus ist bekannt, dass *Streptokokken* mit anderen Mikroorganismen wie *Actinomyces spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Eikenella spp.*, *Prevotella spp.* und *Veillonella spp.* eine intra- und intergenerische Koaggregation eingehen, um erste Kolonien zu bilden.(97)

In der Studie nach Zirk M. et al.(148) wurden *Streptococcus spp.* am häufigsten in Knochenproben nachgewiesen. *Streptococcus spp.* und andere saccharolytische Bakterien

können ein saures Milieu fördern, welches das Wachstum von säurefördernden Bakterien weiter begünstigt und in weiterer Folge den Wundheilungsprozess stört.(98) Bei akuten und chronischen Wunden gelten beta-hämolysierende *Streptococcus spp.* neben *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* als Hauptursache für eine verzögerte Wundheilung.(176) Daher sollte eine Wundinfektion mit beta-hämolysierenden *Streptococcus spp.* bei der Behandlung von MRONJ-PatientInnen berücksichtigt werden.(148)

Unter den *Streptokokken* ist vor allem *Streptococcus mutans* hervorzuheben, ein gram-positives, fakultativ anaerobes Bakterium, das im oralen Mikrobiom vorkommt. Es ist in verschiedenen Bereichen der Mundhöhle zu finden, wobei das Bakterium am häufigsten in den Gruben und Fissuren der Zähne vorkommt.(177)

Auch *Actinomyces* wurden regelmäßig in MRONJ nachgewiesen, was darauf hinweist, dass die Infektion durch diese Bakterien eine mögliche Rolle bei der Entstehung dieser Krankheit spielen könnte.(178, 179) Diese fadenförmigen, gram-positiven und anaeroben Bakterien sind typischerweise in Zahnstein, Zahnfleischtaschen, kariösen Läsionen und Mundschleimhautoberflächen sowie in den oberen Atemwegen, im Magen-Darm-Trakt und in der Vagina zu finden. Es handelt sich um verbreitete saprophytische, also sich ausschließlich von toten, organischen Stoffen ernährende Bakterien mit geringer Pathogenität, die keine Krankheiten verursachen, solange sie sich nur auf der Schleimhautoberfläche befinden.(174) Unter bestimmten Bedingungen, wenn die Integrität der Schleimhautbarriere beeinträchtigt ist, können diese Bakterien jedoch pathogen werden und in das orale Gewebe oder den Kieferknochen eindringen. Dort können sie einen langanhaltenden chronischen Entzündungsprozess auslösen, der zu Gewebszerstörung und Osteolyse führt.(174)

Die Pathogenese der MRONJ ist somit häufig mit Aktinomykose verbunden.(180) Cerrato A. et al.(181) führten eine retrospektive Studie und eine Literaturübersicht durch, um über die Prävalenz von *Actinomyceten* bei MRONJ-Fällen zu berichten. Bei ihrer Analyse berücksichtigten sie antiresorptive und antiangiogene Therapien in der Literatur und ihre eigenen klinischen Proben. Insgesamt wurden 101 PatientInnen mit histologischer Bestätigung einer MRONJ vorgestellt, von denen bei einer beträchtlichen Anzahl von PatientInnen (n=83, 82,18 %) das Vorhandensein einer *Actinomyces*-Infektion nachgewiesen wurde.(181) Die AutorInnen kamen zu dem Schluss, dass die Einnahme von

antiresorptiven und antiangiogenen Medikamenten die physiologischen Heilungsprozesse behindert und es *Actinomyces spp.* daher ermöglicht, in tiefere Schichten des Knochengewebes vorzudringen.(181)

Russmueller G. et al.(182) stellten ebenfalls fest, dass MRONJ sehr häufig mit dem Nachweis von *Actinomyces*-Spezies verbunden ist. Bei der histologischen Auswertung nekrotischer Knochen von 111 PatientInnen im Alter von über 65 Jahren in Österreich wurde das Vorhandensein von *Actinomyces spp.* in 99 von 111 Fällen (89 %) nachgewiesen.(182)

Bakterien	Arten	Gram-Färbung	Stoffwechsel	Morphologie	Pathogenität	Antibiotikum-sensibilität
Prevotella	denticola, oris, buccae, intermedia, etc.	gram-negativ	anaerob	Stäbchen	Biofilmbildung, Entzündungsförderung durch Zytokinausschüttung	Ampicillin/ Sulbactam, Piperacillin/ Tazobactam, Cefotaxim, Carbapenem
Porphyromonas	gingivalis, endodontalis	gram-negativ	anaerob	Stäbchen	Proteolyse, Transferrinabbau, Fimbrien für Adhäsion/ Invasion/ Kolonisation,	Metronidazol, Clindamycin, Doxycyclin
Veillonella	parvula, atypica, etc	gram-negativ	fakultativ anaerob	Kokken	Biofilmbildung, symbiontischer Stoffwechsel für Streptokokken und Porphyromonas,	Metronidazol, Clindamycin, Penicilline, Cephalosporine
Fusobacterium	nucleatum, naviforme, etc.	gram-negativ	anaerob	Stäbchen	Adhärenz an Bakterien/ Biofilm, Plaquebildung, Koaggregation, Hämolyse, Lactatbildner	Penicilline
Leptotrichia	buccalis	gram-negativ	fakultativ anaerob	Stäbchen	Lactatbildner, Förderung des Entzündungsgeschehen	Penicilline, Piperacillin/ Tazobactam, Metronidazol
Streptococcus	mutans, mitis, salivarius, intermedius, etc.	gram-positiv	fakultativ anaerob	Kokken	Hämolyse, Toxinbildner, Plaquebildung, Bildung von saurem Milieu	Penicilline, Makrolide, Cephalosporine, Clindamycin
Actinomyces	israelii, cardiffensis, oris, etc.	gram-positiv	fakultativ anaerob	Stäbchen	Nach Barrierenzerstörung Osteolyse und Gewebszerstörung, Förderung eines anaeroben Mileus	Tetrazykline zusammen mit Metronidazol/ Clindamycin, Penicilline mit Betalaktamase-Inhibitoren
Neisseria	flavescens, sicca, etc.	gram-negativ	aerob	Diplokokken	Fimbrien, IgA-Protease	Cephalosporine, Makrolide
Lactobacillus	acidophilus, cateniformis, crispatus, gasseri, oris, etc.	gram-positiv	anaerob, teilweise aerotolerant	Stäbchen	Milchsäurebildner, kariesfördernd	keine Notwendigkeit der antibiotischen Therapie aufgrund natürlichen Vorkommens
Parvimonas	micra	gram-positiv	anaerob	Kokken	Bildung von Biofilmen	Clindamycin, Doxycyclin

Tabelle 6: Übersicht über einige wichtige Bakteriengattungen, die in MRONJ-Proben vorgefunden wurden

5.3 Antibiotische Therapie

Ein zentraler Aspekt bei der Behandlung von MRONJ-PatientInnen ist die Kontrolle von Infektionen im angrenzenden Knochen und den umgebenden Weichteilen. Insbesondere in den Stadien 2 und 3 von MRONJ sollte eine effektive Behandlung der bakteriellen

Besiedlung und Infektion in den betroffenen Bereichen integraler Bestandteil des Therapieplans aller PatientInnen sein.(7)

Die am häufigsten verwendeten Antibiotika zur Behandlung von MRONJ-PatientInnen, die orale Bisphosphonate einnehmen, ist das Penicillin-Derivat Amoxicillin mit Clavulansäure beziehungsweise bei Allergie auf Clavulansäure nur Amoxicillin. Bei Verdacht auf eine Co-Infektion mit anderen nachgewiesenen pathogenen Bakterien wie zum Beispiel *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* etc. wird eine Kombination mit Metronidazol empfohlen. Im Falle einer Allergie gegen Penicillin oder Amoxicillin wird häufig Clindamycin verschrieben.(183)

In der Studie nach Zirk M. et al.(148) wurden PatientInnen mit Ampicillin behandelt, welches das gleiche Wirkspektrum wie Amoxicillin aufweist. Peroral verabreicht hat Ampicillin jedoch eine schlechte Bioverfügbarkeit, weshalb bei peroraler Gabe Amoxicillin vorgezogen wird.

Betalaktamase-Inhibitoren wie zum Beispiel Clavulansäure, Tazobactam oder Sulbactam hemmen das in manchen Bakterien vorliegende Enzym Betalaktamase, welches die Wirkung von zum Beispiel Penicillin-Derivaten, Cephalosporinen und Carbapenemen aufheben kann. Somit verhindern diese in Kombination mit antibiotischen Wirkstoffen die Aufhebung der Wirkung und erweitern das Wirkspektrum.

Bei der Behandlung von MRONJ zeigten Ampicillin oder Piperacillin in Kombination mit Sulbactam oder Tazobactam signifikant bessere Testergebnisse als deren alleinige Anwendung. Für Cefuroxim und Cefotaxim wurde kein signifikanter Vorteil im Vergleich zu Ampicillin/Sulbactam oder Piperacillin/Tazobactam beobachtet. 84,6 % der aus Knochenproben kultivierten Bakterien, ausgenommen davon wurden *Actinomyces*, waren gegenüber Clindamycin empfindlich. Auf Grundlage der aktuell vorliegenden Daten wird eine hohe Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Ampicillin/Sulbactam oder Piperacillin/Tazobactam aufgewiesen.(148) Interessanterweise konnten keinerlei hohe Resistenzraten gegenüber Clindamycin festgestellt werden, welche Clindamycin in früheren Untersuchungen für die mit MRONJ-Läsionen assoziierten Bakterien bescheinigt wurden.(148, 184) Von den gram-positiven Bakterien erwies sich dabei nur etwa ein Viertel als resistent gegen Penicillin, während fast 80 % der gram-negativen Bakterien keine Empfindlichkeit gegenüber der Kombination aus Ampicillin und einem Betalaktamase-Inhibitor aufwiesen. In Anbetracht der Tatsache, dass in den meisten Fällen mehr als eine gram-negative Bakterienart im nekrotischen Knochen vorhanden war, wurde in 70 % der

Fälle mindestens eine penicillinresistente Art beobachtet. Resistenzen gegen Antibiotika aus der Familie der Fluorchinolone wurde nur bei 2 von 38 Isolaten (5 %) festgestellt. Dennoch gibt es zu der empirischen Antibiotikatherapie mit Fluorchinolonen bislang keine Daten.(150)

Keines der empirischen Antibiotikapräparate war in der Lage, die polymikrobiellen Erreger, die in den Knochen- oder Submukosa-Proben nachgewiesen wurden, vollständig abzudecken. Dies unterstreicht die Bedeutung eines AntibioGramms in jedem einzelnen Fall. Darüber hinaus hilft eine konstante Anforderung von AntibioGrammen dabei, die wenigen PatientInnen zu erkennen, die keine ausreichende antibiotische Abdeckung erhalten und trägt darüber hinaus zur frühzeitigen Erkennung mikrobieller Veränderungen im MRONJ-PatientInnenkollektiv in der Klinik bei. Ein empirisches Antibiotikaregime sollte sofort auf das Antibiotikum umgestellt werden, das als empfindlich getestet wurde.(148)

	Anzahl getesteter Bakterien	Sensible Bakterien	Resistente Bakterien	Sensibilitätsrate (%)
Penicillin	28	25	3	89,3
Ampicillin	43	29	14	67,4
Ampicillin/Sulbactam	43	35	8	81,4
Piperacillin	35	30	5	85,7
Piperacillin/Tazobactam	37	35	2	94,6
Cefuroxim	37	35	2	94,6
Cefotaxim	43	40	3	93
Clindamycin	26	22	4	84,6
Ciprofloxacin	43	21	22	48,8
Moxifloxacin	21	20	1	95,2
Imipenem	38	38	0	100
Vancomycin	23	23	0	100
Cotrimoxacol	20	18	2	90
Tetracyclin	8	8	0	100

Tabelle 7: Resistenzmuster der in Knochenproben nachgewiesenen Bakterien(148)

	Anzahl getesteter Bakterien	Sensible Bakterien	Resistente Bakterien	Sensibilitätsrate (%)
Penicillin	33	27	6	81,8
Ampicillin	49	37	12	75,5
Ampicillin/Sulbactam	51	43	8	84,3
Piperacillin	37	35	2	94,6
Piperacillin/Tazobactam	43	41	2	95,3
Cefuroxim	44	43	1	97,7
Cefotaxim	48	48	0	100
Clindamycin	31	23	8	74,2
Ciprofloxacin	48	24	24	50
Moxifloxacin	23	22	1	95,7
Imipenem	42	42	0	100
Vancomycin	28	28	0	100
Cotrimoxacol	20	18	2	90
Tetracyclin	11	11	0	100

Tabelle 8: Resistenzmuster von Bakterien, die aus gleichzeitig bestehenden submukösen Infektionen stammen(148)

Nach der Studie von Zirk M. et al.(148) wies Cefuroxim die höchsten Empfindlichkeitsraten für Bakterien auf, die von gleichzeitigen submukösen Infektionen stammen. Außerdem ergaben die Ergebnisse für Cefotaxim signifikant höhere Empfindlichkeitsraten als für Ampicillin/Sulbactam oder Clindamycin.(148) Im Vergleich dazu wies Clindamycin signifikant höhere Empfindlichkeitsraten für Bakterien auf, die im Knochen der PatientInnen nachgewiesen wurden, im Gegensatz zu Bakterien aus submukösen Infektionen. Bei Ampicillin wurde die gegenteilige Beobachtung gemacht, da Ampicillin signifikant höhere Empfindlichkeitsraten für Bakterien von submukösen Infektionen aufwies.(148) Dies kann man ebenfalls den Tabellen 3 und 4 entnehmen. Etwa die Hälfte aller getesteten Isolate aus Knochen oder submukösem Weichgewebe zeigten Resistenzen gegen Ciprofloxacin.

Nicht nur für *Actinomyces spp.* sind Beta-Lactam-Wirkstoffe mit Betalaktamase-Inhibitoren eine praktikable Option, hohe Empfindlichkeitsraten für die verschiedenen Bakterien, die Infektionen im Rahmen von MRONJ-Läsionen mitverursachen, bestätigen die Position der Betalaktam-Wirkstoffe als erste Wahl bei der Behandlung von MRONJ-PatientInnen.(148)

Antibiotikum	Wirkmechanismus	Wirkspektrum	Wirkart
Penicillin	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	gram-positive, gram-negative und Anaerobier	bakterizid
Ampicillin	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	gram-positive, gram-negative und Anaerobier	bakterizid
Ampicillin/Sulbactam	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	gram-positive, gram-negative und Anaerobier + resistente Stämme/Betalaktamasebildner	bakterizid
Piperacillin	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	gram-positive, gram-negative und Anaerobier, besonders Pseudomonas aeruginosa	bakterizid
Piperacillin/Tazobactam	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	wie Piperacillin + Betalaktamasebildner	bakterizid
Cefuroxim	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese durch Hemmung des Enzyms Transpeptidase	gram-negative + gram-positive Erreger, betalaktamasefest	bakterizid
Cefotaxim	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese durch Hemmung des Enzyms Transpeptidase	gram-negative + gram-positive Erreger, betalaktamasefest	bakterizid
Clindamycin	Hemmung der Proteinbiosynthese durch Ribosomhemmung	aerobe grampositive Bakterien, anaerobe Bakterien und andere Mikroorganismen wie Chlamydien	bakteriostatisch, in hohen Dosen dennoch bakterizid
Ciprofloxacin	Hemmung der bakteriellen DNA-Gyrase und Topoisomerase IV	gram-negative B., teilweise auch auf gram-positive Bakterien, Chlamydien	bakteriostatisch, Wirkung auf schnellvermehrnde Bakterien höher
Moxifloxacin	Hemmung der bakteriellen DNA-Gyrase	gram-positive und anaerobe Bakterien	bakteriostatisch, Wirkung auf schnellvermehrnde Bakterien höher
Imipenem	Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese	wirksam gegen die meisten gram-negativen + gram-positiven + anaerobe Bakterien	bakterizid
Vancomycin	Hemmung besonders der Zellwandsynthese von gram-positiven Bakterien	gram-positive Bakterien, nicht gegen gram-negative Bakterien wirksam	bakterizid
Cotrimoxacol	Hemmung von Enzymen des bakteriellen Folsäurestoffwechsels	aerobe gram-positive + aerobe gram-negative Bakterien, Chlamydien	bakteriostatisch und bakterizid
Tetracyclin	Hemmung der Proteinbiosynthese durch Ribosomhemmung	wirksam auf zahlreiche gram-positive + gram-negative Bakterien	bakteriostatisch

Tabelle 9: Überblick über die verschiedenen Antibiotika

6 Diskussion

Insgesamt wurden in den 5 relevanten Artikel insgesamt 219 MRONJ-Patienten Knochensequester entfernt und diese dann mittels Massenspektroskopie oder 16S-rRNA-Sequenzierung untersucht.

Die Ergebnisse der einzelnen Arbeiten fallen sehr unterschiedlich sowohl in der Häufigkeit der unterschiedlichen Arten als auch in der Häufigkeit der Bakteriengattungen aus, jedoch ist gerade in den MRONJ-Läsionen ein Wechsel zu anaeroben Bakterien zu erkennen, was gut zu dem sauerstoffarmen Milieu in nekrotischem Knochen passt. Sehr viele gram-negative Bakteriengattungen sind ebenfalls in den MRONJ-Proben vorzufinden.

Die MRONJ ist eine multifaktorielle Erkrankung, die sich in den letzten Jahren zu einem immer häufiger werdenden Krankheitsbild entwickelt hat.

Bis heute bleibt die Pathogenese von MRONJ unvollständig verstanden, jedoch sind zwei Haupttheorien zur Entstehung von MRONJ deutlich geworden. Eine Theorie postuliert eine verminderte osteoklastische Aktivität und einen gestörten Knochenumbau bei MRONJ-PatientInnen. Mikroschäden im Kiefer, hervorgerufen durch Kaubelastung und lokale

Entzündungen, führen zusammen mit unzureichendem Knochenumbau dazu, dass der Knochen kontinuierlich pathogenen Biofilmen ausgesetzt und anfällig wird.(97, 185) Dieser Prozess endet in einer Osteonekrose und Exposition des Knochens.(185) Eine weitere Theorie hingegen beruht auf dem Verlust der Schleimhautintegrität durch Parodontitis, Zahnextraktion und lokale Schleimhautentzündung, wodurch der Knochen für einen komplexen Biofilm mit verschiedenen Erregern zugänglich wird. Schließlich führt diese fortschreitende Knochenentzündung zu einer Osteonekrose in einem immungeschwächten Knochen.(6, 149)

Normalerweise wird das gesunde funktionelle Gleichgewicht im Knochen in Anwesenheit von Antiresorptiva und ohne vorliegende Zahnerkrankung aufrechterhalten. Aufgrund der Hemmung der Osteoklasten zeigt sich eine gesteigerte Knochendichte, wobei der Alveolarknochen jedoch vital bleibt. Im Falle einer dentalen Erkrankung, wie beispielsweise im Falle einer Parodontitis, könnten sich die entzündlichen Veränderungen vermutlich auf den Alveolarknochen ausbreiten. Die Osteoklastenhemmung beeinträchtigt die Knochenresorption, sodass der Alveolarknochen dem entzündlich-infektiösen Milieu ausgesetzt ist. Dies könnte zu Knochennekrosen führen. Das Vorliegen von nekrotischem Knochen verstärkt vermutlich die Entzündungsreaktionen, begleitet von erhöhtem oxidativem Stress und einer Verschiebung zu einer proinflammatorischen Zytokinsekretion sowie der Präsenz von proinflammatorischen Immunzellen, während die Zahl der entzündungshemmenden Immunzellen abnimmt. Die apikale Epithelmigration und der Randsaum des nekrotischen Knochens könnten zu einer Knochenbelastung führen. Durch verstärkte Entzündungsreaktionen und die potenzielle Freilegung des Knochens kommt es zu weiteren Schäden an den Knochenzellen und einer Ausweitung der Osteonekrose. Diese fortwährende positive Rückkopplungsschleife könnte zu einer Vergrößerung der Gewebeschädigung führen. Klinisch zeigen sich in den frühen Stadien MRONJ-Symptome im Sinne des Stadium 0, während spätere Knochenbelastung zu einer klinischen MRONJ führen kann.

Insgesamt sind noch mehrere Bereiche der Pathogenese, des Verlaufs und der Prognose der MRONJ nach wie vor unbekannt und schränken eine wirksame Behandlung der Krankheit ein. Obwohl ein Zusammenhang zwischen der Dosis und der Dauer der Einnahme von Antiresorptiva und der Inzidenz der MRONJ nachgewiesen wurde, ist die Definition der Expositionshöhe (kumulative Dosisbelastung, d. h. mg-Äquivalente eines

Antiresorptivums/Jahre der Exposition) noch nicht festgelegt worden. Der Einfluss systemischer Begleiterkrankungen (Rauchen, Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen, Malignome) sowie lokaler Risikofaktoren (chirurgische Eingriffe, dentale Erkrankungen, anatomische Faktoren, orales Mikrobiom) sind nicht im Detail verstanden. Genetische Determinanten und prognostische Biomarker müssen validiert werden, damit Personen mit einem höheren Erkrankungsrisiko oder in subklinischen Stadien vor der Entwicklung offener Symptome wirksam identifiziert werden können.(69)

Es sollte geklärt werden, inwieweit medikamentöse Pausen das Risiko der Entwicklung einer MRONJ verringern oder den Schweregrad einer bereits bestehenden Erkrankung reduzieren könnten, ohne die Kontrolle der systemischen Erkrankung zu beeinträchtigen. Die Wirksamkeit von nicht-operativen gegenüber operativen Ansätzen für verschiedene Stadien der MRONJ, antiresorptive Therapien und den Zustand der PatientInnen muss nachgewiesen werden, damit PatientInnen und LeistungserbringerInnen evidenzbasierte fundierte Entscheidungen treffen können. Der mögliche Beitrag von Unterschieden in der zellulären Reaktion auf Antiresorptiva zwischen dem Kiefer und anderen Skelettbereichen muss weiter untersucht werden. Schließlich würde die Entdeckung gezielter pharmakologischer Interventionen zur Beeinflussung und Unterstützung der mukosalen, knöchernen, immunologischen und vaskulären Heilungsreaktion des oralen Gewebes und zur Verringerung oder Beseitigung der MRONJ-Belastung das Arsenal der Ansätze für die MRONJ-Behandlung erweitern.(69)

Die maßgebliche Rolle der Infektion bei der Entstehung und dem Fortschreiten von MRONJ ist ebenfalls Gegenstand aktiver Diskussion und Forschung.(67, 97) Die meisten Studien, die in der Literatur präsentiert werden, fokussieren sich hauptsächlich auf die Infektion des Knochens selbst.(67, 186) Im Gegensatz dazu ist das korrekte Management des umgebenden Gewebes der Läsion entscheidend, um eine angemessene Schleimhautabdeckung sicherzustellen.(187, 188) Ein Verlust der Schleimhautintegrität und submukosale Infektionen bergen das Risiko eines Rückfalls oder einer Progression der Erkrankung.(97) Auch sollten noch weitere Studien mit einer größeren Anzahl an MRONJ-PatientInnen entnommenen Sequesterproben geführt werden, um noch weitere Erkenntnisse über die Häufigkeiten und Verteilung der jeweiligen Bakteriengattungen und -spezies herauszufinden. Denn dadurch könnte man auch weitere Erkenntnisse über die Einflüsse von

verschiedenen Bakterien gewinnen, welche aktuell doch durch die 5 oben erwähnten Studien und den Erkenntnissen aus den 219 erworbenen MRONJ-Proben sehr eingeschränkt sind.

Die regelmäßige Detektion von *Actinomyces spp.* in MRONJ-Läsionen wurde in zahlreichen Studien hervorgehoben.(186, 188) Dennoch variieren die Berichte stark hinsichtlich der bakteriellen Besiedlung in MRONJ-Läsionen, abhängig von den Krankheitsstadien, den verwendeten Nachweismethoden und der Entnahmelokalisation der Proben.(98, 175)

Actinomyces spp. gehören in der Mundhöhle zur Saprophytenflora und können pathogen werden, wenn sie die Schleimhautbarriere überwinden. *Streptococcus spp.* und andere saccharolytische Bakterien können ein saures Milieu fördern, welche das Wachstum weiterer saurer Bakterien begünstigt und folglich den Wundheilungsprozess stört. Daher sollte eine Infektion mit beta-hämolytischen *Streptokokken* bei der Behandlung von MRONJ-Patienten berücksichtigt werden.

Schon frühere Untersuchungen berichteten bereits über das Vorkommen von *Prevotella spp.* und *Veillonella spp.* in MRONJ-Läsionen.(98, 151, 152) Interessanterweise wurde festgestellt, dass *Veillonella spp.* in MRONJ-Läsionen präsent sind, insbesondere bei PatientInnen, die antibiotisch behandelt wurden.(152) Beide Bakterienarten, *Prevotella spp.* und *Veillonella spp.*, werden häufig in Verbindung mit *Streptococcus spp.* in MRONJ-Läsionen nachgewiesen.(97) *Streptococcus spp.* in MRONJ-Läsionen zeigen eine Koaggregation, sowohl innerhalb als auch zwischen den Gattungen und binden an andere frühe Kolonisationsorganismen wie *Actinomyces spp.*, *Prevotella spp.* und *Veillonella spp.*(97) *Prevotella spp.* und *Bacteroides spp.* sind in der Lage, Adhäsionsfaktoren, gewebeschädigende Exoenzyme und antiphagozytäre Faktoren zu exprimieren, die alle den Wundheilungsprozess verlängern oder beeinträchtigen können.(163) Auf diese Weise könnten diese Bakterien vermutlich zu einem frühen Wiederauftreten der Krankheit beitragen oder den Wundverschluss bei konservativen Behandlungsmethoden behindern.(163)

Insgesamt kann man jedoch ein Zusammenspiel aus vielen Bakterien vermuten, in denen verschiedenste Bakteriengattungen und -spezies ihren Teil zu der Erkrankung beitragen.

Aus therapeutischer Sicht sind die häufigsten Antibiotika, die zur Behandlung von MRONJ eingesetzt werden, Amoxicillin mit oder ohne Betalaktamase-Inhibitor, sowie Metronidazol oder alternativ die Kombination aus beiden.(183) Für PatientInnen mit einer Allergie gegen

Betalactam-Antibiotika ist Clindamycin eine übliche Alternative.(183) Die Daten zeigen eine hohe Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Amoxicillin mit Betalaktamase-Inhibitor beziehungsweise Ampicillin/Sulbactam oder Piperacillin/Tazobactam, während Clindamycin eine niedrige Resistenz aufwies, entgegen früheren Befunden. Es wurde jedoch festgestellt, dass keines der empirischen Antibiotikaregime alle polymikrobiellen Erreger vollständig abdeckt.(184)

Cephalosporine wie Cefuroxim und Cefotaxim, zusammen mit Ampicillin/Sulbactam, könnten geeignete empirische Behandlungsoptionen für MRONJ-PatientInnen sein, während die Rolle von Cephalosporinen bei der Behandlung von *Actinomyces spp.* weiter untersucht werden sollte.(184) Aber auch in diesem Bereich sind noch weitere Studien unbedingt notwendig.

7 Literaturverzeichnis

1. 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.
2. Assaf AT, Smeets R, Riecke B, Weise E, Grobe A, Blessmann M, et al. Incidence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in consideration of primary diseases and concomitant therapies. *Anticancer Res.* 2013;33(9):3917-24.
3. Chan BH, Yee R, Puvanendran R, Ang SB. Medication-related osteonecrosis of the jaw in osteoporotic patients: prevention and management. *Singapore Med J.* 2018;59(2):70-5.
4. Ruggiero SL, Mehrotra B. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: diagnosis, prevention, and management. *Annu Rev Med.* 2009;60:85-96.
5. Galis B, Zajko J, Hirjak D, Vanko L, Kupcova I, Jurkemik J, et al. Is the prevalence of the medication-related osteonecrosis of the jaws underestimated, evaluation in oncological and non-oncological disease. *Bratisl Lek Listy.* 2017;118(12):724-31.
6. Boff RC, Salum FG, Figueiredo MA, Cherubini K. Important aspects regarding the role of microorganisms in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *Arch Oral Biol.* 2014;59(8):790-9.
7. De Bruyn L, Coropciuc R, Coucke W, Politis C. Microbial population changes in patients with medication-related osteonecrosis of the jaw treated with systemic antibiotics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018;125(3):268-75.
8. Mosekilde L, Ebbesen EN, Tornvig L, Thomsen JS. Trabecular bone structure and strength - remodelling and repair. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2000;1(1):25-30.
9. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3 Suppl 3(Suppl 3):S131-9.
10. Seeman E, Delmas PD. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med.* 2006;354(21):2250-61.
11. Fonseca H, Moreira-Goncalves D, Coriolano HJ, Duarte JA. Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. *Sports Med.* 2014;44(1):37-53.
12. Davison KS, Siminoski K, Adachi JD, Hanley DA, Goltzman D, Hodsmann AB, et al. Bone strength: the whole is greater than the sum of its parts. *Semin Arthritis Rheum.* 2006;36(1):22-31.
13. Hart NH, Nimphius S, Rantalainen T, Ireland A, Siafarikas A, Newton RU. Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2017;17(3):114-39.
14. Gong H, Zhu D, Gao J, Lv L, Zhang X. An adaptation model for trabecular bone at different mechanical levels. *Biomed Eng Online.* 2010;9:32.
15. Nguyen J, Tang SY, Nguyen D, Alliston T. Load regulates bone formation and Sclerostin expression through a TGFbeta-dependent mechanism. *PLoS One.* 2013;8(1):e53813.
16. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord.* 2010;11(4):219-27.
17. Hart NH, Newton RU, Tan J, Rantalainen T, Chivers P, Siafarikas A, et al. Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2020;20(3):347-71.
18. Vainionpaa A, Korpelainen R, Vaananen HK, Haapalahti J, Jamsa T, Leppaluoto J. Effect of impact exercise on bone metabolism. *Osteoporos Int.* 2009;20(10):1725-33.

19. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res.* 2011;26(2):229-38.
20. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998;93(2):165-76.
21. Takegahara N, Kim H, Choi Y. RANKL biology. *Bone.* 2022;159:116353.
22. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, Ring BD, Van G, Capparelli C, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol.* 1999;145(3):527-38.
23. Blair JM, Zhou H, Seibel MJ, Dunstan CR. Mechanisms of disease: roles of OPG, RANKL and RANK in the pathophysiology of skeletal metastasis. *Nat Clin Pract Oncol.* 2006;3(1):41-9.
24. Cremers S, Drake MT, Ebetino FH, Bilezikian JP, Russell RGG. Pharmacology of bisphosphonates. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(6):1052-62.
25. Coxon FP, Thompson K, Roelofs AJ, Ebetino FH, Rogers MJ. Visualizing mineral binding and uptake of bisphosphonate by osteoclasts and non-resorbing cells. *Bone.* 2008;42(5):848-60.
26. Farrell KB, Karpeisky A, Thamm DH, Zinnen S. Bisphosphonate conjugation for bone specific drug targeting. *Bone Rep.* 2018;9:47-60.
27. Sutherland KA, Rogers HL, Tosh D, Rogers MJ. RANKL increases the level of Mcl-1 in osteoclasts and reduces bisphosphonate-induced osteoclast apoptosis in vitro. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(2):R58.
28. Monkkonen H, Rogers MJ, Makkonen N, Niva S, Auriola S, Monkkonen J. The cellular uptake and metabolism of clodronate in RAW 264 macrophages. *Pharm Res.* 2001;18(11):1550-5.
29. 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.
30. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature.* 1990;343(6257):425-30.
31. Itzstein C, Coxon FP, Rogers MJ. The regulation of osteoclast function and bone resorption by small GTPases. *Small GTPases.* 2011;2(3):117-30.
32. Rogers MJ. New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Curr Pharm Des.* 2003;9(32):2643-58.
33. Russell RG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int.* 2008;19(6):733-59.
34. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone.* 1999;25(1):97-106.
35. Hildebrand GK, Kasi A. Denosumab. *StatPearls.* Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Anup Kasi declares no relevant financial relationships with ineligible companies. 2023.
36. Baron R, Ferrari S, Russell RG. Denosumab and bisphosphonates: different mechanisms of action and effects. *Bone.* 2011;48(4):677-92.
37. Weinstein RS, Roberson PK, Manolagas SC. Giant osteoclast formation and long-term oral bisphosphonate therapy. *N Engl J Med.* 2009;360(1):53-62.
38. Hanley DA, Adachi JD, Bell A, Brown V. Denosumab: mechanism of action and clinical outcomes. *Int J Clin Pract.* 2012;66(12):1139-46.
39. McClung MR, Grauer A, Boonen S, Bolognese MA, Brown JP, Diez-Perez A, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med.* 2014;370(5):412-20.

40. 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.
41. Rauner M, Taipaleenmaki H, Tsourdi E, Winter EM. Osteoporosis Treatment with Anti-Sclerostin Antibodies-Mechanisms of Action and Clinical Application. *J Clin Med.* 2021;10(4).
42. Rosen LS, Ashurst HL, Chap L. Targeting signal transduction pathways in metastatic breast cancer: a comprehensive review. *Oncologist.* 2010;15(3):216-35.
43. de Aguiar RB, de Moraes JZ. Exploring the Immunological Mechanisms Underlying the Anti-vascular Endothelial Growth Factor Activity in Tumors. *Front Immunol.* 2019;10:1023.
44. Roviello G, Bachelot T, Hudis CA, Curigliano G, Reynolds AR, Petrioli R, et al. The role of bevacizumab in solid tumours: A literature based meta-analysis of randomised trials. *Eur J Cancer.* 2017;75:245-58.
45. Wallin JJ, Bendell JC, Funke R, Sznol M, Korski K, Jones S, et al. Atezolizumab in combination with bevacizumab enhances antigen-specific T-cell migration in metastatic renal cell carcinoma. *Nat Commun.* 2016;7:12624.
46. Garcia J, Hurwitz HI, Sandler AB, Miles D, Coleman RL, Deurloo R, et al. Bevacizumab (Avastin(R)) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat Rev.* 2020;86:102017.
47. 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.
48. Xiao J, Wang J, Yuan L, Hao L, Wang D. Study on the mechanism and intervention strategy of sunitinib induced nephrotoxicity. *Eur J Pharmacol.* 2019;864:172709.
49. Tang W, Chen Z, Zhang W, Cheng Y, Zhang B, Wu F, et al. The mechanisms of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma: theoretical basis and therapeutic aspects. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):87.
50. Beuselinck B, Wolter P, Karadimou A, Elaidi R, Dumez H, Rogiers A, et al. Concomitant oral tyrosine kinase inhibitors and bisphosphonates in advanced renal cell carcinoma with bone metastases. *Br J Cancer.* 2012;107(10):1665-71.
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. Kawahara M, Kuroshima S, Sawase T. Clinical considerations for medication-related osteonecrosis of the jaw: a comprehensive literature review. *Int J Implant Dent.* 2021;7(1):47.
55. Kyrgidis A, Vahtsevanos K, Koloutsos G, Andreadis C, Boukovinas I, Teleioudis Z, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a case-control study of risk factors in breast cancer patients. *J Clin Oncol.* 2008;26(28):4634-8.
56. 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.
57. McGowan K, McGowan T, Ivanovski S. Risk factors for medication-related osteonecrosis of the jaws: A systematic review. *Oral Dis.* 2018;24(4):527-36.
 58. Kuroshima S, Al-Omari FA, Sasaki M, Sawase T. Medication-related osteonecrosis of the jaw: A literature review and update. *Genesis.* 2022;60(8-9):e23500.
 59. Gkouveris I, Soundia A, Gouveris P, Zouki D, Hadaya D, Tetradis S. Macrophage Involvement in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ): A Comprehensive, Short Review. *Cancers (Basel).* 2022;14(2).
 60. 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.
 61. Alsalih A, Dam A, Lindberg P, Truedsson A. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws Initiated by Zoledronic Acid and Potential Pathophysiology. *Dent J (Basel).* 2021;9(8).
 62. Zhang W, Gao L, Ren W, Li S, Zheng J, Li S, et al. The Role of the Immune Response in the Development of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Front Immunol.* 2021;12:606043.
 63. Migliorati CA, Brennan MT, Peterson DE. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2019;2019(53).
 64. Chang J, Hakam AE, McCauley LK. Current Understanding of the Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaw. *Curr Osteoporos Rep.* 2018;16(5):584-95.
 65. George EL, Lin YL, Saunders MM. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a mechanobiology perspective. *Bone Rep.* 2018;8:104-9.
 66. Leizaola-Cardesa IO, Aguilar-Salvatierra A, Gonzalez-Jaranay M, Moreu G, Sala-Romero MJ, Gomez-Moreno G. Bisphosphonates, vitamin D, parathyroid hormone, and osteonecrosis of the jaw. Could there be a missing link? *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016;21(2):e236-40.
 67. Katsarelis H, Shah NP, Dhariwal DK, Pazianas M. Infection and medication-related osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res.* 2015;94(4):534-9.
 68. Pazianas M. Osteonecrosis of the jaw and the role of macrophages. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(3):232-40.
 69. Tetradis S, Allen MR, Ruggiero SL. Pathophysiology of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-A Minireview. *JBMR Plus.* 2023;7(8):e10785.
 70. Scheper MA, Badros A, Salama AR, Warburton G, Cullen KJ, Weikel DS, et al. A novel bioassay model to determine clinically significant bisphosphonate levels. *Support Care Cancer.* 2009;17(12):1553-7.
 71. Takeuchi K, Amagase K. Evaluation of gastric ulcerogenic and healing impairment effects of bisphosphonates: adverse gastric reactions of bisphosphonate. *Curr Protoc Toxicol.* 2012;Chapter 21:Unit 21 10 1-29.
 72. Amagase K, Inaba A, Senta T, Ishikawa Y, Nukui K, Murakami T, et al. Gastric ulcerogenic and healing impairment effects of risedronate, a nitrogen-containing bisphosphonate in rats. Comparison with alendronate and minodronate. *J Physiol Pharmacol.* 2011;62(6):609-18.
 73. Patel S, Choyee S, Uyanne J, Nguyen AL, Lee P, Sedghizadeh PP, et al. Non-exposed bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: a critical assessment of current definition, staging, and treatment guidelines. *Oral Dis.* 2012;18(7):625-32.
 74. 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.

75. Watanabe T, Yoshida T, Akizuki S, Yamanaka S, Nakao K, Fukuhara S, et al. Nonexposed antiresorptive agent-related osteomyelitis of the jaw: a single-center cohort study. *J Bone Miner Metab.* 2022;40(4):657-62.
76. Bi Y, Gao Y, Ehirchiou D, Cao C, Kikuri T, Le A, et al. Bisphosphonates cause osteonecrosis of the jaw-like disease in mice. *Am J Pathol.* 2010;177(1):280-90.
77. 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.
78. Aghaloo TL, Cheong S, Bezouglaia O, Kostenuik P, Atti E, Dry SM, et al. RANKL inhibitors induce osteonecrosis of the jaw in mice with periapical disease. *J Bone Miner Res.* 2014;29(4):843-54.
79. Luo X, Wan Q, Cheng L, Xu R. Mechanisms of bone remodeling and therapeutic strategies in chronic apical periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:908859.
80. Araujo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontol 2000.* 2015;68(1):122-34.
81. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ.* 2003;67(8):932-49.
82. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000.* 2018;76(1):43-50.
83. Ricucci D, Siqueira JF, Jr. Biofilms and apical periodontitis: study of prevalence and association with clinical and histopathologic findings. *J Endod.* 2010;36(8):1277-88.
84. Huang X, Xie M, Xie Y, Mei F, Lu X, Li X, et al. The roles of osteocytes in alveolar bone destruction in periodontitis. *J Transl Med.* 2020;18(1):479.
85. Yuan X, Pei X, Zhao Y, Tulu US, Liu B, Helms JA. A Wnt-Responsive PDL Population Effectuates Extraction Socket Healing. *J Dent Res.* 2018;97(7):803-9.
86. Pei X, Wang L, Chen C, Yuan X, Wan Q, Helms JA. Contribution of the PDL to Osteotomy Repair and Implant Osseointegration. *J Dent Res.* 2017;96(8):909-16.
87. 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.
88. Messer JG, Jiron JM, Mendieta Calle JL, Castillo EJ, Israel R, Phillips EG, et al. Zoledronate treatment duration is linked to bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw prevalence in rice rats with generalized periodontitis. *Oral Dis.* 2019;25(4):1116-35.
89. Aguirre JI, Castillo EJ, Kimmel DB. Biologic and pathologic aspects of osteocytes in the setting of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *Bone.* 2021;153:116168.
90. Soma T, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Ito E, Matsumoto T, et al. Osteonecrosis development by tooth extraction in zoledronate treated mice is inhibited by active vitamin D analogues, anti-inflammatory agents or antibiotics. *Sci Rep.* 2022;12(1):19.
91. Gkouveris I, Hadaya D, Soundia A, Bezouglaia O, Chau Y, Dry SM, et al. Vasculature submucosal changes at early stages of osteonecrosis of the jaw (ONJ). *Bone.* 2019;123:234-45.
92. 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.
93. Kuroshima S, Yamashita J. Chemotherapeutic and antiresorptive combination therapy suppressed lymphangiogenesis and induced osteonecrosis of the jaw-like lesions in mice. *Bone.* 2013;56(1):101-9.

94. 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.
95. Sedghizadeh PP, Kumar SK, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW. Identification of microbial biofilms in osteonecrosis of the jaws secondary to bisphosphonate therapy. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008;66(4):767-75.
96. 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.
97. Pushalkar S, Li X, Kurago Z, Ramanathapuram LV, Matsumura S, Fleisher KE, et al. Oral microbiota and host innate immune response in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Int J Oral Sci.* 2014;6(4):219-26.
98. Wei X, Pushalkar S, Estilo C, Wong C, Farooki A, Fornier M, et al. Molecular profiling of oral microbiota in jawbone samples of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis.* 2012;18(6):602-12.
99. 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.
100. Kim T, Kim S, Song M, Lee C, Yagita H, Williams DW, et al. Removal of Pre-Existing Periodontal Inflammatory Condition before Tooth Extraction Ameliorates Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-Like Lesion in Mice. *Am J Pathol.* 2018;188(10):2318-27.
101. 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.
102. 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.
103. Kunchur R, Goss AN. The oral health status of patients on oral bisphosphonates for osteoporosis. *Aust Dent J.* 2008;53(4):354-7; quiz 66.
104. 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.
105. 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.
106. 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).
107. Abu-Id MH, Warnke PH, Gottschalk J, Springer I, Wiltfang J, Acil Y, et al. "Bisphossy jaws" - high and low risk factors for bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Craniomaxillofac Surg.* 2008;36(2):95-103.
108. 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.

109. 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.
110. Adornato MC, Morcos I, Rozanski J. The treatment of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws with bone resection and autologous platelet-derived growth factors. *J Am Dent Assoc.* 2007;138(7):971-7.
111. 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.
112. Carlson ER. Management of antiresorptive osteonecrosis of the jaws with primary surgical resection. *J Oral Maxillofac Surg.* 2014;72(4):655-7.
113. 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.
114. Klingelhoffer C, Zeman F, Meier J, Reichert TE, Ettl T. Evaluation of surgical outcome and influencing risk factors in patients with medication-related osteonecrosis of the jaws. *J Craniomaxillofac Surg.* 2016;44(10):1694-9.
115. Nisi M, La Ferla F, Karapetsa D, Gennai S, Ramaglia L, Graziani F, et al. Conservative surgical management of patients with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a series of 120 patients. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2016;54(8):930-5.
116. 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.
117. Park H, Copeland C, Henry S, Barbul A. Complex wounds and their management. *Surg Clin North Am.* 2010;90(6):1181-94.
118. 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.
119. Chen C, Hemme C, Beleno J, Shi ZJ, Ning D, Qin Y, et al. Oral microbiota of periodontal health and disease and their changes after nonsurgical periodontal therapy. *ISME J.* 2018;12(5):1210-24.
120. Deo PN, Deshmukh R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(1):122-8.
121. Belibasakis GN. Microbiological changes of the ageing oral cavity. *Arch Oral Biol.* 2018;96:230-2.
122. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69(1):137-43.
123. Lamont RJ, Hajishengallis G. Polymicrobial synergy and dysbiosis in inflammatory disease. *Trends Mol Med.* 2015;21(3):172-83.
124. Baker JL, Edlund A. Exploiting the Oral Microbiome to Prevent Tooth Decay: Has Evolution Already Provided the Best Tools? *Front Microbiol.* 2018;9:3323.
125. Krishnan K, Chen T, Paster BJ. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral Dis.* 2017;23(3):276-86.
126. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science.* 2009;326(5960):1694-7.
127. Li K, Bihan M, Methe BA. Analyses of the stability and core taxonomic memberships of the human microbiome. *PLoS One.* 2013;8(5):e63139.

128. Bartnicka D, Gonzalez-Gonzalez M, Sykut J, Koziel J, Ciaston I, Adamowicz K, et al. *Candida albicans* Shields the Periodontal Killer *Porphyromonas gingivalis* from Recognition by the Host Immune System and Supports the Bacterial Infection of Gingival Tissue. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6).
129. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol.* 2010;192(19):5002-17.
130. Vollaard EJ, Clasener HA. Colonization resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38(3):409-14.
131. Van Hoogmoed CG, Geertsema-Doornbusch GI, Teughels W, Quirynen M, Busscher HJ, Van der Mei HC. Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(1):43-8.
132. Wu J, Xie H. Role of arginine deiminase of *Streptococcus cristatus* in *Porphyromonas gingivalis* colonization. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(11):4694-8.
133. Burne RA, Marquis RE. Alkali production by oral bacteria and protection against dental caries. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;193(1):1-6.
134. Edlund A, Yang Y, Yooseph S, Hall AP, Nguyen DD, Dorrestein PC, et al. Metagenomics uncover temporal regulation of pathways across oral microbiome genera during in vitro sugar metabolism. *ISME J.* 2015;9(12):2605-19.
135. Senneby A, Davies JR, Svensater G, Neilands J. Acid tolerance properties of dental biofilms in vivo. *BMC Microbiol.* 2017;17(1):165.
136. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(12):745-59.
137. Chapple IL. Potential mechanisms underpinning the nutritional modulation of periodontal inflammation. *J Am Dent Assoc.* 2009;140(2):178-84.
138. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2014;64(1):57-80.
139. Cugini C, Shanmugam M, Landge N, Ramasubbu N. The Role of Exopolysaccharides in Oral Biofilms. *J Dent Res.* 2019;98(7):739-45.
140. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(1):30-44.
141. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol.* 2012;27(6):409-19.
142. Kriebel K, Hieke C, Muller-Hilke B, Nakata M, Kreikemeyer B. Oral Biofilms from Symbiotic to Pathogenic Interactions and Associated Disease -Connection of Periodontitis and Rheumatic Arthritis by Peptidylarginine Deiminase. *Front Microbiol.* 2018;9:53.
143. Wu RQ, Zhang DF, Tu E, Chen QM, Chen W. The mucosal immune system in the oral cavity-an orchestra of T cell diversity. *Int J Oral Sci.* 2014;6(3):125-32.
144. Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000.* 2021;87(1):107-31.
145. Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Waldron L, Gevers D, et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol.* 2012;13(6):R42.
146. Eren AM, Borisy GG, Huse SM, Mark Welch JL. Oligotyping analysis of the human oral microbiome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(28):E2875-84.
147. Eren AM. Human Oral Microbiome Database 2024 [cited 2024 10.03.]. Available from: https://www.homd.org/taxa/abundance_by_site/species.

148. Zirk M, Wenzel C, Buller J, Zoller JE, Zinser M, Peters F. Microbial diversity in infections of patients with medication-related osteonecrosis of the jaw. *Clin Oral Investig.* 2019;23(5):2143-51.
149. Sedghizadeh PP, Yooseph S, Fadrosch DW, Zeigler-Allen L, Thiagarajan M, Salek H, et al. Metagenomic investigation of microbes and viruses in patients with jaw osteonecrosis associated with bisphosphonate therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;114(6):764-70.
150. Ewald F, Wuesthoff F, Koehnke R, Friedrich RE, Gosau M, Smeets R, et al. Retrospective analysis of bacterial colonization of necrotic bone and antibiotic resistance in 98 patients with medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *Clin Oral Investig.* 2021;25(5):2801-9.
151. Hallmer F, Bjornland T, Andersson G, Becktor JP, Kristoffersen AK, Enersen M. Bacterial diversity in medication-related osteonecrosis of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2017;123(4):436-44.
152. Ji X, Pushalkar S, Li Y, Glickman R, Fleisher K, Saxena D. Antibiotic effects on bacterial profile in osteonecrosis of the jaw. *Oral Dis.* 2012;18(1):85-95.
153. Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog.* 2010;6(1):e1000713.
154. Cheung MK, Chan JYK, Wong MCS, Wong PY, Lei P, Cai L, et al. Determinants and Interactions of Oral Bacterial and Fungal Microbiota in Healthy Chinese Adults. *Microbiol Spectr.* 2022;10(1):e0241021.
155. Sultan AS, Kong EF, Rizk AM, Jabra-Rizk MA. The oral microbiome: A Lesson in coexistence. *PLoS Pathog.* 2018;14(1):e1006719.
156. Burgain A, Pic E, Markey L, Tebbji F, Kumamoto CA, Sellam A. A novel genetic circuitry governing hypoxic metabolic flexibility, commensalism and virulence in the fungal pathogen *Candida albicans*. *PLoS Pathog.* 2019;15(12):e1007823.
157. Vylkova S, Lorenz MC. Phagosomal Neutralization by the Fungal Pathogen *Candida albicans* Induces Macrophage Pyroptosis. *Infect Immun.* 2017;85(2).
158. Metwalli KH, Khan SA, Krom BP, Jabra-Rizk MA. *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and the human mouth: a sticky situation. *PLoS Pathog.* 2013;9(10):e1003616.
159. Morse DJ, Wilson MJ, Wei X, Bradshaw DJ, Lewis MAO, Williams DW. Modulation of *Candida albicans* virulence in *in vitro* biofilms by oral bacteria. *Lett Appl Microbiol.* 2019;68(4):337-43.
160. Ishijima SA, Hayama K, Burton JP, Reid G, Okada M, Matsushita Y, et al. Effect of *Streptococcus salivarius* K12 on the *in vitro* growth of *Candida albicans* and its protective effect in an oral candidiasis model. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(7):2190-9.
161. Verma A, Gaffen SL, Swidergall M. Innate Immunity to Mucosal *Candida* Infections. *J Fungi (Basel).* 2017;3(4).
162. Ibrahim M, Subramanian A, Anishetty S. Comparative pan genome analysis of oral *Prevotella* species implicated in periodontitis. *Funct Integr Genomics.* 2017;17(5):513-36.
163. Stefanopoulos PK, Kolokotronis AE. The clinical significance of anaerobic bacteria in acute orofacial odontogenic infections. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(4):398-408.
164. Lukens JR, Gurung P, Vogel P, Johnson GR, Carter RA, McGoldrick DJ, et al. Dietary modulation of the microbiome affects autoinflammatory disease. *Nature.* 2014;516(7530):246-9.
165. Kesavalu L, Bakthavatchalu V, Rahman MM, Su J, Raghu B, Dawson D, et al. Omega-3 fatty acid regulates inflammatory cytokine/mediator messenger RNA expression

- in *Porphyromonas gingivalis*-induced experimental periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(4):232-9.
166. Kos M, Junka A, Smutnicka D, Bartoszewicz M, Kurzynowski T, Gluza K. Pamidronate enhances bacterial adhesion to bone hydroxyapatite. Another puzzle in the pathology of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw? *J Oral Maxillofac Surg.* 2013;71(6):1010-6.
 167. Luo YX, Sun ML, Shi PL, Liu P, Chen YY, Peng X. [Research progress in the relationship between *Veillonella* and oral diseases]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2020;38(5):576-82.
 168. Zhou P, Li X, Qi F. Identification and characterization of a haem biosynthesis locus in *Veillonella*. *Microbiology (Reading).* 2016;162(10):1735-43.
 169. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000.* 2005;38:135-87.
 170. Mawardi H, Giro G, Kajjiya M, Ohta K, Almazrooa S, Alshwaimi E, et al. A role of oral bacteria in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *J Dent Res.* 2011;90(11):1339-45.
 171. Elsayed R, El-Awady A, Cutler C, Kurago Z, Elashiry M, Sun C, et al. Matrix-Bound Zoledronate Enhances the Biofilm Colonization of Hydroxyapatite: Effects on Osteonecrosis. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(11).
 172. Eribe ERK, Olsen I. *Leptotrichia* species in human infections II. *J Oral Microbiol.* 2017;9(1):1368848.
 173. Langfeldt D, Neulinger SC, Stiesch M, Stumpp N, Bang C, Schmitz RA, et al. Health- and disease-associated species clusters in complex natural biofilms determine the innate immune response in oral epithelial cells during biofilm maturation. *FEMS Microbiol Lett.* 2014;360(2):137-43.
 174. Panya S, Fliefel R, Probst F, Troltsch M, Ehrenfeld M, Schubert S, et al. Role of microbiological culture and polymerase chain reaction (PCR) of actinomyces in medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *J Craniomaxillofac Surg.* 2017;45(3):357-63.
 175. Hinson AM, Smith CW, Siegel ER, Stack BC, Jr. Is bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw an infection? A histological and microbiological ten-year summary. *Int J Dent.* 2014;2014:452737.
 176. Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(2):244-69.
 177. Falsetta ML, Klein MI, Colonne PM, Scott-Anne K, Gregoire S, Pai CH, et al. Symbiotic relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* synergizes virulence of plaque biofilms in vivo. *Infect Immun.* 2014;82(5):1968-81.
 178. Hansen T, Kunkel M, Springer E, Walter C, Weber A, Siegel E, et al. Actinomycosis of the jaws--histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis. *Virchows Arch.* 2007;451(6):1009-17.
 179. Lazarovici TS, Yahalom R, Taicher S, Elad S, Hardan I, Yarom N. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a single-center study of 101 patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(4):850-5.
 180. Vescovi P, Nammour S. Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw (BRONJ) therapy. A critical review. *Minerva Stomatol.* 2010;59(4):181-203, 4-13.
 181. Cerrato A, Zanette G, Boccuto M, Angelini A, Valente M, Bacci C. Actinomyces and MRONJ: A retrospective study and a literature review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2021;122(5):499-504.

182. Russmueller G, Seemann R, Weiss K, Stadler V, Speiss M, Perisanidis C, et al. The association of medication-related osteonecrosis of the jaw with *Actinomyces* spp. infection. *Sci Rep*. 2016;6:31604.
183. Bermudez-Bejarano EB, Serrera-Figallo MA, Gutierrez-Corrales A, Romero-Ruiz MM, Castillo-de-Oyague R, Gutierrez-Perez JL, et al. Prophylaxis and antibiotic therapy in management protocols of patients treated with oral and intravenous bisphosphonates. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(1):e141-e9.
184. Zirk M, Kreppel M, Buller J, Pristup J, Peters F, Dreiseidler T, et al. The impact of surgical intervention and antibiotics on MRONJ stage II and III - Retrospective study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2017;45(8):1183-9.
185. Lombard T, Neirinckx V, Rogister B, Gilon Y, Wislet S. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: New Insights into Molecular Mechanisms and Cellular Therapeutic Approaches. *Stem Cells Int*. 2016;2016:8768162.
186. De Ceulaer J, Tacconelli E, Vandecasteele SJ. *Actinomyces* osteomyelitis in bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): the missing link? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(11):1873-80.
187. Eleutherakis-Papaiakovou E, Bamias A. Antiresorptive treatment-associated ONJ. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2017;26(6).
188. Lopes RN, Rabelo GD, Rocha AC, Carvalho PA, Alves FA. Surgical Therapy for Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: Six-Year Experience of a Single Institution. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015;73(7):1288-95.