

HET GEBRUIK VAN BISFOSFONATEN IN DE BEHANDELING VAN ORTHOPEDISCHE AANDOENINGEN BIJ HET PAARD

Aantal woorden: 19745

Stijn Deturck

Studentennummer: 01202272

Promotor: Prof. Dr. Frederik Pille

Promotor: Dr. Kelly Deneut

Onderdeel van de Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de diergeneeskunde

Academiejaar: 2017 – 2018

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

Voorwoord

Voor u ligt de eindverhandeling 'Het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard'. Deze verhandeling maakt deel uit van mijn Masterproef in het kader van mijn afstuderen aan de opleiding Master in de Diergeneeskunde aan de Universiteit Gent. Het schrijven van een verhandeling vergt veel tijd en moeite en de steun van bepaalde mensen is hierbij onontbeerlijk.

Bij deze zou ik graag mijn promotors Prof. Dr. Frederik Pille en Dr. Kelly Deneut willen bedanken voor alle hulp, begeleiding en suggesties die ze mij gegeven hebben tijdens het voltooien van dit werk.

Daarnaast wil ik graag mijn ouders, mijn vriendin Chloë en mijn vrienden bedanken voor alle steun, wijsheid en motiverende woorden die mij geholpen hebben deze verhandeling te schrijven.

Ik wens u veel leesplezier toe.

Stijn Deturck

Inhoudsopgave

Samenvatting.....	5
-------------------	---

Literatuurstudie

1. Inleiding.....	6
1.1 Situering.....	6
1.2 Probleemstelling.....	8
1.3 Doelstelling.....	8
2. De geschiedenis van bisfosfonaten.....	9
3. Chemische structuur.....	11
4. Farmacologische eigenschappen.....	13
4.1 Farmacokinetiek.....	13
4.2 Farmacodynamiek.....	14
4.2.1 Effecten van bisfosfonaten op botweefsel.....	14
4.2.1.1 Effecten op osteoclasten.....	14
4.2.1.2 Effecten op osteoblasten en osteocyten.....	16
4.2.1.3 Effecten op botstructuur en botsterkte.....	18
4.2.2 Effecten van bisfosfonaten op kraakbeen.....	19
4.2.3 Analgetische en anti-inflammatoire effecten van bisfosfonaten.....	20
4.2.4 Niet-skeletale effecten van bisfosfonaten.....	21
5. Het gebruik van bisfosfonaten in orthopedische aandoeningen bij de mens.....	22
5.1 Osteoporose.....	22
5.2 Paget's disease.....	22
5.3 Oncologie.....	23
5.4 Pediatris.....	24
5.5 Osteoarthritis, implantaatfixatie en andere toepassingen.....	24
6. Het gebruik van bisfosfonaten in orthopedische aandoeningen bij het paard.....	25
6.1 Tiludronaat.....	25
6.1.1 Tiludronaat in de behandeling van podotrochlëitis.....	27
6.1.2 Tiludronaat in de behandeling van spat (chronische niet-infectieuze osteoarthritis van de tarsaalgewrichten).....	29
6.1.3 Tiludronaat in de behandeling van vertebrale lesies in de thoraco-lumbale regio.....	30
6.1.4 Tiludronaat in de behandeling van immobilisatie-geïnduceerde osteopenie.....	30
6.1.5 Potentiële toepassingen van tiludronaat.....	31
6.2 Clodronaat.....	31
6.3 Pamidronaat.....	32
6.4 Zoledronaat.....	32
7. Discussie.....	34
8. Conclusie.....	38
9. Referentielijst.....	39

Samenvatting

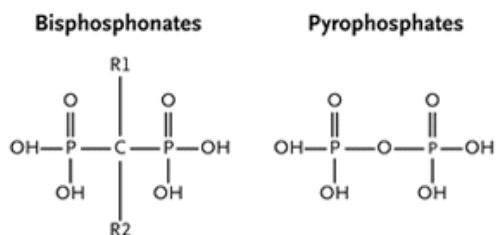
Sedert de bisfosfonaten op de markt kwamen voor gebruik bij het paard, heerst er onder de praktijkdierenartsen nogal wat controverse over hun efficaciteit in de behandeling van orthopedische aandoeningen. Het doel van deze verhandeling is om op een heldere maar kritische manier weer te geven wat er in de wetenschappelijke literatuur te vinden is omtrent het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard. In de humane geneeskunde kent het gebruik van bisfosfonaten een veel langere geschiedenis. Het belangrijkste effect van bisfosfonaten is het verhinderen van osteoclast-gemedieerde botresorptie. Daarnaast werden stimulerende en anti-apoptotische effecten op osteoblasten en osteocyten aangetoond. Omwille van deze eigenschappen worden bisfosfonaten in de humane geneeskunde frequent aangewend ter behandeling van metabole aandoeningen gekenmerkt door verhoogde osteoclast-gemedieerde botresorptie en osteolyse. Verder werd aangetoond dat bisfosfonaten chondroprotectieve, analgetische, anti-inflammatoire, anti-angiogenetische en zelfs anti-parasitaire eigenschappen bezitten. Bisfosfonaten worden bij paarden gebruikt ter behandeling van orthopedische aandoeningen. Voornamelijk de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten clodronaat en tiludronaat worden hiervoor aangewend. De resultaten uit wetenschappelijke studies tonen positieve effecten aan van bisfosfonaten ter behandeling van verschillende orthopedische aandoeningen zoals podotrochlëitis, niet-infectieuze osteoarthritis van de tarsaalgewrichten en immobilisatie-geïnduceerde osteopenie. De huidige studies vertonen echter verschillende tekortkomingen waardoor er op heden geen sluitende conclusies kunnen getrokken worden betreffende hun ware effect alsook efficaciteit in de behandeling van orthopedische aandoeningen. Het gebruik van bisfosfonaten bij paarden lijkt omwille van diverse eigenschappen en werkingsmechanismen wel nog veel toekomstmogelijkheden te hebben. Veel farmacologische eigenschappen zijn echter nog niet onderzocht bij het paard. Daarnaast moet er nog meer aandacht geschonken worden aan mogelijke neveneffecten en tegenindicaties. Meer onderzoek is noodzakelijk om de werkelijke effecten van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen op te helderen alvorens het gebruik bij paarden aan te raden.

1. Inleiding

1.1 Situering

Sinds de eerste syntheses in de 19^{de} eeuw (Menschutkin, 1865) worden bisfosfonaten voor allerlei toepassingen gebruikt. Oorspronkelijk werden de bisfosfonaten vooral gebruikt in industriële processen zoals het ontharden van water, inhiberen van corrosie, alsook als complexvormend agens in onder andere de olie- en meststoffenindustrie. (Blomen, 1995) Sinds 1960 worden bisfosfonaten ook aangewend in de humane geneeskunde. Bijgevolg is de kennis omtrent werkingsmechanisme, toepassingsmogelijkheden alsook het aantal nieuwe preparaten sindsdien fors toegenomen. De laatste twee decennia groeit de interesse in het gebruik van bisfosfonaten ook in de diergeneeskunde en dan vooral in toepassingen bij de kleine huisdieren en het paard.

Bisfosfonaten worden gekarakteriseerd door hun gemeenschappelijk P-C-P skelet dat instaat voor de sterke affiniteit met hydroxyapatiet in botweefsel. De PO₃-groepen (fosfonaat-groepen) zijn covalent gebonden aan het centraal koolstofatoom. De zijketens, R1 en R2 op de figuur, zijn verantwoordelijk voor de specifieke eigenschappen. Zowel de korte zijketen R1 als de lange zijketen R2 bepalen mede de chemische eigenschappen. De lange zijketen R2 bepaalt onder meer nog de therapeutische sterkte en de bindingscapaciteit met hydroxyapatiet. De korte zijketen bepaalt verder de farmacokinetische eigenschappen. (Russell, 2006)



Figuur 1: het gemeenschappelijke P-C-P skelet met zijketens R1 en R2 alsook de structurele vergelijking met pyrofosfaat¹

Als stabiele analogen van het lichaamseigen pyrofosfaat, een van nature voorkomende regulator van calcificatieprocessen in zachte weefsel en botmineralisatie, werden de bisfosfonaten in de humane geneeskunde eerst naar voor geschoven als geneesmiddel ter preventie van ectopische calcificatie in bloedvaten, huid en nieren. (Fleisch et al, 1968) Niet veel later werd vastgesteld dat de bisfosfonaten ook het oplossen van hydroxyapatietkristallen kunnen tegengaan (Russell et al, 1970). Volgens Graham en Russell (2006) “waarschijnlijk de belangrijkste stap in de richting van toekomstig gebruik van bisfosfonaten”. Talrijke studies werden reeds uitgevoerd om hun inhiberend effect op botresorptie aan te tonen, de op heden belangrijkste indicatie van de bisfosfonaten. Verder zouden bisfosfonaten ook nog chondroprotectieve, analgetische, anti-inflammatoire, anti-angiogenetische en zelfs antiparasitaire

¹ Terug te vinden op: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bisphosphonate_basic_structure.png (laatst geconsulteerd in mei 2018)

eigenschappen hebben. (Graham en Russell, 2006; Soto en Barbarà, 2014) Naarmate het onderzoek omtrent werkingsmechanisme vorderde, werd duidelijk dat de bisfosfonaten een belangrijke invloed hebben op specifieke biochemische processen in de osteoclasten welke instaan voor de resorptie van botweefsel. Op basis van dit specifieke werkingsmechanisme kunnen twee grote groepen bisfosfonaten onderscheiden worden: de eenvoudige, niet-stikstofbevattende bisfosfonaten en de meer potente stikstofbevattende bisfosfonaten. (Graham en Russell, 2006)

Enkele frequent aangewende bisfosfonaten:

Niet-stikstofbevattende bisfosfonaten	Stikstofbevattende bisfosfonaten
• <i>Etidronaat</i> • <i>Tiludronaat</i> • <i>Clodronaat</i>	• <i>Neridronaat</i> • <i>Olpadronaat</i> • <i>Alendronaat</i> • <i>Ibandronaat</i> • <i>Risedronaat</i> • <i>Zoledronaat</i> • <i>Pamidronaat</i>

(Naar: Graham en Russell, 2006)

In de humane geneeskunde hebben bisfosfonaten hun plaats al veroverd in de therapie van talrijke aandoeningen. Onder meer in de behandeling van osteoporose wordt het gebruik van bisfosfonaten als gouden standaard aanzien. Andere aandoeningen waarbij bisfosfonaten frequent worden ingezet zijn onder meer de ziekte van Paget (Singer et al, 1998), metastaserende bottumoren (Ross et al, 2004) en multipel myeloom (Paterson et al, 1983). Verder, en wellicht meer van belang voor deze verhandeling, worden bisfosfonaten ook soms ingezet in de behandeling van osteo-articulaire aandoeningen. Tegenwoordig worden in de humane geneeskunde voornamelijk de stikstofbevattende bisfosfonaten aangewend vanwege hun hogere potentie om botresorptie tegen te gaan.

Het gebruik van bisfosfonaten bij het paard kent een veel kortere geschiedenis in vergelijking met deze uit de humane geneeskunde. Pas in 2002 werd in Frankrijk voor het eerst een preparaat met dinatriumtiludronaat (Tildren, Ceva Animal Health LLC) geregistreerd voor gebruik bij het paard. Gezien Tildren lange tijd het enige geregistreerde diergeneesmiddel ter beschikking was (niet geregistreerd in België) werden de meeste studies bij het paard uitgevoerd met tiludronaat. In 2014 kreeg dinatriumclodronaat (Osphos, Dechra Veterinary Products) een marktlicentie als diergeneesmiddel voor paarden. Op heden is Osphos het enige geregistreerde preparaat in België.² Verder werden ook experimentele studies uitgevoerd bij het paard met pamidronaat (De Simone et al, 2015) en zoledronaat. (Katzman et al, 2012; Nieto et al, 2013)

De voornaamste orthopedische indicaties bij het paard voor het gebruik van bisfosfonaten zijn podotrochleïtis (Denoix et al, 2003; Whitfield et al, 2016) en niet-infectieuze osteoartritis van de kleine tarsaalgewrichten, ook wel 'spat' genoemd. (Gough et al, 2010) Soto en Barbarà (2014) suggereren dat ook enthesopathie van de m. interosseus medius, subchondrale botcysten en osteoartritis van het axiale skelet potentiële indicaties zijn voor het gebruik van bisfosfonaten.

² <http://www.cbip-vet.be/nl/texts/NLOCOOL1AL2o.php> (laatst geconsulteerd in mei 2018)

1.2 Probleemstelling

Sedert de bisfosfonaten op de markt kwamen voor gebruik bij het paard heerst er onder de praktijkdierenartsen nogal wat controverse over hun efficaciteit in de behandeling van orthopedische aandoeningen.³ Ondanks de toegenomen interesse uit de praktijk en de recente registratie en op de markt komen van een nieuw preparaat (Osphos, Dechra Veterinary Products) is er relatief weinig kennis en wetenschappelijk bewijs omtrent het gebruik van bisfosfonaten bij het paard. In wetenschappelijke databanken zoals Pubmed⁴ en Web of Science⁵ leveren doorgedreven zoekopdrachten betreffende het gebruik van bisfosfonaten bij het paard hooguit enkele tientallen relevante artikels op.

Dit staat in schril contrast met de reeds verzamelde kennis in de humane geneeskunde. Zoals hoger vermeld kent het gebruik van bisfosfonaten bij de mens een veel langere geschiedenis. Ook het aantal publicaties, boeken, reviewartikels, etc. die de chemische en farmacologische eigenschappen alsook de klinische applicaties van de bisfosfonaten weergeven is vele malen groter dan in de diergeneeskunde. Het spreekt dus voor zich dat een deel van deze kennis nuttig kan zijn in het verder doorgronden van werkingsmechanismes, effecten en toepassingen bij het paard. Het is van groot belang hierbij op te merken dat de belangrijkste indicaties voor het gebruik van bisfosfonaten in de humane geneeskunde duidelijk verschillen met deze bij het paard. Waar bij het paard voornamelijk osteo-articulaire aandoeningen in aanmerking komen, zien we bij de mens voornamelijk metabole stoornissen en indicaties in de oncologie naar voor geschoven. Ook de interspecies barrière mag niet zomaar opzij geschoven worden en kritisch nagaan of informatie vergaard in de humane geneeskunde zomaar geëxtrapoleerd kan worden naar het paard is zeker noodzakelijk.

1.3 Doelstelling

Het doel van deze verhandeling is om op een heldere maar kritische manier weer te geven wat er in de wetenschappelijke literatuur te vinden is omtrent het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard. Hierbij zullen aspecten zoals de chemische en farmacologische eigenschappen van verschillende soorten bisfosfonaten besproken worden. Specifieke orthopedische aandoeningen zullen aan bod komen alsook de rol bisfosfonaten spelen in hun behandeling. Wegens het gelimiteerd aantal publicaties bij het paard zal ook een parallel getrokken worden met orthopedische aandoeningen bij de mens doch steeds de verschillen tussen beide species indachtig. Overigens zullen verschillende toedieningsmethodes evenals praktisch gebruik behandeld worden. Tot slot zal er aandacht zijn voor veiligheid en mogelijke bijwerkingen.

³ Persoonlijke communicatie met Prof. Dr. Frederik Pille en Dr. Kelly Deneut, Vakgroep Heelkunde en anesthesie van de huisdieren, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, 2017-2018

⁴ Terug te vinden op: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> (laatst geconsulteerd in mei 2018)

⁵ Terug te vinden op: http://apps.webofknowledge.com/WOS_GeneralSearch_input.do;jsessionid=DF3AE69C318664BE0676EA6F44529BEE?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=N1OlauWAcW99NQrCFOc&preferencesSaved (laatst geconsulteerd in mei 2018)

2. De geschiedenis van bisfosfonaten

Sedert hun eerste synthese in 1865 (Menschutkin, 1865) worden bisfosfonaten door de mens gebruikt voor allerlei toepassingen. Het duurde echter lang tot wanneer de biologische en medische eigenschappen van deze moleculen werden ontdekt. In de jaren '30 werd ontdekt hoe polyfosfaten de kristallisatie van calciumzouten zoals calciumcarbonaat tegen gaan. Die vaststelling zette fysioloog Herbert Fleish in 1960 aan het denken. Hij was er van overtuigd dat het lichaam een soort "endogene waterverzachter" moest bezitten om calcificatieprocessen in het lichaam tegen te gaan. (Fleish en Neuman, 1961) Het onderzoek naar deze "endogene waterverzachter" schoof in 1962 het anorganisch pyrofosfaat naar voor als een lichaamseigen molecule die voorkomt in serum en urine en die door vroegtijdig te binden aan hydroxyapatietkristallen calcificaties kan voorkomen. (Fleisch en Bisaz, 1962) Toen duidelijk werd dat het voorkomen van ectopische calcificaties bij proefdieren uitsluitend via parenterale toediening van pyrofosfaat mogelijk was, ging men op zoek naar stabielere analogen die wel via orale weg actief waren. (Russell, 2006; Schibler et al., 1968) Zo werden verschillende P-N-P en P-C-C-P bevattende moleculen getest waaronder de toenmalige difosfonaten (Russell, 2006). Deze difosfonaten werden later bisfosfonaten genoemd en zo begon het onderzoek naar de biologische en medische eigenschappen van deze veelzijdige moleculen.

Doordat bisfosfonaten na orale toediening wel succesvol bleken in het in vivo onderdrukken van experimenteel uitgelokte pathologische calcificatieprocessen bij ratten, werd besloten verder onderzoek te voeren. (Fleish et al, 1970) Zo werd verder nog ontdekt dat sommige bisfosfonaten zoals etidronaat ook de mineralisatie van normale gecalcificeerde weefsels, zoals been en kraakbeen, kunnen verhinderen. (Schenk et al., 1973)

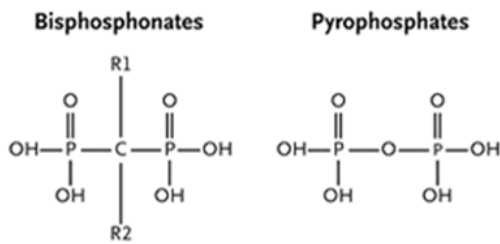
De eigenschappen die als eerste werden ontdekt en beschreven bleken achteraf zeker niet de belangrijkste. Zoals Russell et al. (2006) vermelden "was de belangrijkste stap tot het toekomstig gebruik van bisfosfonaten de ontdekking dat net zoals pyrofosfaat, ook de bisfosfonaten de ontbinding van hydroxyapatietkristallen kunnen tegengaan". In de beginjaren werden testen op celculturen uitgevoerd. Niet veel later vonden experimenten plaats op gezonde dieren alsook op proefdieren waarbij kunstmatig verhoogde beenderresorptie werd geïnitieerd. Zo werd bij geparatyroidectomiseerde ratten de beenderresorptie kunstmatig verhoogd door toediening van een synthetisch retinoïde. Toediening van bisfosfonaten kon dit proces tegengaan en de osteoclast-geïnduceerde beenderresorptie aanzienlijk verminderen. (Stutzer et al., 1988; Trechsel et al., 1987) Later werd aangetoond dat ook botresorptie, veroorzaakt door toediening van calcitriol, vitamine D en andere retinoïden, kon worden tegengegaan door het gebruik van bisfosfonaten. Om de potentie van de verschillende bisfosfonaten na te gaan werden verschillende modellen opgesteld. Zo vergelijkt het "Schenk-model" de vorm en de radiologische densiteit van de metafyse bij groeiende ratten na toediening van verschillende bisfosfonaten. (Schenk et al., 1986) Andere modellen maken gebruik van ⁴⁵Ca-isotopen en biochemische merkers om de graad van inhibitie op de beenderresorptie na te gaan. (Gasser et al., 1972) Ook werden heel wat diervormen van humane ziekten zoals osteoporose en Paget's disease opgesteld om de efficaciteit in het verhinderen van botresorptie na te gaan. (Muhlbauer et al., 1971; Russell, 2006)

Op heden zijn er talloze publicaties, boeken, reviewartikels, etc. die de chemische en farmacologische eigenschappen alsook de klinische applicaties van de bisfosfonaten beschrijven. De eerste wetenschappelijke artikels die het gebruik van bisfosfonaten bij het paard beschrijven verschenen in het begin van de jaren 2000. (Denoix et al., 2003; Varela et al., 2001) De kennis die op heden in de humane

geneeskunde is verworven is vele malen groter dan de kennis in de diergeneeskunde. Ook blijken er verschillen te zijn tussen de indicaties voor het gebruik van de bisfosfonaten in de humane geneeskunde en het gebruik in de diergeneeskunde. Toch kan de kennis verworven in de humane geneeskunde heel wat bijbrengen in het doorgronden van de werking, de effecten en toepassingen bij het paard. Hier zal verder in deze verhandeling nog aandacht aan worden gegeven.

3. Chemische structuur

Bisfosfonaten ((HO)₂P(O)CR₁R₂P(O)(OH)₂) worden gekarakteriseerd door hun gemeenschappelijk P-C-P skelet dat instaat voor de sterke affiniteit met hydroxyapatiet in botweefsel. De PO₃-groepen (fosfonaat-groepen) zijn covalent gebonden aan het centraal koolstofatoom. Naast dit gemeenschappelijk P-C-P skelet bezitten alle bisfosfonaten nog twee zijketens, respectievelijk R₁ en R₂ op onderstaande figuur. Op onderstaande figuur wordt de vergelijking tussen de basisstructuur van bisfosfonaten en de chemische structuur van pyrofosfaat gemaakt. Bisfosfonaten zijn synthetische analogen van pyrofosfaat waarbij het zuurstofatoom tussen de fosfonaatgroepen vervangen werd door een koolstofatoom met daaraan twee zijketens (R₁ en R₂).



Figuur 1: het gemeenschappelijke P-C-P skelet met zijketens R₁ en R₂ alsook de structurele vergelijking met pyrofosfaat⁶

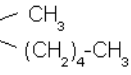
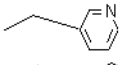
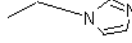
Al vroeg was men er zich van bewust dat de P-C-P structuur noodzakelijk is voor het binden aan hydroxyapatiet. Wanneer monofosfaten of moleculen met P-C-C-P of P-N-P verbindingen gebruikt werden kon geen inhibitie van botresorptie worden bekomen. (Nancollas et al., 2006; Russell et al., 1970; Russell, 2011) Er werd verondersteld dat de fysieke binding aan hydroxyapatiet de resorptie van botweefsel tegen gaat. Toch bleek uit verschillende studies dat de inhibitie op de botresorptie slechts gedeeltelijk kon verklaard worden door de fysicochemische eigenschappen van bisfosfonaten. Het werd al snel duidelijk dat er ook cellulaire mechanismen aan de basis van deze eigenschap moeten liggen.

In de jaren '60 werd met etidronaat voor het eerst een bisfosfonaat gebruikt voor medische doeleinden bij de mens. Niet veel later werd naast etidronaat, ook clodronaat ingezet voor medische doeleinden. (Fleisch et al., 1969; Francis et al., 1969) Graham en Russell (2011) vermelden dat men zo tot het inzicht kwam dat wanneer de R₁ zijketen een hydroxylgroep bevat (zoals in etidronaat) in plaats van een halogeenatoom (zoals chloor in clodronaat), de binding van bisfosfosfonaten aan hydroxyapatietkristallen sterker is. Ook het verhinderen van zowel kristalgroei als -dissolutie zou beter zijn indien de R₁-zijketen een hydroxylgroep bevat. Deze verbeterde eigenschappen zouden te verklaren zijn doordat bisfosfonaten die een hydroxylgroep bevatten, sterker kunnen binden aan botweefsel vanwege hun driedubbele binding aan calciumionen. Dit in tegenstelling tot halogeenatomen die slechts een dubbele binding kunnen bewerkstelligen. (Russell et al., 1970)

⁶ Terug te vinden op: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bisphosphonate_basic_structure.png (laatst geconsulteerd in mei 2018)

In de jaren '70 en '80 werd heel intensief gezocht naar nieuwe en meer potente bisfosfonaten. Er werden moleculen gesynthetiseerd waarbij de R1 keten onveranderd bleef (namelijk een hydroxylgroep zoals o.a. bij etidronaat, zie figuur 2) maar telkens de R2 keten werd aangepast. Hoewel de exacte functie van het stikstofatoom nog niet helemaal duidelijk was, werd al snel duidelijk dat deze een belangrijke rol speelt wat betreft de potentie tot het inhiberen van botresorptie. Zo kwam men tot de vaststelling dat wanneer de R2 keten een primair stikstofatoom in een alkyl-keten bevat (zoals bij pamidronaat en alendronaat, zie figuur 2), de potentie 10 tot 100 keer hoger is dan deze van etidronaat en clodronaat. (Russell, 2011)

Verder onderzoek naar meer potente bisfosfonaten berustte in de jaren '80 vrijwel altijd op 'trial and error'. Wanneer in de R2 keten een tertiair stikstofatoom werd toegevoegd bleken deze bisfosfonaten superieur in het inhiberen van botresorptie. (Papapoulos et al., 1989) De meest potente inhibitoren van botresorptie zijn echter de bisfosfonaten die een stikstofatoom bevatten binnenin een heterocyclische ring. Zo werden o.a. risedronaat (Goa en Balfour, 1998) en zoledronaat (Green et al., 1994) ontwikkeld, de op heden meest potente bisfosfonaten. In sommige experimenten bleken deze tot 10.000 keer krachtiger dan etidronaat. (Russell, 2006)

Agent	R ₁ side chain	R ₂ side chain
Etidronate	-OH	-CH ₃
Clodronate	-Cl	-Cl
Tiludronate	-H	-S- 
Pamidronate	-OH	-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
Neridronate	-OH	-(CH ₂) ₅ -NH ₂
Olpadronate	-OH	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂
Alendronate	-OH	-(CH ₂) ₃ -NH ₂
Ibandronate	-OH	-CH ₂ -CH ₂ N- 
Risedronate	-OH	
Zoledronate	-OH	

Figuur 2: de zijketens R1 en R2 van verschillende courant gebruikte bisfosfonaten⁷

⁷ Terug te vinden op:

https://en.wikipedia.org/wiki/Bisphosphonate#/media/File:Bisphosphonate_side_chains.png (laatst geconsulteerd in mei, 2018)

4. Farmacologische eigenschappen van bisfosfonaten

4.1 Farmacokinetiek

Bisfosfonaten komen van nature niet voor in dieren noch mensen. Het zijn synthetisch-organische structuren met een uitgesproken affiniteit voor botweefsel. Bisfosfonaten kunnen zowel via orale als parenterale weg worden toegediend.

Tijdens de beginjaren van het wetenschappelijk onderzoek was de mogelijkheid tot orale opname een belangrijke en motiverende factor in het verder onderzoek naar de bisfosfonaten. De biologische beschikbaarheid na orale toediening is echter meestal erg laag. (Russell, 2011) De biologische beschikbaarheid van de meest frequent aangewende bisfosfonaten ligt rond de 0.7% (Cremers et al., 2005) met enkele uitzonderingen tot 5 à 7 %. (Russell, 2011) Op heden zijn er geen transporteiwitten bekend en men gaat er van uit dat de opname op paracellulair transport berust en dit over de volledige lengte van het spijsverteringsstelsel. (Porrás et al., 1999) Het toevoegen van een EDTA-preparaat zou de biologische beschikbaarheid verhogen. Dit kan verklaard worden door een verandering in mucosale permeabiliteit alsook doordat EDTA optreedt als chelator van calcium en dit de beschikbaarheid van de bisfosfonaten zou verhogen. (Janner et al., 1991) Op heden zijn er uitsluitend in de humane geneeskunde enkele preparaten die oraal kunnen worden toegediend. In de diergeneeskunde moet men zich op dit moment behelpen met parenterale preparaten voor intramusculaire en intraveneuze toediening.

Tussen de bisfosfonaten bestaat een verschil in affiniteit voor hydroxyapatietkristallen. Preparaten met een hoge affiniteit worden sneller opgenomen door botweefsel. Deze hoge affiniteit zorgt er echter ook voor dat preparaten met hoge bindingsneiging minder diep doordringen in het botweefsel en dus voornamelijk aan de oppervlakte hun effect op de cellen kunnen uitoefenen. Bisfosfonaten met een lagere botaffiniteit verdelen zich dan weer op meer gelijkmatige basis doorheen het botweefsel. (Turek et al., 2012) Dit kan van belang zijn in de keuze van het aan te wenden preparaat wanneer men eerder corticaal dan wel trabeculair botweefsel als target voor ogen heeft. Na opname door het bot worden de bisfosfonaten terug vrijgesteld in het bloed door fysicochemische en osteoclast-gemedieerde afbraak. (Cremers et al., 2005) Later worden deze opnieuw opgenomen door botweefsel, een proces dat 'reattachment' wordt genoemd. Bisfosfonaten met hoge bindingsneiging hebben een hogere 'reattachment'-ratio in vergelijking met bisfosfonaten met lage bindingsneiging. (Nancollas et al., 2006) Soto en Barbara (2014) vermelden dat bisfosfonaten met hoge affiniteit voor bot, op die manier continue worden 'gerecycleerd'. Dit zou verklaren waarom preparaten zoals zoledronaat en alendronaat nog gedurende lange tijd na een eenmalige toediening worden teruggevonden in plasma en urine. Omwille van hun langdurige aanwezigheid in botweefsel en het recyclageproces dat zich voordoet, zijn de halfwaardetijden van bisfosfonaten op heden nog niet gekend.

De belangrijkste uitscheiding van bisfosfonaten gebeurt via de nieren. Miller (2011) concludeerde dat de renale clearance zowel via glomerulaire filtratie als via proximale tubulaire secretie geschiedt. Bij proefdieren die met hoge dosissen behandeld werden, zag men glomerulaire sclerose en tubulaire necrose. (Miller, 2011) Deze dosissen overschreden echter ruim de gebruikelijke dosis en deze werden ook veel sneller toegediend als normaal.

Bisfosfonaten zijn hitteresistent en chemisch stabiel. Verder zijn ze niet gevoelig aan chemische en enzymatische hydrolyse. (Soto en Barbara, 2014) Dit maakt dat er met uitzondering van enkele niet-

stikstofbevattende bisfosfonaten, geen metabolisatie optreedt naar inactieve vormen en er geen metabolieten in de urine worden teruggevonden. (Russell, 2011)

Een belangrijk principe in het gebruik van bisfosfonaten is het 'total dose principle'. Dit wil zeggen dat de totale toegediende dosis de determinerende factor is wat betreft de graad van inhibitie op de botresorptie. Zo kon men in verschillende studies aantonen dat een eenmalige toediening van een grote hoeveelheid bisfosfonaten eenzelfde effect had als het meerdere malen toedienen van een kleinere dosis. (Bauss en Russell, 2004; Gasser et al., 2008) Dit schept de mogelijkheid tot intermitterende toedieningsschema's die de toediening makkelijker en toegankelijker maken en zo de therapietrouw verbeteren.

4.2 Farmacodynamiek

4.2.1 Effecten van bisfosfonaten op botweefsel

Door de uitgesproken selectiviteit van bisfosfonaten voor minerale oppervlakken zoals hydroxyapatiet-kristallen, uiten de grootste en belangrijkste effecten zich voornamelijk in botweefsel. Deze selectiviteit is dan ook de basis voor het veelvuldig aanwenden van deze groep medicijnen in de behandeling van botgerelateerde aandoeningen bij mens en dier. Na migratie uit de bloedsomloop worden bisfosfonaten opgenomen door botweefsel. Hieronder zal eerst het effect van bisfosfonaten op de verschillende botcellen (osteoclasten, osteoblasten en osteocyten) besproken worden om dan verder de effecten op het bot als orgaan te behandelen.

4.2.1.1 Effecten op osteoclasten

De hoogste concentraties aan vrije mineralen uit botweefsel zijn aanwezig op plaatsen met verhoogde resorptie. Bijgevolg zijn hier ook de hoogste concentratie aan bisfosfonaten te vinden. Osteoclasten zijn massaal aanwezig zijn in deze zones met verhoogde resorptie. Het zijn dan ook deze cellen die aan de hoogste concentraties bisfosfonaten worden blootgesteld. (Azuma et al., 1995; Masarachia et al., 1996) Na de adhesie aan botweefsel worden bisfosfonaten tijdens de resorptiefase via endocytose opgenomen door osteoclasten. (Sato et al., 1991) Na de opname en vorming van intracellulaire vacuoles door osteoclasten, oefenen de bisfosfonaten hun inhiberend effect op de botresorptie via verschillende mechanismes uit. Zo werken ze in op de rekrutering, differentiatie en antiresorptieve eigenschappen van osteoclasten. (Flanagan en Chambers, 1989; Russell, 2011) Verder wordt ook de inductie van apoptose frequent waargenomen na toediening van bisfosfonaten. (Selander et al., 1996) Ten slotte lijken sommige bisfosfonaten effect te hebben op het cytoskelet van de osteoclast. Normaal bevatten osteoclasten instulpingen van de cytoplasmatische membraan gericht naar de resorptieholte. Deze zone met instulpingen wordt ook wel de gegolfde rand of 'ruffled border' genoemd. De gegolfde rand bevat protonpompen die voor een zuur micromilieu zorgen dat op zijn beurt verantwoordelijk is voor de afbraak van de hydroxyapatietkristallen. (Nakamura et al., 2012) Bij osteoclasten die blootgesteld werden aan bisfosfonaten verdween deze gegolfde rand. Dit zorgt voor het typische 'gladde' uitzicht van met bisfosfonaten behandelde osteoclasten. (Murakami et al., 1995)

Bisfosfonaten oefenen hun grootste effect uit op mature osteoclasten. Aangezien mature osteoclasten gevormd worden uit mononucleaire precursoren afkomstig van haematopoëtische origine, suggereert Russell (2011) dat ook het verhinderen van de vorming van deze mature osteoclasten een mogelijk mechanisme is waarop bisfosfonaten de resorptie van botweefsel tegen gaan.

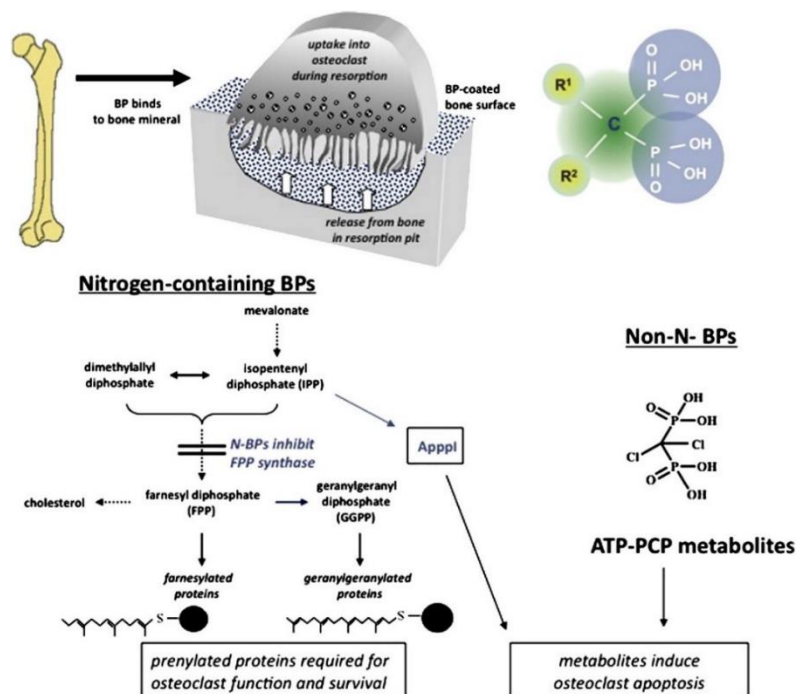
Op basis van hun werkingsmechanisme kunnen de bisfosfonaten worden onderverdeeld in twee grote groepen. Het al dan niet aanwezig zijn van een stikstofatoom heeft een belangrijke invloed op de activiteit en het bijhorend werkingsmechanisme van bisfosfonaten. Gebaseerd op de aanwezigheid van dit stikstofatoom wordt een onderscheid gemaakt tussen de niet-stikstofbevattende en de stikstofbevattende bisfosfonaten.

Werkingsmechanisme van niet-stikstofbevattende bisfosfonaten

Preparaten zoals etidronaat, tiludronaat en clodronaat behoren tot de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten. Door hun structurele gelijkenis met pyrofosfaat worden deze na opname door de osteoclast metabool geïncorporeerd in niet-hydrolyseerbare ATP-analogen door het inwerken op enzymen zoals de aminoacyl-tRNA synthetasen. (Russell, 2011) Hierdoor bevatten de ATP-moleculen een P-C-P verbinding op de plaats waar normaal een β,γ -fosfaatgroep zit. (Rogers et al., 1996) Dit niet-hydrolyseerbaar ATP-analoog wordt ook wel cytotoxisch ATP genoemd. (Frith et al., 1997) Door de opstapeling van dit cytotoxisch ATP worden verschillende intracellulaire enzymen zoals mitochondriale ATP translocases geremd. (Lehenkari et al., 2002) Dit heeft nadelige gevolgen voor de osteoclast met uiteindelijk het induceren van apoptose. Het kan dus gesteld worden dat de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten fungeren als prodrug en via de opstapeling van schadelijke metabolieten apoptose veroorzaken.

Werkingsmechanisme van stikstofbevattende bisfosfonaten

Stikstofbevattende bisfosfonaten zoals zoledronaat, risedronaat, pamidronaat, etc. hebben een verschillend werkingsmechanisme als dat van de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten. De stikstofbevattende bisfosfonaten werken in op de mevalonaat-pathway. (Amin et al., 1992) Zoals weergegeven in figuur 3 is de mevalonaat-pathway verantwoordelijk voor de productie van cholesterol, isoprenoïden alsook farnesylidifosfaat (FPP) en geranylgeranyldifosfaat (GGPP). (Russell, 2011)



Figuur 3: de cellulaire en biochemische werkingsmechanismen van bisfosfonaten (Uit: Russell, 2011)

Stikstofbevattende bisfosfonaten treden op als substraatanalogen tijdens het productieproces van FPP door FPP-synthase en verhinderen zo de vorming van dit peroxisomaal enzyme. Wanneer de vorming van FPP verhinderd wordt, komt ook de prenylering van kleine GTP-ases zoals Rab, Ras, Rho en Rac in het gedrang. (Ridley en Hall, 1992) FPP treedt namelijk op als post-translationele modifier voor deze GTP-ases waardoor deze kunnen verankeren in de celmembraan. Door eiwit-eiwit interactie dragen deze GTP-ases bij tot belangrijke functies in de osteoclast zoals cel-morfologie, organisatie van het cytoskelet, vorming van de gegolfde membraan, transport van vesikels en apoptose. (Marshall, 1993; Ridley et al., 1992; Zhang et al., 1995) Wanneer door toedoen van bisfosfonaten deze prenylering verhinderd wordt, stapelen niet-geprenyleerde vormen zich op. Deze opstapeling van niet-functionele GTP-ases in combinatie met een tekort aan functionele vormen zorgt voor een blokkade van intracellulaire processen in de osteoclast met een verstoorde functie tot gevolg. (Rogers et al., 2011) Wanneer stikstofbevattende bisfosfonaten binden aan FPP-synthase zorgt dit voor een conformatieverandering waardoor een tweede substraat, genaamd IPP, kan binden. Dit heeft als gevolg de vorming van een stabiel bisfosfonaat-FPPS-inhiberend complex. Dit proces is nog meer uitgesproken bij stikstofbevattende bisfosfonaten die een heterocyclische ring bevatten in vergelijking met de alkyl-amino-bisfosfonaten. (Russell, 2011)

Het verschil in potentie tussen deze groepen maakt dat sommige auteurs de stikstofbevattende bisfosfonaten verder opdelen in de heterocyclische bisfosfonaten (zoals risedronaat en zoledronaat) en de alkyl-amino bisfosfonaten (zoals alendronaat, pamidronaat, ibandronaat en olpadronaat). Verder is het beschreven dat alkyl-amino bisfosfonaten ook opgenomen worden door perifere bloedcellen en dan voornamelijk monocyten. (Sanders et al., 2004) Na opname verhinderen deze bisfosfonaten ook het FPP-synthase met opstapeling van IPP tot gevolg. Hoe het IPP wordt vrijgesteld uit de monocyten is niet geweten maar IPP blijkt een ligand te zijn voor een receptor voorkomend op TCR- γ /6 dragende T-cellen. Deze T-cellen stellen na stimulatie TNF- α vrij met al gevolg een pro-inflammatoire acute fase reactie. (Sanders et al., 2004; Thompson en Rogers, 2004) Dit kan de voorbijgaande milde koorts verklaren die soms wordt waargenomen na het eerste (voornamelijk intraveneuze) contact met deze bisfosfonaten. (Soto en Barbara, 2014)

4.2.1.2 Effecten op osteoblasten en osteocyten

In de jaren '90 van de vorige eeuw werd door enkele onderzoekers gesuggereerd dat een deel van het inhiberend effect van bisfosfonaten op de functie van osteoclasten wordt veroorzaakt door een voorafgaande stimulatie van osteoblasten. In een in vitro studie op osteoclasten afkomstig van ratten, zag men een hogere inhibitie van de botresorptie (in dit geval een ivoren substraat) wanneer osteoblasten van het CRP 10/30-type aan de cultuur werden toegevoegd. (Sahni et al., 1993) In een andere in vitro studie bleek het toevoegen van pamidronaat en alendronaat aan een celcultuur de osteoclastogenese niet te verhinderen. Na toediening van bisfosfonaten in combinatie met de aanwezigheid van osteoblasten kon de osteoclastogenese wel verhinderd worden. (Nishikawa et al., 1996)

Op heden wordt er steeds meer aandacht gegeven aan de stimulerende werking van bisfosfonaten op osteoblasten. In vitro studies suggereren dat bisfosfonaten een mitogeen effect hebben op osteoblasten. Zo werd in 1998 door Giuliani et al. een verhoogde vorming van osteoblastprecursoren en gemineraliseerde nodules waargenomen in humane en murine celculturen waaraan bisfosfonaten werden toegevoegd. In diezelfde studie werd ook bij proefdieren het stimulerend effect op de osteoblastogenese nagegaan. (Giuliani et al., 1998) Zo werden zowel jonge als oude muizen behandeld met alendronaat en etidronaat in verschillende concentraties. Na 1 maand werden biopten genomen en werd een duidelijke

toename aan jonge osteoblastprecursoren waargenomen. Dit effect was het meest uitgesproken in de groepen die met lage concentraties werden behandeld. In een studie waar het effect van bisfosfonaten op beencelculturen werd bestudeerd, kwam men tot de conclusie dat de maturatie van osteoprogenitorcellen tot osteoblasten bevorderd werd na toediening van alendronaat en risedronaat aan deze celculturen. (Im et al., 2004)

Het stimulerende effect van bisfosfonaten op de osteoblastogenese is afhankelijk van de concentratie. Zo zorgen lage concentraties (10^{-9} tot 10^{-6} M, afhankelijk van het aangewende preparaat) voor een verhoogde osteoblastogenese en hoge concentraties ($> 10^{-5}$ M) eerder voor een verminderde osteoblastogenese. (Kim et al., 2009; Maruotti et al., 2012; Orriss et al., 2009)

Mathov (2001) suggereert dat dit mitogeen effect toe te schrijven is aan de invloed die bisfosfonaten hebben op calcium kanalen en extracellulair signaal-gereguleerde kinases aanwezig in osteoblasten. (Mathov et al., 2001) Andere studies doen vermoeden dat bisfosfonaten zorgen voor een verhoogde secretie van osteoprotegerine (OPG) en een verlaagde expressie van transmembranaire RANKL proteïnen bij osteoblasten en aanverwante cellen. (Pan et al., 2004; Viereck et al., 2002) De verhoogde OPG-secretie zou volgens Viereck (2002) te wijten zijn aan een verhoogde OPG-genexpressie. Pan et al. (2004) geven aan dat ze bij hun studie op humane osteoblasten deze verhoogde genexpressie niet waargenomen hebben maar geven als verklaring voor de verminderde expressie van transmembranaire RANKL-eiwitten de splitsing van deze transmembranaire RANKL-eiwitten door het TNF-Alpha convertend enzyme (TACE). De opregulatie van dit TNF-Alpha convertend enzyme zou geïnitieerd worden door de toediening van bisfosfonaten. De splitsing van deze transmembranaire RANKL eiwitten zou zich ook in osteoclasten kunnen voordoen. De bisfosfonaat-geïnduceerde opregulatie van TACE in osteoblasten is volgens Pan et al., 2004 dan ook het osteoclast-inhiberend effect (zoals hierboven kort aangehaald) dat uitgaat van osteoblasten die voordien werden blootgesteld aan bisfosfonaten. Daarnaast is het bovenstaand beschreven OPG/RANK/RANKL-eiwitsysteem verantwoordelijk voor de (re)modellering van botweefsel via het uitoefenen van biologische effecten op osteoblasten en osteoclasten. Het is dus door manipulatie van dit OPG/RANK/RANKL-eiwitsysteem dat bisfosfonaten een effect kunnen uitoefenen op (re)modelleringprocessen in botweefsel. (Tyrovola, 2015)

Naast het stimulerend effect op de osteoblastogenese hebben bisfosfonaten ook nog een anti-apoptotisch effect op osteocyten en osteoblasten. (Abe et al., 2000; Plotkin et al., 2008; Plotkin et al., 1999) Zoals beschreven door Bellido en Plotkin, 2011 “zou de expressie van ‘connexin 43 hemichannels’ op de celmembranen van osteoblasten aan de basis liggen van dit anti-apoptotisch effect. De opening van deze ‘hemichannels’ zou op zijn beurt leiden tot de activatie van kinases Src en extracellulaire signaal-gereguleerde kinases (ERKs), gevolgd door fosforylatie van het ERK cytoplasmatisch target p90 (RSK) en de substraten BAD en C/EBP β met als gevolg de inhibitie van apoptose.” Verder vermelden deze auteurs dat het anti-apoptotisch effect op osteoblasten niets te maken heeft met antiresorptieve effect op osteoclasten. Dit werd aangetoond doordat bisfosfonaatanalogen zonder antiresorptieve eigenschappen nog steeds glucocorticoïd geïnduceerde osteoblast- en osteocyt-apoptose kunnen tegengaan. (Bellido en Plotkin, 2011)

4.2.1.3 Effecten op botstructuur en botsterkte

Gezien de cellulaire en biochemische effecten van bisfosfonaten op botweefsel, kan men zich afvragen of dat bisfosfonaten potentieel kunnen worden aangewend als botversterkende moleculen. Een botversterkend geneesmiddel zou immers een belangrijke rol kunnen spelen in het behandelen van osteo-articulaire en andere orthopedische aandoeningen bij het paard.

Botsterkte is een heel complexe fysiologisch eigenschap die door verschillende parameters wordt bepaald. Zowel de samenstelling als de structuur van het botweefsel bepalen de sterkte van het bot. Wanneer kracht wordt uitgeoefend op botweefsel moet dit weerstand kunnen bieden aan vervorming. Deze eigenschap wordt voornamelijk bepaald door de 'stijfheid' van het botweefsel. (Seeman en Delmas, 2006) Voldoende stijfheid is belangrijk gezien botweefsel een gewichtsdragende structuur is. De stijfheid van botweefsel wordt bepaald door de chemische en geometrische samenstelling en kent een lineair verloop dat gecorreleerd is aan de graad van mineralisatie. (Currey, 1988) Botweefsel is voornamelijk opgebouwd uit collageen type I waarop hydroxyapatietkristallen vasthechten. Daarnaast is de stijfheid een belangrijke factor die bepaalt in welke mate barsten en scheuren kunnen ontstaan. In eerste instantie zal een hoge stijfheid (hoge weerstand aan vervorming) er voor zorgen dat er geen barsten kunnen ontstaan. Na een bepaald punt gaat een toename in stijfheid echter gepaard met het brozer worden van botweefsel. Dit heeft tot gevolg dat indien er onder hoge belasting toch een barst gevormd wordt, deze veel sneller zal evolueren tot een complete fractuur. (Seeman en Delmas, 2006) Het is dus belangrijk dat botten naast voldoende stijf, ook voldoende taai en flexibel zijn. Door in lichte mate te vervormen kunnen botten energie absorberen. Ze worden korter en breder wanneer ze worden samengedrukt en verlengen en versmallen wanneer er geen belasting is. Daarnaast kunnen lange botten vaak in lichte mate zijdelings vervormen om zo energie te absorberen zonder te barsten.

Wanneer er een barst ontstaat in een bot, hangt de progressie van deze barst af van de 'taaiheid' van het botweefsel. De taaiheid van botweefsel kent eerder een non-lineair verloop en hangt minder af van de mineralisatie van het weefsel. Verder zijn de hoeveelheid en distributie van niet-collagene eiwitten, kristalkwaliteit en -verdeling, lamellaire structuur, dichtheid van lacunae en microfracturen alsook microschade belangrijke parameters die de 'taaiheid' van botweefsel bepalen. (Soto en Barbara, 2014; Turner, 2006)

Naast voldoende sterk (stijfheid, taaiheid, flexibiliteit) moet botweefsel ook voldoende licht zijn om een goede functie te kunnen waarborgen. Om te voldoen aan de paradoxale eisen zoals voldoende stijfheid zonder onbuigzaam te worden en voldoende sterkte zonder te zwaar te worden, is het botweefsel continue bezig met (re)modelleren. Op die manier wordt de meest efficiënte en aangepaste structuur gevormd. (Seeman en Delmas, 2006) Tijdens de modelleringsfase wordt onder de invloed van relatieve overbelasting nieuw bot aangemaakt met als gevolg het wijzigen van de botarchitectuur. (Frost, 1990a) Tijdens de remodeleringsfase, vaak geïnduceerd door relatieve onderbelasting, wordt botweefsel dat niet bijdraagt tot een efficiënt geheel verwijderd en blijft 'normaal' belast botweefsel behouden. (Frost, 1990b) Overigens is niet alleen botweefsel maar ook fibreus weefsel, hyalien kraakbeen, fibrocartilago, dentine en cementweefsel onderhevig aan de mechanismen van modellering en remodelering. (Frost, 1990c)

Frost suggereert in zijn 'mechanostat-theorie' dat mechanische belasting een belangrijke beïnvloedende factor is in het botmetabolisme. (Frost, 1987) Na mechanische belasting ontstaat een bepaalde spanning in het botweefsel. Deze spanning wordt waargenomen door osteocyten die doorheen het botweefsel verspreid zitten. Via hun cytoplasmatische uitlopers vormen deze osteocyten een netwerk dat reikt tot

aan de aflijnende cellen aan de oppervlakte van het bot. Via dit netwerk wordt informatie doorgegeven wat betreft de spanning in het bot. De waargenomen spanning is een signaal dat (re)modellering-processen beïnvloedt. (Han et al., 2004) Recent onderzoek suggereert dat het OPG/RANKL/RANK-eiwit systeem de functionele coördinatie van het botmetabolisme reguleert door effecten uit te oefenen op osteoblasten en osteoclasten. (Tyrovola, 2015; Tyrovola et al., 2008) Het effect dat bisfosfonaten uitoefenen op de bot(re)modellering via hun effect op het OPG/RANKL/RANK-eiwit systeem zou wel eens een belangrijke rol kunnen spelen in het begrijpen van de effecten die de bisfosfonaten hebben op de botstructuur en bijhorende botsterkte. Er is bijkomend onderzoek noodzakelijk om de exacte invloed van bisfosfonaten op bot(re)modellering verder op te helderen.

Concluderen of dat bisfosfonaten nu eerder een positief dan wel een negatief effect hebben op de botsterkte is dus niet zo eenvoudig. Door osteoblasten en osteocyten te stimuleren en apoptose van deze cellen te verminderen, wordt meer botmassa aangemaakt. Daarnaast heeft het verhinderen van osteoclast-gemedieerde resorptie verminderde afbraak van botweefsel tot gevolg. Voldoende botmassa alleen is echter niet voldoende om sterke botten te hebben. Naast botmassa zijn ook geometrische eigenschappen van belang om sterke botten te bekomen. Deze geometrische eigenschappen worden bepaald door (re)modellering van botweefsel. Zodoende kan de vraag gesteld worden of bisfosfonaten door hun inhiberend effect op osteoclasten geen te grote inhibitie uitoefenen op de osteoclast-gemedieerde remodelering van botweefsel met als gevolg minder efficiënte geometrische eigenschappen van het bot.

Verder kan een verminderde remodelering door het inhiberend effect op de osteoclasten leiden tot een verouderd collageen, verhoogde mineralisatiegraad en meer kristallisatie van het botweefsel. Dit zorgt bijgevolg voor een hogere stijfheid van het bot maar omgekeerd ook voor een verminderde taaiheid. Samengevat wordt het bot dan stijver maar ook brozer.

Tenslotte zijn er nog belangrijke verschillen tussen de samenstelling van corticaal en trabeculair bot. Ook verschillen tussen de aangewende preparaten op vlak van chemische structuur, dosis, manier van toedienen, etc. zorgen er voor dat een eenduidige conclusie niet mogelijk is. Bijkomend spelen individuele factoren zoals diersoort, leeftijd, geslacht, endocriene status, fysieke activiteit, voeding, etc. een heel belangrijke rol in de sterkte van botweefsel waardoor verder onderzoek noodzakelijk is alvorens een sluitende conclusie te kunnen trekken. (Russell et al., 2008)

4.2.2 Effecten van bisfosfonaten op kraakbeen

Verschillende studies doen vermoeden dat bisfosfonaten een beschermend effect hebben op kraakbeen. Een van de gesuggereerde mechanismen is het optreden van bisfosfonaten als inhibitor van matrix metalloproteïnases. (Pasternak en Aspenberg, 2009; Rolando et al., 2013) Tijdens de eerste fase van osteoartritis worden pro-inflammatoire cytokines, TNF- α en interleukines vrijgesteld door macrofagen en neutrofielen. Op hun beurt zorgen deze pro-inflammatoire cytokines voor de vrijstelling van matrix-metalloproteïnases. (Fernandes et al., 2002) Matrix metalloproteïnases zijn zink-geassocieerde endopeptidases die betrokken zijn in degradatie van gewrichtskraakbeen bij mensen maar ook bij paarden. (Clegg et al., 1997)

In een studie op humane periodontale ligamentcellen werd aangetoond dat tiludronaat een inhiberend effect heeft op de activiteit van MMP-1 en MMP-3. Vermoedelijk doordat tiludronaat fungeert als chelator van noodzakelijke enzymcofactoren. (Nakaya et al., 2000)

In een dubbel blinde, placebo-gecontroleerde studie bij honden waarvan de craniale kruisband werd doorgesneden, werd een betere manier van lopen vastgesteld bij honden die behandeld werden met tiludronaat. (Moreau et al., 2011) Verder werd minder gewrichtsopzetting en -pijn waargenomen. Daarnaast werd bij behandelde honden een verminderde hoeveelheid PGE2 in het synoviaal vocht waargenomen en werd hen een lagere synovitiscore toegekend. Op autopsie bleek er echter geen macroscopisch verschil te zijn tussen de osteo-artrotische letsels van beide groepen. (Moreau et al., 2011) In een andere studie werd reconstructieve chirurgie uitgevoerd na het ligeren van de craniale kruisband bij een groep honden. Naast het gunstig effect van de reconstructieve chirurgie werd een extra positief effect gezien in de heling en het verminderen van osteo-artrotische letsels na toediening van tiludronaat. De honden vertoonden macroscopisch en microscopisch minder kraakbeenletsels, hadden een beter collageen netwerk en ook hier werd een daling gezien in MMP-13, MMP-1 en MMP-3 gehalten. (Pelletier et al., 2011)

In een recente studie waarbij de craniale kruisband werd doorgesneden bij konijnen, werden chondroprotectieve eigenschappen van hoge dosissen zoledronaat aangetoond. Zo hadden de konijnen behandeld met zoledronaat (0.6mg/kg; op dag 1, 15 en 29) minder ulceraties en uitgerafeld kraakbeen. Verder werden microscopisch meer delende/mitotische chondrocyten (wijzend op heling en regeneratie) waargenomen in de zoledronaat groep terwijl in de placebo groep voornamelijk hypocellulair kraakbeen werd gezien. (Lampropoulou-Adamidou et al., 2014)

Onlangs werd bij paarden het effect van pamidronaat nagegaan op de gehalten van MMP-2 en MMP-9 in synoviaal vocht. (De Simone et al., 2015) Zowel gezonde paarden als paarden met osteoartritis werden opgenomen in de studie. Zo zag men klinische verbetering in aangetaste paarden behandeld met pamidronaat. De onderzoekers stelden tussen de groepen echter geen significant verschillende IL-6 gehalten in synoviaal vocht vast. Daarentegen zag men wel een significante daling aan TNF- α in de behandelde groep en ook de MMP-9 gehalten waren na enige tijd significant gedaald. De MMP-2 gehalten in het synoviale vocht waren in beide groepen even hoog. (De Simone et al., 2015)

In de literatuur wordt niet alleen de inhibitie van inflammatoire cytokines en matrix metalloproteïnasen als mogelijk mechanisme naar voor geschoven om de potentieel chondroprotectieve eigenschappen van bisfosfonaten te verklaren. Zo suggereren sommige auteurs dat bisfosfonaten een effect hebben op een bepaalde fagocytotische cel die ook wel 'chondroclast' wordt genoemd. (Zhao et al., 2006) Andere auteurs beweren dan weer dat bisfosfonaten een effect kunnen hebben op de subchondrale botpathologie die mede aan de basis ligt van chronische kraakbeenletsels. (Karsdal et al., 2008; Kwan Tat et al., 2010)

4.2.3 Analgetische en anti-inflammatoire effecten van bisfosfonaten

In de laatste jaren worden bisfosfonaten in de humane geneeskunde alsmear meer ingezet vanwege hun analgetische eigenschappen. Zo worden bisfosfonaten vaak aangewend als bijkomende therapie in de behandeling van botpijn door metastaserende tumoren. (Coleman, 2005; Gralow en Tripathy, 2007; Strang, 1996) Ook in kankertherapie bij kleine huisdieren worden bisfosfonaten soms gebruikt als analgeticum. (Tomlin et al., 2000) Verder worden bisfosfonaten ook aangewend in pijnlijke aandoeningen veroorzaakt door inflammatie en degeneratieve processen. Inflammatie van weefsel gaat vaak gepaard met pijn. Door het verminderen van (pro-)inflammatoire cytokines en katabole mediators hebben bisfosfonaten een pijnstillende werking. Hierbij dient wel vermeld te worden dat deze eigenschappen voornamelijk toe te schrijven zijn aan niet-stikstofbevattende bisfosfonaten zoals clodronaat en

tiludronaat. Wanneer stikstofbevattende bisfosfonaten voor de eerste maal worden toegediend wordt soms zelfs een acute fase reactie (eventueel met koorts) waargenomen. (Adami et al., 1987)

Rossini (2009) beweert dat de intra-articulaire toediening van clodronaat bij mensen met knie-osteoartritis, de pijn kan verzachten alsook de extensie en mobiliteit van het gewricht kan bevorderen. (Rossini et al., 2009) De pijnverzachtende eigenschappen van clodronaat werden in een recente studie nogmaals aangetoond. (Valenti et al., 2017)

In het begin van dit jaar werd een verkennende studie uitgevoerd die zoledronaat (in combinatie met denosumab) naar voor schuift als potentieel geneesmiddel ter behandeling van discogene en lage rugpijn. (Cai et al., 2018)

De mechanismes verantwoordelijk voor de analgetische eigenschappen van bisfosfonaten variëren tussen de verschillende preparaten. Zo lijkt tiludronaat, net als zoledronaat, de acidose ter hoogte van zuurgevoelige ion kanalen in sensorische zenuwen te verminderen. Dit doen ze door de V-ATPase activiteit in osteoclasten te remmen. (David et al., 1996; Nagae et al., 2006) Minder stimulatie van deze zuurgevoelige ion kanalen vertaalt zich in minder pijn. Heel recent werd het werkingsmechanisme opgehelderd dat verantwoordelijk is voor de analgetische eigenschappen van clodronaat. Moriyama en Nomura (2018) identificeerden clodronaat als een potente inhibitor van een vesiculaire nucleotide transporter. Deze transporter is verantwoordelijk voor de vesiculaire opslag van ATP. Op die manier verhindert clodronaat de vesiculaire vrijstelling van ATP in neuronen met als gevolg minder inflammatoire pijn door de presynaptische blokkade van de purinerge neurotransmissie. (Moriyama en Nomura, 2018)

4.2.4 Niet-skeletale effecten van bisfosfonaten

Naast het effect op bot, kraakbeen en gewrichten hebben sommige bisfosfonaten ook niet-skeletale effecten. Zo inhiberen stikstofbevattende bisfosfonaten de groei van sommige protozoaire parasieten. Zo wordt de groei van onder meer *Entamoeba*, *Plasmodia*, *Trypanosoma*, *Toxoplasma*, *Cryptosporidia* en *Leishmania spp* geremd door het verstoren van het FPPS-systeem van de parasieten. (Komura en Iwaki, 2008; Ling et al., 2005; Moreno et al., 2001; Russell, 2011)

Inflammatie en angiogenese zijn erg met elkaar verweven in de pathogenese van osteoartritis. (Bonnet en Walsh, 2005) Inhibitie van deze angiogenese zou een belangrijke therapie kunnen zijn in de behandeling van osteoartritis door de klinische symptomen te verbeteren en gewrichtsschade te vertragen. (Bonnet en Walsh, 2005) Pathologische angiogenese speelt ook een belangrijke rol in verschillende kankers en andere ischemische en inflammatoire processen. (Carmeliet en Jain, 2000) Voornamelijk stikstofbevattende bisfosfonaten hebben sterke anti-angiogenetische eigenschappen. (Soto en Barbara, 2014; Wood et al., 2002; Yu en Qin, 2009)

5. Het gebruik van bisfosfonaten in orthopedische aandoeningen bij de mens

Het gebruik van bisfosfonaten kent een lange geschiedenis in de humane geneeskunde. Bisfosfonaten zijn de klinisch meest belangrijke en meest frequent aangewende medicatie ter behandeling van aandoeningen gekenmerkt door verhoogde osteoclastresorptie. (Morris en Einhorn, 2005) Hieronder zullen kort een aantal aandoeningen besproken worden waarbij de behandeling met bisfosfonaten zeer gebruikelijk is. In bepaalde aandoeningen wordt een behandeling met bisfosfonaten zelfs als gouden standaard aanzien. Verder zullen ook andere toepassingen alsook het gebruik in osteo-articulaire aandoeningen kort besproken worden aangezien vanuit dit standpunt een parallel kan getrokken worden naar het gebruik bij het paard.

5.1 Osteoporose

Osteoporose is een frequent voorkomende aandoening bij de mens. Ongeveer 75 miljoen mensen in de Verenigde Staten, Europa en Japan leiden aan deze aandoening. (Morris en Einhorn, 2005) Mensen die aan osteoporose leiden worden gekenmerkt door een verminderde mineralisatie van botweefsel. Wanneer de minerale botdensiteit 2,5 standaarddeviaties lager is dan de piekdensiteit bij jonge volwassenen van hetzelfde ras en geslacht, spreekt men van osteoporose. (Kanis et al., 1994) Door de verminderde botmineralisatie komen fractures van de ruggenwervels, heup en in mindere mate ook niet-vertebrale fractures, beduidend meer voor bij mensen die leiden aan osteoporose. De bisfosfonaten zijn de enige groep van antiresorptieve medicatie waarbij in grote, gerandomiseerde en placebo-gecontroleerde studies werd aangetoond dat deze de frequentie van heup-, vertebrale en niet-vertebrale fractures kunnen reduceren. (Cummings et al., 1998; McClung et al., 2001) Voornamelijk het gebruik van stikstofbevattende bisfosfonaten zoals zoledronaat, alendronaat, risedronaat en ibandronaat wordt als gouden standaard gezien in de behandeling van osteoporose. (Brown et al., 2014)

5.2 Paget's disease

Osteitis deformans ook wel Paget's disease genoemd is een zeldzame aandoening die bij 3.3% van de volwassenen boven de 40 jaar voorkomt. De ziekte wordt gekenmerkt door versnelde botresorptie en willekeurige afzettingen van dense botmatrix. Het meest voorkomende symptoom is botpijn. Ook hoofdpijn en neurologische symptomen, zoals verminderd horen en zien, kunnen voorkomen. Vaak zijn deze symptomen secundair en te wijden aan compressie van zenuwen door vervorming van beenderen. (Siris, 1998) Naast chirurgie is calcitonine in combinatie met bisfosfonaten een vaak aangewende en succesvolle behandeling. Zo werden er onder meer orale vormen van etidronaat, alendronaat, tiludronaat, risedronaat en de intraveneuze vorm van pamidronaat met succes gebruikt. De krachtigste bisfosfonaten, met name pamidronaat, risedronaat en alendronaat geven de beste resultaten. Verder wordt de voorkeur gegeven aan intraveneuze toedieningsmethoden gezien zo de hoeveelheid aan bisfosfonaten getitreerd kan worden naargelang de ernst van de aandoening. (Lozano-Calderon et al., 2014)

5.3 Oncologie

Op heden is er heel wat aandacht voor het gebruik van bisfosfonaten in de (aanvullende) behandeling van kankers en tumoren.

Metastaserende bottumoren afkomstig van primaire borst-, long-, nier-, prostaat- en schildkliertumoren komen frequent voor. Primaire bottumoren zijn zeldzamer. (Green, 2003) Symptomen die gepaard gaan met deze metastasen zijn botpijn, pathologische fractures, ruggenmergcompressie door wervelfracturen en maligne hypercalciëmie. Ondertussen zijn er heel wat publicaties verschenen die de effecten en mogelijke toepassingen van bisfosfonaten in deze context beschrijven. In 2012 werd door de Cochrane Breast Cancer Group een groot review artikel gepubliceerd waarin het effect van bisfosfonaten op 'skeletal-related events'⁸, botpijn, levenskwaliteit, herval en overleving wordt nagegaan bij vrouwen met metastaserende borstkanker. Zij concludeerden dat bisfosfonaten het risico tot ontwikkelen van SRE's verminderen en de tijd tot optreden verlengen. Sommige bisfosfonaten waren ook in staat de botpijn te verminderen en de levenskwaliteit te verbeteren. De beste resultaten werden ook dit keer bekomen met stikstofbevattende bisfosfonaten. Intraveneuze toediening van zoledronaat, pamidronaat en ibandronaat wordt als meest succesvol beschouwd. (Wong et al., 2012)

Bisfosfonaten worden met succes aangewend in de behandeling van multipole myeloma's. De toediening van bisfosfonaten zorgt ook hier voor minder botpijn en een lager risico op vertebrale fractures. Zoledronaat, pamidronaat en clodronaat zijn voor deze aandoening de meest aangewezen bisfosfonaten. Etidronaat blijkt minder effect te hebben. (Mhaskar et al., 2012)

Een belangrijke complicatie die voorkomt bij mensen met multipole myeloma's en metastatische bottumoren is maligne hypercalciëmie. (Mirrakhimov, 2015) De pathogenese omvat de productie van een parathormoon gerelateerd peptide en cytokineproductie door tumorcellen. Deze hebben op hun beurt effect op het OPG/RANKL/RANK-eiwit systeem. Uiteindelijk leidt dit tot een overmatige activiteit van osteoclasten met hypercalciëmie tot gevolg. (Mirrakhimov, 2015) Bisfosfonaten blijken de beste therapie in het behandelen van maligne hypercalciëmie. (Sternlicht en Glezerman, 2015) Zowel zoledronaat als pamidronaat zijn veilig en doeltreffend. Zoledronaat blijkt echter superieur in werking alsook makkelijker toe te dienen. (Major et al., 2001)

In recente publicaties worden potentieel antitumorale eigenschappen van bisfosfonaten besproken. Zoledronaat en clodronaat zouden bij bepaalde kankers een synergistisch anti-tumoraal effect hebben in combinatie met chemotherapeutica. (Clézardin, 2013) Dit antitumoraal effect zou niks te maken hebben met osteoclastactiviteit maar zou zich manifesteren in het effect van bisfosfonaten op macrofagen, endotheelcellen en tumorcellen met als gevolg de stimulatie van cytotoxische $\gamma\delta$ -T-cellen. (Clezardin, 2011; Santini et al., 2015)

⁸Onder de noemer 'skeletal-related events' (SRE's) vallen pathologische fractures, compressie van het ruggenmerg, de noodzaak om bot te bestralen of de noodzaak om botweefsel te opereren. (So et al., 2012)

5.4 Pediatrie

Het gebruik van bisfosfonaten bij kinderen is controversieel. Er zijn weinig studies voorhanden en de meeste literatuur beperkt zich tot case-reports, case-series en retrospectieve studies. (Lozano-Calderon et al., 2014) Veelal worden bisfosfonaten ingezet ter behandeling van aandoeningen waar osteopenie en osteolyse deel uitmaken van de pathogenese.

Bisfosfonaten worden met succes aangewend bij kinderen die leiden aan osteogenesis imperfecta (Dwan et al., 2014), fibreuze dysplasie en het McCune-Albright syndroom. (Matarazzo et al., 2002) Ook kunnen bisfosfonaten volgens sommige auteurs soelaas bieden bij kinderen die leiden aan infantiele osteonecrose van de femurkop. (Lozano-Calderon et al., 2014)

5.5 Osteoarthritis, implantaatfixatie en andere toepassingen

In tegenstelling tot osteoporose, Paget's disease en oncologische toepassingen, zijn er veel minder publicaties die het gebruik van bisfosfonaten beschrijven in de behandeling van osteoarthritis, implantaatfixatie en andere orthopedische toepassingen. De laatste jaren is er echter steeds meer interesse uit deze onderzoeksdomeinen om bisfosfonaten aan te wenden als bijkomende therapie.

Zo zijn er op heden al enkele publicaties die positieve resultaten vermelden wanneer bisfosfonaten (voornamelijk clodronaat, risedronaat en zoledronaat) worden aangewend in de behandeling van osteoarthritis van de knie. Zo zou er minder pijn, betere flexibiliteit en versnelde heling van het gewricht optreden. Bijkomend werden lagere gehalten aan resorptiemerkers opgemeten en blijkt een knieprothese in minder gevallen noodzakelijk. (Spector et al., 2005; Valenti et al., 2017) Het onderwerp blijft echter controversieel en de statische power van veel studies blijkt eerder aan de zwakke kant. (Xing et al., 2016) In tegenstelling tot bovenstaande publicaties beweert Vaysbrot (2016) in zijn meta-analyse van gerandomiseerde placebo-gecontroleerde studies dat bisfosfonaten geen verlichting van de symptomen noch inhibitie van radiografische progressie van knie-osteoarthritis kunnen bewerkstelligen. Bisfosfonaten zouden volgens deze auteur wel nog aangewezen zijn in de behandeling van bepaalde patiënten met een hoge turnover van subchondraal bot. (Vaysbrot et al., 2018) Bijkomende studies zijn dus zeker noodzakelijk om solide bewijs te leveren.

In hun 'ER.O.D.E'- studie vermelden Saviola et al. (2017) dat clodronaat een doeltreffend pijnstillend middel is in de behandeling van osteoarthritis van de hand.

Naast osteoarthritis zijn ook implantaatfixatie (Yukizawa et al., 2017), reumatoïde artritis (Tada et al., 2017) en chronische lage rugpijn (Cai et al., 2018) on vervulde medische behoeften alsook nieuwe opportuniteiten waarbij bisfosfonaten mogelijks kunnen worden ingezet.

6. Het gebruik van bisfosfonaten in orthopedische aandoeningen bij het paard

Orthopedische aandoeningen behoren tot de belangrijkste prestatie-limiterende factoren in de paardenindustrie. (Kamm et al., 2008) Op heden werden vier verschillende bisfosfonaten (pamidronaat, tiludronaat, zoledronaat en clodronaat) gebruikt ter behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard. Het gebruik van bisfosfonaten bij paarden blijkt erg controversieel. Onder de praktijkdierenartsen zijn er zowel voor- als tegenstanders. De vaak uitgesproken meningen zijn voornamelijk gebaseerd op eigen ervaringen.

Het gebruik van bisfosfonaten bij het paard kent een veel minder lange geschiedenis dan het gebruik in de humane geneeskunde. In wetenschappelijke databanken leveren doorgedreven zoekopdrachten betreffende het gebruik van bisfosfonaten bij het paard, hooguit enkele tientallen relevante artikels op. Gezien het beperkt aantal publicaties omtrent het gebruik bij paarden moet heel wat informatie geëxtrapoleerd worden uit onderzoeken uitgevoerd bij proefdieren en de mens. Er zijn weinig tot geen in vitro noch in vivo studies die de farmacokinetiek en farmacodynamiek van bisfosfonaten bij het paard in detail beschrijven.

Ondanks het gering aantal wetenschappelijke publicaties worden bisfosfonaten op heden relatief frequent aangewend ter behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard. In 2002 werd in Frankrijk voor het eerst een preparaat met dinatriumtiludronaat (Tildren, Ceva Animal Health LLC) geregistreerd voor gebruik bij het paard. In 2014 kreeg dinatriumclodronaat (Osphos, Dechra Veterinary Products) een marktlicentie als diergeneesmiddel voor paarden. Voorlopig zijn er naast Tildren, Ceva Animal Health LCC en Osphos, Dechra Veterinary Products geen andere geregistreerde preparaten in Europa. In België is enkel Osphos, Dechra Veterinary Products geregistreerd.

Hoewel er geen enkel wetenschappelijk bewijs bestaat, extrapoleren verschillende auteurs veel van de hierboven beschreven effecten en werkingsmechanismen zomaar naar het paard. Hierbij dient ook opgemerkt te worden dat de indicaties waarvoor bisfosfonaten worden aangewend bij de mens, duidelijk verschillen met deze bij het paard. In de humane geneeskunde worden bisfosfonaten voornamelijk aangewend ter behandeling van metabole aandoeningen gekenmerkt door verhoogde osteoclast-gemedieerde botresorptie en osteolyse. Op heden worden bij het paard voornamelijk podotrochlëitis, niet-infectieuze osteoarthritis van de kleine tarsaalgewrichten en andere osteo-articulaire aandoeningen naar voor geschoven als potentiële indicaties voor het gebruik van bisfosfonaten. (Soto en Barbara, 2014)

Bisfosfonaten werden door de FEI (fédération équestre internationale) op de lijst met 'controlled medication' geplaatst wegens hun analgetische en anti-inflammatoire eigenschappen.⁹

6.1 Tiludronaat

Dinatriumtiludronaat (Tildren, Ceva Animal Health LLC) werd in 2001 in Frankrijk als eerste bisfosfonaat geregistreerd voor gebruik bij paarden, ter behandeling van podotrochlëitis. Ondertussen is Tildren geregistreerd in verschillende Europese landen en de Verenigde Staten. Het meeste onderzoek naar het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen bij paarden werd uitgevoerd met tiludronaat.

⁹ Terug te vinden op: <http://prohibitedsubstancesdatabase.feicleansport.org/search-results/> (laatst geconsulteerd in mei 2018)

Tiludronaat behoort tot de klasse van niet-stikstofbevattende bisfosfonaten. Voor algemene farmacokinetische en farmacodynamische eigenschappen alsook gebruik bij mens en proefdieren wordt naar de desbetreffende hoofdstukken in deze verhandeling verwezen.

In 2001 werd door het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) een rapport gepubliceerd over de farmacologische eigenschappen van dinatriumtiludronaat bij het paard.¹⁰ Hierin werden podotrochlëitis, niet-infectieuze osteoarthritis van de tarsaalgewrichten en enthesopathie van de m. interosseus medius als potentiële indicaties aangehaald voor een behandeling met tiludronaat. Het inhiberende effect op de osteoclast-gemedieerde botresorptie bij het paard werd aangenomen na evaluatie van verschillende studies uitgevoerd op ratten. Verder werden onder meer farmacokinetische profielen, anti-inflammatoire effecten, effecten op centraal zenuwstelsel, gastro-intestinaalstelsel, respiratoir en cardiovasculair stelsel alsook andere farmacodynamische eigenschappen, allemaal geëxtrapoleerd uit studies uitgevoerd op ratten, muizen, apen, honden, konijnen en mensen. Wel werd de plasma-halfwaardetijd bepaald in paarden. Deze varieert tussen 3.13 en 6.94 uur voor dosissen van 0.05 mg/kg tot 0.2 mg/kg. De grootste hoeveelheid van het geneesmiddel werd 96 uur na intraveneuze toediening waargenomen in botweefsel, met hogere gehalten bij mannelijke dieren in vergelijking met vrouwelijke dieren. Naast botweefsel bevatte de nier (3 keer minder als in botweefsel) alsook de lever (17 keer minder als in botweefsel) hoge hoeveelheden 96 uur na intraveneuze toediening. 3 tot 6 maanden na toediening van 1 mg/kg, de aanbevolen dosis (bijsluiter Tildren, Ceva Animal Health, LLC), werden nog steeds detecteerbare gehalten aan tiludronaat terug gevonden. Een exacte halfwaardetijd is op dit moment nog niet bekend. Verder zijn volgens dit rapport intraveneuze bolussen van 0.01 tot 3 mg/kg of de intraveneuze toediening van 1mg/kg gedurende 10 dagen, veilig aan te wenden dosissen bij het paard.

In een andere studie werden de tolerantie en acute effecten op botweefsel geëvalueerd na intraveneuze toediening van 1mg/kg tiludronaat bij 5 Franse dravers. (Varela et al., 2001) Voor en na de toediening werden volledige klinische onderzoeken uitgevoerd naast het bepalen van het bloedcalciumgehalte, nier en leverparameters. De effecten op botmetabolisme werden voor en 24 uur na toediening geëvalueerd aan de hand van de biochemische botformatie merkers osteocalcine en alkalisch fosfatase gecombineerd met de meting van resorptiemerkers CTX-MMP (carboxy-terminal cross-linked telopeptide of type I collagen generated by matrix metalloproteases) en CTX-I (carboxy-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen). Er werd op 30 en 120 minuten na toediening een lichte, niet significante stijging in hartfrequentie vastgesteld. 30 minuten na toediening werd een lichte, voorbijgaande hypocalciëmie waargenomen. Zes uur na de behandeling waren alle waardes normaal. Er werden geen veranderingen in nier en leverparameters vastgesteld. Ook de osteocalcine-, alkalisch fosfatase- en CTX-MMP gehalten bleven onveranderd. 24 uur na de toediening werden significante dalingen (gemiddeld 72,4%) van de CTX-1 gehalten vastgesteld. Deze snelle en uitgesproken daling van CTX-1 gehalten wijst op een antiresorptief effect.

Intraveneuze toediening van tiludronaat lijkt veilig bij volwassen paarden. Het effect van tiludronaat op de groei en remodellering van beenderen bij jonge paarden werd op heden nog niet bestudeerd. Naast milde en voorbijgaande neveneffecten (verhoogde hartfrequentie, hypocalciëmie) zijn gastro-intestinale irritatie en nierschade belangrijke bezorgdheden. Om (milde) kolieksymptomen te vermijden/verminderen is

¹⁰ Terug te vinden op: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015613.pdf (laatst geconsulteerd in mei 2018)

premedicatie met flunixin, hyoscine butylbromide + metamizolnatrium (Buscopan Compositum, Boehringer Ingelheim), of sedativa aangewezen. (Kamm et al., 2008)

In 2014 werd het effect op synoviaal vocht en gewrichtskraakbeen onderzocht na intra-articulaire toediening van hoge en lage dosissen tiludronaat bij 8 gezonde paarden. (Duesterdieck-Zellmer et al., 2014) De 8 paarden werden in het mediocarpale gewricht van het linker voorbeen ingespoten met tiludronaat (4 paarden hoge dosis = 50mg, 4 paarden lage dosis= 0.017 mg) en met een fysiologische zoutoplossing in het contralaterale gewricht. Ter analyse werd gewrichtsvocht genomen voor de behandeling en 10min, 24uur, 48uur, 7 dagen en 14 dagen na de behandeling. De lage dosis had geen significant effect op de gemeten synoviale parameters. De hoge dosis zorgde voor een stijging van het totaal eiwit op 24 uur en 7 dagen na toediening en op 48 uur na toediening voor een verhoogde concentratie aan gesulfateerde glycosaminoglycanen. Tenslotte zorgde de hoge dosis voor tiludronaat concentraties in het synoviaal vocht die volgens in vitro studies (Duesterdieck-Zellmer et al., 2012) schadelijk zijn voor kraakbeen bij paarden. De gehalten na toediening van de lage dosis bleven onder deze toxische grens. De histologische eigenschappen van het kraakbeen blootgesteld aan de hoge dosis bleken echter niet te verschillen met deze van de controlegewrichten.

6.1.1 Tiludronaat in de behandeling van podotrochlëitis

Podotrochlëitis, ook wel bekend onder de Engelstalige benaming 'navicular disease', is een syndroom dat wordt getypeerd door pijn afkomstig uit de regio podotrochlearis. Dit betreft voornamelijk het straalbeen en de omgevende structuren zoals de collateraalbanden van het straalbeen, het ligamentum impar, de bursa podotrochlearis en de diepe buigpees. Het betreft een van de meest voorkomende oorzaken van intermitterende kreupelheid bij paarden tussen 4 en 15 jaar oud. (Baxter en Stashak, 2011) Meestal zijn beide voorbenen aangetast maar occasioneel zijn ook de achterbenen of alle vier de lidmaten betrokken. Een exacte etiologie is niet bekend en een variëteit aan pathologische entiteiten kunnen worden geïdentificeerd. Zones met verhoogde botresorptie en -formatie zijn echter typerende letsels voor een aangetast straalbeen. (Baxter en Stashak, 2011) Intense remodelering kan leiden tot osteolyse door excessieve resorptie en pijn. Omwille van anti-resorptieve, analgetische en anti-inflammatoire eigenschappen werd tiludronaat naar voor geschoven als interessant alternatief in de behandeling van deze vormen van podotrochlëitis.

In 2003 werd door Denoix et al. een dubbel blinde placebo-gecontroleerde studie uitgevoerd op 73 paarden met podotrochlëitis. Zones met verhoogde botresorptie en -formatie zijn typische symptomen van aangetaste straalbeenderen. (Denoix et al., 2003) Het doel van de studie was nagaan of deze pathologische veranderingen gecorrigeerd konden worden door toediening van tiludronaat in verschillende dosissen. Na het doorvoeren van de exclusiecriteria bleven nog 50 paarden over. 20 paarden werden behandeld met 0.1 mg/kg tiludronaat via intraveneuze injectie gedurende 10 dagen (totale dosis: 1mg/kg). 19 paarden werden behandeld met 0.1 mg/kg tiludronaat via intraveneuze injectie gedurende 5 dagen (totale dosis: 0.5mg/kg). De overige 11 paarden vormden de placebo-groep. Verder werd de populatie onderverdeeld in 17 chronische (klinische tekenen reeds langer dan 6 maanden aanwezig) en 33 recente (klinische tekenen minder dan 6 maanden aanwezig) gevallen van podotrochlëitis. De gestandaardiseerde klinische onderzoeken werden gefilmd en blind geëvalueerd door onafhankelijke experts. In de groep behandeld met 0.5mg/kg werden geen significante verschillen waargenomen in vergelijking met de placebogroep. De 1mg/kg dosis bleek wel significant verschillen op te leveren. Zo ondervond 66.7% van de acute gevallen behandeld met 1mg/kg een positief effect van de behandeling na

een evaluatie op 192 dagen. 50% (6 van de 12) van de acute gevallen behandeld met 1mg/kg tiludronaat vertoonden net als 1 paard (12,5%) uit de placebogroep, geen symptomen van manken meer op het van de studie (192 dagen). Op het einde van de studie was er echter geen significant verschil tussen de gemiddelde kreupelheidsgraad van beide groepen. Er werden geen significante verschillen waargenomen tussen de resultaten van de buig - extensieproeven noch in de radiografische evolutie. In de chronische groep werd op geen enkel criterium een verschil met de placebogroep waargenomen. 2 chronische gevallen uit de 1mg/kg gedoseerde groep werden voor een tweede maal behandeld met dezelfde dosis en 1 paard uit deze groep werd drie maal behandeld. Twee maanden na de laatste behandeling werd bij alle drie de paarden een positief effect vastgesteld. Dit positief effect werd niet verder gedefinieerd.

De hierboven beschreven studie, gepubliceerd in 'Equine Veterinary Journal', is op heden de meest bekende studie wat betreft het gebruik van tiludronaat bij paarden. Hoewel de studie enkele positieve effecten van de behandeling met tiludronaat kon aantonen, zijn er ook enkele zwakke punten op te merken. (Kamm et al., 2008) Deze tekortkomingen werden door Kamm (2008) in een reviewartikel opgesomd. Zo wordt kritiek geuit op het lage aantal paarden dat in de studie werd opgenomen. Verder werd ook de bron van kreupelheid onvoldoende gekarakteriseerd. Hoewel podotrochlëitis vaak wordt geassocieerd met radiografische afwijkingen van het straalbeen zijn deze niet altijd aanwezig. Ook zijn radiografische afwijkingen niet per se de oorzaak zijn van de waargenomen kreupelheid. (Baxter en Stashak, 2011) Op heden is MRI de meest aangewezen diagnostische techniek om paarden met podotrochlëitis te evalueren. Zowel botafwijkingen die niet zichtbaar zijn op radiografie alsook eventuele aantasting van de omgevende weke delen kunnen met MRI veel beter in kaart worden gebracht. Vaak worden ook meerdere afwijkingen waargenomen binnen eenzelfde voet. (Baxter en Stashak, 2011) In de studie van Denoix et al, 2003 werd in de diagnose van podotrochlëitis uitsluitend gebruik gemaakt van radiografie. Aangezien ook afwijkingen in de omgevende weke delen de oorzaak van de kreupelheid konden vormen, zijn de waargenomen radiografische afwijkingen dus slechts een indicatie dat de kreupelheid veroorzaakt werd door een aangetast straalbeen. Zonder MRI of andere bijkomende diagnostische technieken kon de oorzaak van het manken dus niet exact bepaald worden. Hierdoor kwamen sommige gevallen mogelijks niet in aanmerking voor een behandeling met een antiresorptief geneesmiddel en tonen de bekomen resultaten niet het ware effect van tiludronaat als inhibitor van botresorptie aan. Omgekeerd tonen deze resultaten mogelijks wel de analgetische en anti-inflammatoire eigenschappen van tiludronaat aan. Een ander punt van kritiek is de verwerking van de data. Enkele statistische kunstgrepen laten de placebogroep als meer kreupel uitschijnen dan ze daadwerkelijk is. Alles bij elkaar behoudt de studie zeker een belangrijke wetenschappelijke waarde maar de resultaten moeten kritisch en genuanceerd geïnterpreteerd worden. (naar Kam et al., 2008)

In een recente studie werden twee toedieningsmethoden van tiludronaat, ter behandeling van podotrochlëitis, met elkaar vergeleken. (Whitfield et al., 2016) 12 paarden met radiografische afwijkingen werden ad random verdeeld in twee groepen. De ene groep kreeg 1mg/kg tiludronaat, opgelost in 5 liter isotone elektrolietoplossing, toegediend via een katheter in de vena jugularis. De tweede groep kreeg 0,1 mg/kg tiludronaat, opgelost in 35 ml fysiologische zoutoplossing, toegediend via een intraveneuze regionale perfusie techniek in de laterale digitale vene van beide voorbenen. Ter evaluatie werden subjectieve kreupelheidscores toegekend. Ook werden verticale grondreactiekrachten gemeten met een stationaire krachtplaat in een poging de beoordeling van de kreupelheid te objectiveren. 120 en 200 dagen na de toediening van tiludronaat waren de verticale grond reactiekrachten van het kreupele lidmaat significant verhoogd in de systemisch behandelde groep. Dit wijst op een verminderde kreupelheid. In de

regionale perfusie-groep waren er geen significante verschillen wat betreft de gemeten grond reactiekrachten. In de systemisch behandelde groep waren de subjectieve kreupelheidsscores op geen enkel moment verbeterd in vergelijking met de kreupelheidsscores voor de behandeling. Bij de paarden behandeld via regionale perfusie werd enkel op 120 dagen een lichte klinische verbetering gezien. Hoewel geen enkel paard vrij was van kreupelheid, lijkt een systemische behandeling met tiludronaat toch ergens soelaas te bieden in de behandeling van podotrochlëitis. Of dit voordelig effect nu te wijten is aan analgetische, anti-inflammatoire, antiresorptieve eigenschappen of een combinatie moet nog verder onderzocht worden. Vooraleer regionale perfusie als toedieningsmethode kan worden aangeraden is er eerst nog verder onderzoek noodzakelijk. Als verklaring voor het laattijdige effect van de behandeling, respectievelijk 120 en 200 dagen na toediening, suggereren de auteurs een soort depot-effect van het geneesmiddel in combinatie met een remodeleringsproces in het straalbeen. Verder zijn op deze studie zijn dezelfde negatieve punten van toepassing (laag aantal paarden, insluitingscriteria uitsluitend op basis van radiografiën, etc.) zoals aangehaald in de bespreking van de studie van Denoix, et al. (2003).

6.1.2 Tiludronaat in de behandeling van spat (chronische niet-infectieuze osteoartritis van de tarsaalgewrichten)

‘Spat’ is een triviale benaming voor chronische niet-infectieuze osteoartritis van het distaal intertarsale, tarsometatarsale en occasioneel proximale intertarsale gewricht. Spat is de meest voorkomende oorzaak van tarsale kreupelheid. (Sullins, 2011)

Zoals eerder besproken hebben sommige bisfosfonaten zoals tiludronaat naast antiresorptieve, analgetische en anti-inflammatoire ook chondroprotectieve eigenschappen. Omwille van deze eigenschappen vormen zij mogelijks een interessante alternatieve therapie in de behandeling van osteoartritis.

Op heden werd slechts één dubbel-blinde placebo gecontroleerde studie uitgevoerd naar het effect van tiludronaat in de behandeling van spat. (Gough et al., 2010) Van de 142 gescreende paarden bleven er 87 paarden over die aan alle in- en exclusiecriteria voldeden en de studie aldus per protocol voltooiden. Naast de eenmalige intraveneuze toediening van 1mg/kg tiludronaat werden de paarden onderworpen aan gecontroleerde trainingsprogramma's. De paarden werden onderzocht en er werd een kreupelheidsscore toegekend voor de behandeling op dag 0 en opnieuw op dag 60 na behandeling. Paarden die op dag 60 niet verbeterd waren kregen allemaal een intraveneuze behandeling met 1mg/kg tiludronaat. Deze behandeling op dag 60 gebeurde echter niet blind en er werd ook geen placebogroep opgesteld. Op dag 60 bleek de gemiddelde subjectieve kreupelheidsscore van de met tiludronaat behandelde groep twee eenheden lager dan de placebo groep. Het ‘therapie-effect’ bleek significant in het voordeel van de tiludronaat-behandelde groep maar dit moet met de nodige voorzichtigheid worden geïnterpreteerd gezien ook de covariant ‘onderzoekscentrum’ significant bleek te zijn. De kreupelheidsscores waaruit het effect van de tiludronaat-behandeling werd afgeleid, werden op verschillende onderzoekscentra toegekend. Het significant zijn van de covariant ‘onderzoekscentrum’ toont aan dat de graad van manken kan verschillen naargelang de onderzoeker/onderzoekscentrum. Op radiografie werd tussen de groepen een significant verschil waargenomen in de aanwezigheid van periarticulaire osteofyten. Verder konden geen significante radiografische verschillen worden aangetoond.

Naast deze dubbel-blinde placebo gecontroleerde studie wordt in de literatuur nog melding gemaakt van kleine dikwijls niet-gepubliceerde studies en case-reports. (Kamm, 2008) Gezien hun geringe wetenschappelijke waarde worden deze hier niet verder besproken.

6.1.3 Tiludronaat in de behandeling van vertebrale lesies in de thoraco-lumbale regio

In 2007 beschreven Coudry et al. de efficaciteit van tiludronaat in de behandeling van paarden met pijn die wordt geassocieerd met osteoartritis van de wervelkolom in de thoraco-lumbale regio. Dit is de enige studie die het gebruik van tiludronaat beschrijft ter behandeling van orthopedische aandoeningen van het axiale skelet bij paarden. De 29 paarden in deze studie werden initieel onderworpen aan een gestandaardiseerd protocol. Naast klinisch onderzoek en scintigrafie werden nog radiografisch en echografisch onderzoek uitgevoerd. In de studie hadden alle 29 paarden osteo-artrotische veranderingen van de processus articularis van het synoviale intervertebrale gewricht, waarbij sclerose, peri-articulaire en osteolytische letsels te zien waren. 20 paarden hadden afwijkingen van de processus spinosi waarbij 19 paarden met 'kissing spines' werden gediagnosticeerd (voornamelijk thoracale en thoraco-lumbale regio) en 1 paard werd gediagnosticeerd met enthesopathie van het ligamentum interspinosum. 15 paarden, ad random gekozen, kregen eenmalig 1 mg/kg tiludronaat intraveneus toegediend (traag lopend infuus). De 14 overige paarden kregen een placebo. Op 60 dagen werden de paarden 'blind' onderzocht en werd dorsale flexibiliteit in draf (traag op rechte lijn, snel op rechte lijn, cirkel op harde en zachte bodem zowel op linker- als rechterhand) en galop (cirkel op zachte bodem, zowel linker- als rechterhand) als criterium voor succes van de behandeling gehanteerd. Er werden video's genomen om de beoordelingsdata te vergelijken. Op 60 dagen na toediening bleken slechts 3 van de 15 paarden behandeld met tiludronaat en 7 van de 14 paarden uit de placebo-groep geen positief effect te ondervinden van de behandeling. Deze waarden verschillen echter niet significant. Het verschil in dorsale flexibiliteit in galop was echter wel significant tussen beide groepen. Dorsale flexibiliteit in draf bleek op geen enkel punt significant te verschillen met de controlegroep. Behandelde en controle paarden die op 60 dagen geen verbetering toonden kregen 1mg/kg tiludronaat toegediend. Op 120 dagen vertoonden 2 van de 3 paarden uit de oorspronkelijke tiludronaatgroep een verbetering in dorsale flexibiliteit. Hoewel het aantal paarden in de studie relatief laag was en de resultaten vaak niet significant, concludeerden de auteurs dat een intraveneuze behandeling met 1mk/kg tiludronaat de dorsale flexibiliteit verbetert op 60 dagen na toediening en de aandoening stabiliseert na 120 dagen. (Coudry et al., 2007)

6.1.4 Tiludronaat in de behandeling van immobilisatie-geïnduceerde osteopenie

Paarden die langdurig door een rigide, externe gips worden geïmmobiliseerd ondervinden relatief vaak regionale osteopenie in het geïmmobiliseerde lidmaat. (Kawcak en Baxter, 2011) Verder zijn chronisch manken, ernstige kreupelheid of neuropathieën die de gewichtsdragende functie van een lidmaat limiteren, mogelijke oorzaken van gelokaliseerde osteopenie. (Kawcak en Baxter, 2011) Minder belasting van een lidmaat zorgt voor een verminderde spanning in het botweefsel met als gevolg verminderde osteoblast-gemedieerde botformatie en verhoogde osteoclast-gemedieerde resorptie van botweefsel. (Frost, 1987)

Immobilisatie-geïnduceerde osteoporose (bedrust, gips, astronauten in de ruimte,...) is een frequent voorkomende aandoening bij de mens. Naast profylaxis en het verhogen van belasting of trainen met gewichten zijn anti-resorptieve geneesmiddelen, zoals bisfosfonaten, een frequent aangewende therapie in de behandeling van deze vorm van osteoporose/osteopenie. (Takata en Yasui, 2001) Naar voorbeeld van het gebruik in de humane geneeskunde werd een studie uitgevoerd naar de farmacologische effecten van tiludronaat bij paarden na langdurige immobilisatie. (Delguste et al., 2007) In deze studie werden twee groepen van 8 paarden geïmmobiliseerd gedurende 8 weken door middel van stalrust en een synthetisch gipsverband rond het linker voorbeen. De eerste groep kreeg een placebo en de tweede groep kreeg

1mg/kg tiludronaat toegediend via een traag lopend, intraveneus infuus. Na 28 dagen werd de behandeling in beide groepen herhaald. Na de immobilisatie volgde een periode van 4 weken remobilisatie om daarna over te gaan in een 8 weken durend, gestandaardiseerd trainingsprotocol. De gehalten aan CTX-1, een biomerker duidend op botresorptie en alkalisch fosfatase, een biomerker wijzend op botformatie, werden bepaald in veneus bloed. De minerale botdensiteit van het pijpbeen werd beoordeeld via DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry). Via kwantitatieve ultrasonografie (QUS) werden eigenschappen van de oppervlakkige cortex geëvalueerd. Verder kan via QUS de minerale botdensiteit maar ook de botstructuur geëvalueerd worden. Na behandeling met tiludronaat werd een snelle, voorbijgaande maar significante daling van CTX-1 vastgesteld. Er werden geen significante verschillen opgemerkt in de concentraties van alkalisch fosfatase. Het verlies aan minerale botdensiteit, gemeten via DEXA, bleek op het einde van het experiment significant minder te zijn in de tiludronaat-groep. De data verzameld via QUS bleek niet significant te verschillen tussen beide groepen. De auteurs van deze studie concluderen dat tiludronaat kan dienen ter preventie van langdurige osteopenie in het geïmmobiliseerde lidmaat doordat tiludronaat de botresorptie tijdens immobilisatie significant verminderd. (Delguste et al., 2007)

6.1.5 Potentiële toepassingen van tiludronaat

Hoewel er op heden naast occasionele case-reports en kleine retrospectieve studies geen grote, statistisch relevante onderzoeken zijn uitgevoerd, wordt tiludronaat door verschillende auteurs naar voor geschoven in de behandeling van volgende orthopedische aandoeningen bij het paard: inflammatie van de processus palmaris van het hofbeen, proximale insertiedesmopathie van de m. interosseus medius, 'kissing spines', botcysten, exostose van het griffelbeen, enthesopathie van collateraalligamenten en sesamoiditis. (McLellan, 2017; Soto en Barbara, 2014)

6.2 Clodronaat

In 2014 kreeg dinatriumclodronaat (Osphos, Dechra Veterinary Products) een marktlicentie als diergeneesmiddel voor paarden. Clodronaat behoort net als tiludronaat tot de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten. De primaire werkingsmechanismen zijn dan ook erg vergelijkbaar. Op 8 september publiceerde het Europees Geneesmiddelen Agentschap (EMA) een rapport met betrekking tot de farmacologisch eigenschappen van clodronaat bij het paard.¹¹ In dit rapport werden de effecten van clodronaat op: de minerale botdensiteit, histologie, botsterkte, botgeometrie en de biochemische merkers voor turnover in botweefsel bij het paard, geëxtrapoleerd uit in vivo studies op ratten. Hieruit kon geconcludeerd worden dat clodronaat het verlies aan minerale botdensiteit van zowel corticaal als trabeculair bot kon tegengaan en de verzwakking van bot alsook osteopenie kon onderdrukken in oestrogeen-deficiënte ratten. In een artritis-model bij ratten bleek clodronaat een anti-inflammatoir en chondroprotectief effect te hebben. Hoge dosissen (3 tot 50 mg/kg) bleken de remodelering van fracturen bij proefdieren te vertragen. Verder werden in dit rapport antinociceptieve eigenschappen en positieve effecten op tumor-geïnduceerde osteolyse vermeld. De farmacokinetische eigenschappen werden bepaald uit studies op ratten, muizen, konijnen, minivarkens, paarden en mensen.

De aanbevolen dosis van 1.8 mg/kg (maximaal 900mg per paard) voor intramusculaire injectie bij het paard zorgde na 35 minuten voor een piekconcentratie van 7.5 µg/ml in plasma bij proefpaarden. De excretie

¹¹ Terug te vinden op http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2015/09/WC500193215.pdf (laatst geconsulteerd in mei 2018)

gebeurt vooral via de nieren en de plasma-halfwaardetijd bij het paard bedraagt 5.6 uur. Een halfwaardetijd voor volledige excretie uit het lichaam van paarden werd op heden nog niet bepaald.²

Net als Tildren, Ceva Animal Health LLC is Osphos, Dechra Veterinary Products geregistreerd in verschillende Europese landen en de Verenigde Staten voor de behandeling van podotrochleïtis bij het paard. Of dat clodronaat dan wel tiludronaat betere resultaten oplevert in de behandeling van pijn door podotrochleïtis is voorlopig nog niet bewezen.

Op heden zijn er nog geen 'peer reviewed' artikels gepubliceerd die de efficaciteit van clodronaat, in de behandeling van podotrochleïtis bij het paard, hebben onderzocht. In het onderzoek dat werd uitgevoerd en gepresenteerd door Dechra Veterinary Products ter registratie van 'Osphos' in verschillende Europese landen en de Verenigde Staten, bleek 75% van de intramusculair behandelde paarden op zijn minst 1 AAEP-kreupelheidsgraad verbeterd te zijn op 56 dagen na toediening.³ Van de 86 behandelde paarden hadden 8 paarden een verbetering van 3 AAEP kreupelheidsgraden, 45 paarden een verbetering van 2 AAEP kreupelheidsgraden en 16 paarden een verbetering van 1 AAEP kreupelheidsgraad. Het algemeen slagingspercentage op 180 dagen na de behandeling bedroeg 65%.¹²

6.3 Pamidronaat

Hoewel er geen formulatie met pamidronaat is geregistreerd voor gebruik bij het paard, is pamidronaat het eerste bisfosfonaat dat werd onderzocht bij paarden. (Soto en Barbara, 2014) In een in vitro studie werden osteoclast-like cellen verzameld uit het beenmerg van twee pony's en een paard. Toevoegen van pamidronaat aan de celcultuur verminderde de antiresorptieve capaciteit van deze cellen. Tijdens de eerste 7 dagen na toediening bleek het aantal osteoclast-like cellen in de celcultuur lichtjes te stijgen om na 7 dagen opnieuw te dalen. Dit effect werd door de auteurs toegeschreven aan de acute fase reactie die zich kan voordoen na toediening van pamidronaat. (Gray et al., 2002) Onlangs onderzochten De Simone et al. (2015) het effect van intraveneuze toediening van pamidronaat op de klinische conditie en de secretorische profielen van inflammatoire biomerkers in het synoviaal vocht van klinisch gezonde paarden en paarden met osteoarthritis. Na een gestandaardiseerd klinisch onderzoek van het locomotorisch stelsel werd een globale score gegeven aan de klinische toestand. Verder werden matrix metalloproteïnase 2 en 9, IL-6, en TNF- α gehalten gemeten in synoviaal vocht. De klinische conditie van paarden met osteoarthritis verbeterde significant na toediening van pamidronaat. Ook de gehalten aan TNF- α waren significant lager in de behandelde paarden met osteoarthritis dan in de onbehandelde groep met osteoarthritis. Tenslotte werd ook een milde daling in MMP-9 gehalten gezien 60 dagen na behandeling met pamidronaat. Op 3 en 21 dagen na behandeling werd eerst zelfs een stijging in MMP-9 gehalten waargenomen. Dit zou toe te schrijven zijn aan de 'acute fase reactie' die kort na de toediening van pamidronaat werd veroorzaakt. De IL-6 en MMP-2 gehalten waren niet significant verschillend tussen de groepen.

6.4 Zoledronaat

Net als pamidronaat behoort zoledronaat tot de klasse van stikstofbevattende bisfosfonaten. Van alle bisfosfonaten heeft zoledronaat de hoogste affiniteit voor hydroxyapatiet en dit voornamelijk op plaatsen met hoge turnover van botweefsel. (Räkel et al., 2011) Het gebruik van deze bisfosfonaten situeert zich op heden voornamelijk in experimentele onderzoeken. Er is één studie die de farmacokinetiek, -dynamiek en

¹² <http://www.osphos.com/includes/pdf/Dechra-Osphos-Technical-Brochure.pdf>, laatst geconsulteerd op 6 mei 2018

veiligheid van zoledronaat bij 8 paarden heeft onderzocht. (Nieto et al., 2013) In deze studie werd over een periode van 30 min, 0.057 mg/kg (dit komt overeen met de humane dosis van 4 mg ter behandeling van Paget's disease) zoledronaat intraveneus toegediend. Op verschillende momenten (1, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 en 90 minuten na toediening en 24 uur, 4 dagen, 7 dagen, 28 dagen, 9 weken en 6 maanden na toediening) werd veneus bloed afgenomen en geanalyseerd. De zoledronaat-concentraties gemeten in het bloed waren consistent met een 2-compartiments-geneesmiddelenmodel bij zoogdieren. Na toediening daalde de concentratie van zoledronaat in het plasma erg snel. Wel werden tot 8 uur na de toediening detecteerbare concentraties zoledronaat teruggevonden in plasma. De calciumconcentraties bleven in de acute periode na toediening binnen de referentiewaarden van het analyserende labo maar 7 dagen na toediening bleek de gemiddelde, totale calciumconcentratie significant lager te zijn dan de referentiewaarde. Verder werd op elk moment na toediening een significante daling waargenomen in CTX-1 gehaltes, een merker voor botresorptie. Ter evaluatie van de nier werden de paramaters BUN en creatinine bepaald. In de BUN en creatinine-gehalten werden geen veranderingen waargenomen.

Zoledronaat in de behandeling van een 'broze botten stoornis' (bone fragility disorder)

Recent werd in de kustgebieden en centrale regio's van Californië een progressieve en slopende stoornis geïdentificeerd die gekarakteriseerd wordt door aantasting van het axiale skelet en de proximale delen van de bovenste lidmaten. Deze 'broze botten stoornis' komt voorlopig uitsluitend in deze regio voor. (Anderson et al., 2008) De klinische symptomen in het beginstadium zijn gegeneraliseerde stijfheid, inspanningsintolerantie en intermitterend manken. Naar gelang de ziekte verder aansleept worden lordose, lateraal afbuigen van de scapula, gewichtsverlies, ernstige kreupelheid en verminderde bewegingsvrijheid van de hals waargenomen. In chronische gevallen worden frequent systemische osteopenie en pathologische fractures aangetroffen. (Arens et al., 2011) Aangezien de ziekte enkel voorkomt op deze plaats en de geografische distributie van de aandoening overeenkomt met die van pulmonaire silicose wordt de hypothese van een gemeenschappelijk oorzakelijk agens voorgesteld. (Arens et al., 2011) Symptomatische behandelingen zoals NSAID's, corticosteroïden, boxrust en veranderen van geografische omgeving blijken niet te werken. Omwille van deze reden werden tien aangetaste paarden in een klinische proef behandeld met 0.075 mg/kg zoledronaat en gedurende 6 maanden opgevolgd. (Katzman et al., 2012) Bij het begin van de proef werden de paarden klinisch onderzocht. Er werden kreupelheidsonderzoeken en nucleaire scintigrafie uitgevoerd. Zes maanden na toediening van zoledronaat werden de paarden opnieuw geëvalueerd aan de hand van dezelfde onderzoeken. Bij 9 van de 10 paarden werd een klinische verbetering (verbetering in kreupelheidsgraad of verminderde musculosketetale pijn of beide) vastgesteld. (Katzman et al., 2012) De resultaten op scintigrafie waren niet significant verschillend. Verder vermelden de auteurs geen negatieve bijwerkingen van de zoledronaat-therapie te hebben waargenomen. (Katzman et al., 2012)

7. Discussie

In de humane geneeskunde blijkt het gebruik van bisfosfonaten ter behandeling van verschillende metabole aandoeningen zoals osteoporose, Paget's disease en metastaserende bottumoren effectief en evident. Omtrent de zin en onzin van het gebruik van bisfosfonaten lijkt in de humane geneeskunde minder onwetendheid en discussie te bestaan in vergelijking met de diergeneeskunde. Gezien de grote hoeveelheid informatie en ervaring die beschikbaar is in de humane geneeskunde betreffende werkingsmechanisme, farmacokinetiek en -dynamiek alsook geschikte indicaties en potentiële bijwerkingen van bisfosfonaten, lijkt het vanzelfsprekend om deze informatie te extrapoleren naar het paard. Het extrapoleren van wetenschappelijke informatie uit de humane geneeskunde en proefdierkunde dient echter heel voorzichtig te gebeuren.

De meeste dierexperimenten en humane studies zijn uitgevoerd met andere diersoorten dan het paard. Effecten en werkingsmechanismen van geneesmiddelen kunnen erg variëren tussen verschillende diersoorten. Hoewel er over het algemeen voor bisfosfonaten een goede correlatie bestaat tussen in vitro en in vivo studies alsook tussen diermodellen en humane aandoeningen (Russell, 2006), mogen resultaten niet blindelings tussen verschillende diersoorten worden uitgewisseld. Gezien de heterogeniteit in de groep van de bisfosfonaten (al dan niet stikstofbevattend, verschillende werkingsmechanismes, verschil in potentie, etc.) mogen ook resultaten binnen dezelfde diersoort maar met verschillende preparaten, al dan niet uit dezelfde chemische subgroep, zomaar veralgemeend worden.

Deze interspecies barrière buiten beschouwing gelaten zijn er nog een aantal belangrijke aspecten waarmee rekening moet gehouden worden wanneer resultaten en bevindingen uit de humane geneeskunde worden overgenomen. Zo zijn de klassieke humane indicaties waarvoor bisfosfonaten worden aangewend als inhibitor van de osteoclast-gemedieerde botresorptie, duidelijk verschillend met de beoogde indicaties bij het paard. In tegenstelling tot metabole aandoeningen en toepassingen in de oncologie worden bisfosfonaten in de paardengeneeskunde wel frequent aangewend ter behandeling van osteo-articulaire aandoeningen zoals podotrochlëitis en niet-infectieuze osteoartritis van de tarsaalgewrichten. Systemische botziekten zoals osteoporose bij postmenopauzale vrouwen en Paget's disease kennen geen tegenhanger bij het paard. Hoewel osteoporose bij paarden uitzonderlijk voorkomt na ondervoeding en deficiënties van calcium, fosfor of vitamine D (Kawcak en Baxter, 2011) lijkt behandeling door aanvulling en supplementatie van deze deficiënties meer aangewezen dan een behandeling met antiresorptieve geneesmiddelen zoals bisfosfonaten. Ook bottumoren zijn zeldzaam bij paarden. (Bush et al., 2007) Omwille van de lage prevalentie bij het paard is er weinig motivatie uit de paardengeneeskunde om het gebruik van bisfosfonaten in deze optiek te onderzoeken.

Tenslotte worden in de humane geneeskunde voornamelijk de potente, stikstofbevattende bisfosfonaten gebruikt. Stikstofbevattende bisfosfonaten overtreffen de efficaciteit van niet-stikstofbevattende in de behandeling van humane aandoeningen zoals Paget's disease en osteoporose. (Brown et al., 2014; Drake et al., 2001) Op heden zijn er bij paarden slechts enkele studies gebeurd met stikstofbevattende bisfosfonaten. Geen enkele studie bij paarden bevat data die de effectiviteit van deze bisfosfonaten vergelijkt met de effectiviteit van tiludronaat of clodronaat. Het is echter mogelijk dat deze stikstofbevattende bisfosfonaten, in vergelijking met de niet-stikstofbevattende bisfosfonaten, ook bij paarden krachtigere inhibitoren van de botresorptie zijn. Verder onderzoek zal dit echter moeten uitwijzen.

De recente verwickelingen in de humane geneeskunde die het aanwenden van bisfosfonaten in de behandeling van osteo-articulaire aandoeningen naar voor schuiven, zouden wel eens van belang kunnen zijn in het extrapoleren van informatie naar de geneeskunde bij het paard. De (neven)effecten, werkingsmechanismen, manier van toediening, dosis, etc. die in deze studies aan bod komen, kunnen een belangrijke leidraad zijn voor verder onderzoek bij het paard.

Op heden zijn podotrochlëitis en niet-infectieuze osteoarthritis van de distale tarsaalgewrichten de belangrijkste indicaties voor het aanwenden van bisfosfonaten bij paarden. De meeste studies betreffende het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van deze orthopedische aandoeningen werden zoals hoger beschreven uitgevoerd met tiludronaat. De meeste van deze studies werden in het begin van de jaren 2000 uitgevoerd. Veel van deze studies werden ondersteund door CEVA Animal Health, de fabrikant van Tildren. De resultaten uit deze studies doen vermoeden dat tiludronaat de kreupelheid als gevolg van podotrochlëitis en spat, kan verbeteren. De resultaten uit deze studies zijn echter niet zwart-wit en dikwijls zijn slechts enkele parameters (in lichte mate) significant verschillend met controlegroepen. Daarnaast zijn er amper studies gebeurd op grote groepen paarden. De meeste studies beperken zich tot enkele tientallen paarden of minder. Verder kunnen zich vragen gesteld worden bij de karakterisatie van de behandelde aandoeningen. In de toekomst moet met behulp van MRI of andere medische beeldvormingstechnieken met meer zekerheid bepaald worden of de waargenomen kreupelheden daadwerkelijk te wijten zijn aan de pathologische botafwijkingen die werden vastgesteld op radiografie. Verder moet met behulp van geavanceerde medische beeldvormingstechnieken met meer zekerheid bepaald worden of de klinische verbetering na toediening van bisfosfonaten toe te schrijven is aan het daadwerkelijk inhiberen van de pathologisch verlopende resorptieprocessen in het bot of aan andere factoren zoals analgetische, chondroprotectieve en anti-inflammatoire eigenschappen. Vermoedelijk zal het positief effect op de klinische evaluatie bestaan uit een combinatie van deze eigenschappen. Verder is het gebruik van objectieve systemen om de klinische verbetering in kreupelheidsgraad te kwantificeren, zeker een interessant gegeven. Systemen zoals Qhorse, Qualisys Motion Capture, krachtplaat-drukplaat-opstellingen of de Lameness Locator, Equinosis LLC zouden een belangrijk hulpmiddel kunnen zijn om de klinische verbetering in kreupelheidsgraad te diagnosticeren alsook te objectiveren en kwantificeren.

Op heden tonen klinische resultaten aan dat niet-stikstofbevattende bisfosfonaten 'een positief effect' hebben in de behandeling van (sub)acute stadia van podotrochlëitis en niet-infectieuze osteoarthritis van de tarsaalgewrichten. Effecten op chronische gevallen bleken veel minder duidelijk en statistisch niet relevant. Veel gevallen van podotrochlëitis en spat worden pas in een chronisch stadium gediagnosticeerd. (Baxter en Stashak, 2011) Het nut en de effecten van bisfosfonaten in de behandeling van de chronische vormen van deze aandoeningen moeten dus nog verder onderzocht worden. Verder is het niet duidelijk wat de langetermijneffecten van een behandeling met bisfosfonaten inhouden. Hoewel positieve resultaten tot 6 maanden na toediening werden aangetoond, zijn er geen resultaten op lange termijn (meer dan 7 maanden na toediening) beschreven.

Nieuwe, onafhankelijke, dubbel-blind, placebo-gecontroleerde studies zijn noodzakelijk om het ware effect van bisfosfonaten in de behandeling van navicular disease en spat alsook andere orthopedische aandoeningen te onderzoeken.

Omwille van het beperkt aantal studies en de onzekerheid over de werkelijke werkingsmechanismen is het gebruik van bisfosfonaten nog altijd controversieel. Naast heel wat voorstanders kent het gebruik van bisfosfonaten bij paarden ook tegenstanders. Op heden zijn er nog geen studies uitgevoerd met

bisfosfonaten bij paarden jonger dan 4 jaar. Tevens zijn de commerciële preparaten Osphos, Dechra Veterinary Products en Tildren, CEVA Animal Health LLC niet geregistreerd voor gebruik bij paarden jonger dan 4 jaar. Ook raden beide fabrikanten het gebruik van bisfosfonaten af bij lacterende merries en merries voorbestemd voor de fokkerij. Recent stuurde ook de 'US Food and Drugs Administration' waarschuwingen rond omtrent het gebruik van bisfosfonaten bij jonge paarden.

Ondanks er geen wetenschappelijke informatie beschikbaar is, wordt het 'off-label'- gebruik van niet-stikstofbevattende bisfosfonaten frequent aangetroffen bij jonge volbloeden in de race-industrie. (McLellan, 2017) De belangrijkste indicatie waarvoor sommige trainers en dierenartsen bisfosfonaten aanwenden bij jonge racepaarden is het voorkomen en/of behandelen van stressfracturen.¹² Verder worden andere aandoeningen die gekarakteriseerd worden door pathologische bot-remodellering (gezien de intense belasting bij racepaarden ook wel 'stress-modellering' genoemd) als indicatie voor een behandeling met bisfosfonaten naar voor geschoven.¹³ Naast stressfracturen zijn dit voornamelijk sclerose van het os carpale III en 'POD' (Palmar/Plantar Osteochondral Disease). (McLellan, 2017) De theoretische redenering achter het gebruik van bisfosfonaten in het voorkomen of behandelen van deze aandoeningen is het verhinderen van osteoclast-gemedieerde botresorptie die deze 'stress remodellering' voorafgaat.⁸ Het verhinderen van deze botresorptie zou volgens deze theorie het bot minder verzwakken en aldus stressfracturen voorkomen. Volgens Mc Lellan (2017) zijn zulke theorieën echter een teken van het gebrekkig begrijpen van de botfysiologie. Bisfosfonaten zouden volgens deze auteur de heling van stressfracturen juist inhiberen door hun apoptotisch effect op osteoclasten en anti-apoptotisch effect op osteocyten. De heling van stressfracturen begint namelijk met resorptie rond de barst. (McLellan, 2017) De aanwezige osteoclasten trekken osteoblasten aan die zich nadien in de nabijheid van de barst vestigen en op die manier nieuw botweefsel vormen. Osteoclasten kunnen beschouwd worden als de gangmakers in de heling van stressfracturen. Het inhiberen van deze osteoclasten zal het bot dus juist zwakker maken. (McLellan, 2017) Ook de apoptose van osteocyten in de buurt van stressfracturen zet een osteoclast-georchestreerde cascade in werking die de heling van de stressfractuur ten goede komt. Het inhiberen van bot(re)modellering bij jonge paarden leidt uiteindelijk tot meer gemineraliseerd en stijver botweefsel dat bijgevolg ook brozer wordt en meer gepredisponeerd is tot het ontwikkelen van stressfracturen.

Tijdens een presentatie op een klantenseminarie uitte ook vermaard orthopedisch chirurg Dr. Larry Bramlage zijn bezorgdheden inzake het gebruik van bisfosfonaten bij jonge racepaarden.¹⁴ Hierbij dient vermeld te worden dat de presentatie niet werd gebaseerd op wetenschappelijk onderzoek maar op 40 jaar klinische ervaring. Het betreft dus een persoonlijke mening gebaseerd op waarnemingen uit de praktijk. Bramlage vermeldt in zijn presentatie geen hogere incidentie van fracturen te zien bij paarden behandeld met bisfosfonaten. Het probleem met bisfosfonaten ligt volgens Bramlage in de versturende effecten van bisfosfonaten op het botmetabolisme van jonge racepaarden. Zoals hoger vermeld zorgt een verstoorde bot(re)modellering voor problemen om een aangepaste botstructuur te vormen die bestand is tegen de mechanische belasting. Dit verstoorde botmetabolisme na toediening van bisfosfonaten zou zich voornamelijk bij jonge racepaarden accentueren gezien de hoge mechanische belasting op hun immature skelet. Verder beweert Bramlage (2018) ook een slechte heling van fracturen waar te nemen bij paarden die behandeld werden met bisfosfonaten. Zo maakt Bramlage gewag van vertraagde radiografische heling (tot 14 maanden na het optreden van de fractuur) van fracturen bij paarden die

¹³ Persoonlijke communicatie met Dr. Larry Bramlage, Rood & Riddle Equine Hospital, Kentucky, Verenigde Staten

¹⁴ Terug te vinden op <https://www.paulickreport.com/horse-care-category/bramlage-price-pay-bisphosphonate-use-delayed-healing/> (laatst geconsulteerd in mei 2018)

normaal slechts enkele maanden in beslag nemen. Wanneer paarden voorafgaandelijk behandeld werden met bisfosfonaten werd tot 14 maanden na het optreden van een fractuur nog onvolledige heling waargenomen waarbij defecten opgevuld bleven met 'woven bone'.¹² 'Woven bone' of letterlijk vertaald 'gevlochten bot' is het eerste botweefsel dat gevormd wordt in de acute helingsfase van fracturen en dat later door osteoclast-gemedieerde remodellering vervangen wordt door stevig lamellair botweefsel. (Su et al., 2003) Wanneer de transformatie van 'woven bone' tot lamellair bot wordt verhinderd resulteert dit in slechte heling van fractuurhaarden met verzwakte beenderen tot gevolg.

Studies bij ratten (Kidd et al., 2011) en honden (Mashiba et al., 2001) tonen aan dat het toedienen van bisfosfonaten het aantal stressfracturen verhoogt, de heling van fracturen vertraagt en het bot tot 19% zwakker maakt. In de humane geneeskunde bestaat er nog controverse nopens het effect van bisfosfonaten op de heling van fracturen. Er worden zowel positieve als negatieve effecten op de fractuurheling vermeld. (Kates en Ackert-Bicknell, 2016) Heel recent werd een studie gepubliceerd waarbij op 60 dagen na toediening van tiludronaat en clodronaat (standaard dosis en toedieningsmethode zoals vermeld in de bijsluiters) het effect werd onderzocht op botcellen, botstructuur en bot-remodellering bij gezonde paarden. (Richbourg et al., 2018) Uit de resultaten werd geconcludeerd dat tiludronaat en clodronaat geen significante impact hebben op botweefsel op structureel of cellulair niveau en de bot(re)modellering dus niet zouden verhinderen. (Richbourg et al., 2018) Aangezien de studie werd uitgevoerd op gezonde paarden waarvan de geschiedenis en het niveau van arbeid voor de studie niet bekend waren, kan deze informatie mogelijk niet worden geëxtrapoleerd naar jonge volbloeden en sportpaarden in training. Op heden zijn er verder geen studies die het effect van bisfosfonaten op het voorkomen/de heling van (stress)fracturen onderzochten. Nieuwe studies bij paarden moeten hier verder uitsluitsel over geven.

Naast het verder onderzoeken van effecten van bisfosfonaten in de behandeling van podotrochlëitis, spat, immobilisatie-geïnduceerde osteopenie, etc. zijn er mogelijk nog nieuwe indicaties waarvoor een behandeling met bisfosfonaten in aanmerking komt. Naast anekdotische case-reports bestaan er op heden nog geen wetenschappelijke studies omtrent het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van equine odontoclastic tooth resorption en hypercementosis (EOTRH), inflammatie van de processus palmaris van het hofbeen, proximale insertiedesmopathie van de m. interosseus medius, botcysten, exostose van het griffelbeen, botoedeem, enthesopathie van collateraalligamenten en sesamoïditis. (McLellan, 2017; Soto en Barbara, 2014) Gezien hun pathogenese en/of bijhorende letsels zijn deze aandoeningen interessante onderzoeksonderwerpen aangaande behandeling met bisfosfonaten.

8. Conclusie

Over het gebruik van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen bij het paard is het laatste woord nog zeker niet geschreven. De resultaten uit wetenschappelijke studies tonen positieve effecten aan van bisfosfonaten ter behandeling van verschillende orthopedische aandoeningen zoals podotrochlëitis, niet-infectieuze osteoartritis van de tarsaalgewrichten en immobilisatie-geïnduceerde osteopenie. De huidige studies vertonen echter verschillende tekortkomingen waardoor er op heden geen sluitende conclusies kunnen getrokken worden betreffende hun ware effect alsook efficaciteit in de behandeling van deze orthopedische aandoeningen.

Het gebruik van bisfosfonaten bij paarden lijkt omwille van diverse eigenschappen en werkingsmechanismen wel nog veel toekomstmogelijkheden te hebben. Veel farmacologische eigenschappen zijn echter nog niet onderzocht bij het paard . Daarnaast moet er nog meer aandacht geschonken worden aan mogelijke neveneffecten en tegenindicaties.

Meer onderzoek is noodzakelijk om de werkelijke effecten van bisfosfonaten in de behandeling van orthopedische aandoeningen op te helderen alvorens het gebruik bij paarden aan te raden.

9. Referentielijst

- Abe, Y., Kawakami, A., Nakashima, T., Ejima, E., Fujiyama, K., Kiriya, T., Ide, A., Sera, N., Usa, T., Tominaga, T., Ashizawa, K., Yokoyama, N., Eguchi, K., 2000. Etidronate inhibits human osteoblast apoptosis by inhibition of pro-apoptotic factor(s) produced by activated T cells. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 136, 344-354.
- Adami, S., Bhalla, A.K., Dorizzi, R., Montesanti, F., Rosini, S., Salvagno, G., Lo Cascio, V., 1987. The acute-phase response after bisphosphonate administration. *Calcified tissue international* 41, 326-331.
- Amin, D., Cornell, S.A., Gustafson, S.K., Needle, S.J., Ullrich, J.W., Bilder, G.E., Perrone, M.H., 1992. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *Journal of lipid research* 33, 1657-1663.
- Anderson, J.D., Galuppo, L.D., Barr, B.C., Puchalski, S.M., Macdonald, M.M., Whitcomb, M.B., Magdesian, K.G., Stover, S.M., 2008. Clinical and scintigraphic findings in horses with a bone fragility disorder: 16 cases (1980-2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 232, 1694-1699.
- Arens, A.M., Barr, B., Puchalski, S.M., Poppenga, R., Kulin, R.M., Anderson, J., Stover, S.M., 2011. Osteoporosis associated with pulmonary silicosis in an equine bone fragility syndrome. *Veterinary pathology* 48, 593-615.
- Azuma, Y., Sato, H., Oue, Y., Okabe, K., Ohta, T., Tsuchimoto, M., Kiyoki, M., 1995. Alendronate distributed on bone surfaces inhibits osteoclastic bone resorption in vitro and in experimental hypercalcemia models. *Bone* 16, 235-245.
- Baass, F., Russell, R.G., 2004. Ibandronate in osteoporosis: preclinical data and rationale for intermittent dosing. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 15, 423-433.
- Baxter, G., Stashak, T., 2011. Lameness in the extremities: The Foot. In: Adams & Stashak's Lameness in Horses, Sixth Edn. Wiley-Blackwell, West-Sussex, UK, pp. 475-558
- Bellido, T., Plotkin, L.I., 2011. Novel actions of bisphosphonates in bone: preservation of osteoblast and osteocyte viability. *Bone* 49, 50-55.
- Blomen, L.J.M.J., 1995. Discovery and history of the non-medical use of bisphosphonates. Chapter 7, In bisphosphonates on Bone. Bijvoet, O., et al. Eds.: Elsevier Science B.V. Amsterdam, pp.111-124
- Bonnet, C.S., Walsh, D.A., 2005. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford, England)* 44, 7-16.
- Brown, J.P., Morin, S., Leslie, W., Papaioannou, A., Cheung, A.M., Davison, K.S., Goltzman, D., Hanley, D.A., Hodsman, A., Josse, R., Jovaisas, A., Juby, A., Kaiser, S., Karaplis, A., Kendler, D., Khan, A., Ngui, D., Olszynski, W., Ste-Marie, L.-G., Adachi, J., 2014. Bisphosphonates for treatment of osteoporosis: Expected benefits, potential harms, and drug holidays. *Canadian Family Physician* 60, 324-333.

- Bush, J.M., Fredrickson, R.L., Ehrhart, E.J., 2007. Equine osteosarcoma: a series of 8 cases. *Veterinary pathology* 44, 247-249.
- Cai, G., Laslett, L.L., Aitken, D., Halliday, A., Pan, F., Otahal, P., Speden, D., Winzenberg, T.M., Jones, G., 2018. Effect of Zoledronic Acid and Denosumab in Patients With Low Back Pain and Modic Change: A Proof-of-Principle Trial. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*.
- Carmeliet, P., Jain, R.K., 2000. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407, 249-257.
- Clegg, P.D., Coughlan, A.R., Riggs, C.M., Carter, S.D., 1997. Matrix metalloproteinases 2 and 9 in equine synovial fluids. *Equine Vet J* 29, 343-348.
- Clezardin, P., 2011. Bisphosphonates' antitumor activity: an unravelled side of a multifaceted drug class. *Bone* 48, 71-79.
- Clézardin, P., 2013. Mechanisms of action of bisphosphonates in oncology: a scientific concept evolving from antiresorptive to anticancer activities. *BoneKEY Reports* 2, 267.
- Coleman, R.E., 2005. Bisphosphonates in breast cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 16, 687-695.
- Coudry, V., Thibaud, D., Riccio, B., Audigie, F., Didierlaurent, D., Denoix, J.M., 2007. Efficacy of tiludronate in the treatment of horses with signs of pain associated with osteoarthritic lesions of the thoracolumbar vertebral column. *Am J Vet Res* 68, 329-337.
- Cremers, S.C., Pillai, G., Papapoulos, S.E., 2005. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of bisphosphonates: use for optimisation of intermittent therapy for osteoporosis. *Clinical pharmacokinetics* 44, 551-570.
- Cummings, S.R., Black, D.M., Thompson, D.E., Applegate, W.B., Barrett-Connor, E., Musliner, T.A., Palermo, L., Prineas, R., Rubin, S.M., Scott, J.C., Vogt, T., Wallace, R., Yates, A.J., LaCroix, A.Z., 1998. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *Jama* 280, 2077-2082.
- Currey, J.D., 1988. The effect of porosity and mineral content on the Young's modulus of elasticity of compact bone. *Journal of biomechanics* 21, 131-139.
- David, P., Nguyen, H., Barbier, A., Baron, R., 1996. The bisphosphonate tiludronate is a potent inhibitor of the osteoclast vacuolar H(+)-ATPase. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 11, 1498-1507.
- De Simone, E.A., Perrone, G., Caggiano, N., Lastra, Y., Rubatino, F., Díaz, J., Ferretto, A., de Oca, C.M., Roldán, E., Barbará, M.A.C., 2015. Levels of Cytokines and Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in the Synovial Fluid of Osteoarthritic Horses Treated With Pamidronate. *J. Equine Vet. Sci.* 35, 577-583.
- Delguste, C., Amory, H., Doucet, M., Piccot-Crezollet, C., Thibaud, D., Garnero, P., Detilleux, J., Lepage, O.M., 2007. Pharmacological effects of tiludronate in horses after long-term immobilization. *Bone* 41, 414-421.

Denoix, J.M., Thibaud, D., Riccio, B., 2003. Tiludronate as a new therapeutic agent in the treatment of navicular disease: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Equine Vet J* 35, 407-413.

Drake, W.M., Kendler, D.L., Brown, J.P., 2001. Consensus statement on the modern therapy of Paget's disease of bone from a Western Osteoporosis Alliance symposium. Biannual Foothills Meeting on Osteoporosis, Calgary, Alberta, Canada, September 9-10, 2000. *Clinical therapeutics* 23, 620-626.

Duesterdieck-Zellmer, K.F., Driscoll, N., Ott, J.F., 2012. Concentration-dependent effects of tiludronate on equine articular cartilage explants incubated with and without interleukin-1beta. *Am J Vet Res* 73, 1530-1539.

Duesterdieck-Zellmer, K.F., Moneta, L., Ott, J.F., Larson, M.K., Gorman, E.M., Hunter, B., Lohr, C.V., Payton, M.E., Morre, J.T., Maier, C.S., 2014. Effects of low and high dose intraarticular tiludronate on synovial fluid and clinical variables in healthy horses-a preliminary investigation. *PeerJ* 2, 19.

Dwan, K., Phillipi, C.A., Steiner, R.D., Basel, D., 2014. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta. The Cochrane database of systematic reviews, Cd005088.

Fernandes, J.C., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J.P., 2002. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 39, 237-246.

Flanagan, A.M., Chambers, T.J., 1989. Dichloromethylenebisphosphonate (Cl2MBP) inhibits bone resorption through injury to osteoclasts that resorb Cl2MBP-coated bone. *Bone and mineral* 6, 33-43.

Fleisch, H., Bisaz, S., 1962. ISOLATION FROM URINE OF PYROPHOSPHATE, A CALCIFICATION INHIBITOR. *Am. J. Physiol.* 203, 671-&.

Fleisch, H., Russell, R.G., Francis, M.D., 1969. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science (New York, N.Y.)* 165, 1262-1264.

Fleish, H., Neuman, W.F., 1961. MECHANISMS OF CALCIFICATION - ROLE OF COLLAGEN, POLYPHOSPHATES, AND PHOSPHATASE. *Am. J. Physiol.* 200, 1296-&.

Fogelman, I., Bessent, R.G., Turner, J.G., Citrin, D.L., Boyle, I.T., Greig, W.R., 1978. The use of whole-body retention of Tc-99m diphosphonate in the diagnosis of metabolic bone disease. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 19, 270-275.

Fournier, P., Boissier, S., Filleur, S., Guglielmi, J., Cabon, F., Colombel, M., Clezardin, P., 2002. Bisphosphonates inhibit angiogenesis in vitro and testosterone-stimulated vascular regrowth in the ventral prostate in castrated rats. *Cancer research* 62, 6538-6544.

Francis, M.D., Russell, R.G., Fleisch, H., 1969. Diphosphonates inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo. *Science (New York, N.Y.)* 165, 1264-1266.

Frith, J.C., Monkkonen, J., Blackburn, G.M., Russell, R.G., Rogers, M.J., 1997. Clodronate and liposome-encapsulated clodronate are metabolized to a toxic ATP analog, adenosine 5'-(beta, gamma-

dichloromethylene) triphosphate, by mammalian cells in vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 12, 1358-1367.

Frost, H.M., 1987. Bone "mass" and the "mechanostat": a proposal. *The Anatomical record* 219, 1-9.

Frost, H.M., 1990a. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 1. Redefining Wolff's law: the bone modeling problem. *The Anatomical record* 226, 403-413.

Frost, H.M., 1990b. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *The Anatomical record* 226, 414-422.

Frost, H.M., 1990c. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 3. The hyaline cartilage modeling problem. *The Anatomical record* 226, 423-432.

Gasser, A.B., Morgan, D.B., Fleisch, H.A., Richelle, L.J., 1972. The influence of two diphosphonates on calcium metabolism in the rat. *Clin Sci* 43, 31-45.

Gasser, J.A., Ingold, P., Venturiere, A., Shen, V., Green, J.R., 2008. Long-term protective effects of zoledronic acid on cancellous and cortical bone in the ovariectomized rat. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 23, 544-551.

Giuliani, N., Pedrazzoni, M., Negri, G., Passeri, G., Impicciatore, M., Girasole, G., 1998. Bisphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone* 22, 455-461.

Goa, K.L., Balfour, J.A., 1998. Risedronate. *Drugs & aging* 13, 83-91; discussion 92.

Gough, M.R., Thibaud, D., Smith, R.K., 2010. Tiludronate infusion in the treatment of bone spavin: a double blind placebo-controlled trial. *Equine Vet J* 42, 381-387.

Gralow, J., Tripathy, D., 2007. Managing Metastatic Bone Pain: The Role of Bisphosphonates. *Journal of Pain and Symptom Management* 33, 462-472.

Gray, A.W., Davies, M.E., Jeffcott, L.B., 2002. Generation and activity of equine osteoclasts in vitro: effects of the bisphosphonate pamidronate (APD). *Research in veterinary science* 72, 105-113.

Green, J.R., 2003. Antitumor effects of bisphosphonates. *Cancer* 97, 840-847.

Green, J.R., Muller, K., Jaeggi, K.A., 1994. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new, potent, heterocyclic bisphosphonate compound. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 9, 745-751.

Han, Y., Cowin, S.C., Schaffler, M.B., Weinbaum, S., 2004. Mechanotransduction and strain amplification in osteocyte cell processes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 16689-16694.

- Im, G.I., Qureshi, S.A., Kenney, J., Rubash, H.E., Shanbhag, A.S., 2004. Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials* 25, 4105-4115.
- Janner, M., Muhlbauer, R.C., Fleisch, H., 1991. Sodium EDTA enhances intestinal absorption of two bisphosphonates. *Calcified tissue international* 49, 280-283.
- Kamm, L., McLlwraith, W., Kawcak, C., 2008. A review of the efficacy of tiludronate in the horse. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 209-214.
- Kanis, J.A., Melton, L.J., 3rd, Christiansen, C., Johnston, C.C., Khaltsev, N., 1994. The diagnosis of osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 9, 1137-1141.
- Karsdal, M.A., Leeming, D.J., Dam, E.B., Henriksen, K., Alexandersen, P., Pastoureaux, P., Altman, R.D., Christiansen, C., 2008. Should subchondral bone turnover be targeted when treating osteoarthritis? *Osteoarthritis and cartilage* 16, 638-646.
- Kates, S.L., Ackert-Bicknell, C.L., 2016. How do bisphosphonates affect fracture healing? *Injury* 47 Suppl 1, S65-68.
- Katzman, S.A., Nieto, J.E., Arens, A.M., MacDonald, M.H., Puchalski, S.M., Galuppo, L.D., Snyder, J.R., Maher, O., Bell, R.J.W., 2012. Use of zoledronate for treatment of a bone fragility disorder in horses. *JAVMA-J. Am. Vet. Med. Assoc.* 240, 1323-1328.
- Kawcak, C., Baxter, G., 2011. Bone Injuries and Disease. In: Adams & Stashak's Lameness in Horses, Sixth Edn. Wiley-Blackwell, West-Sussex, UK, pp.890-925
- Kidd, L.J., Cowling, N.R., Wu, A.C., Kelly, W.L., Forwood, M.R., 2011. Bisphosphonate treatment delays stress fracture remodeling in the rat ulna. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 29, 1827-1833.
- Kim, H.K., Kim, J.H., Abbas, A.A., Yoon, T.R., 2009. Alendronate enhances osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells: a preliminary study. *Clinical orthopaedics and related research* 467, 3121-3128.
- Komura, H., Iwaki, M., 2008. Species differences in in vitro and in vivo small intestinal metabolism of CYP3A substrates. *Journal of pharmaceutical sciences* 97, 1775-1800.
- Kwan Tat, S., Lajeunesse, D., Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J., 2010. Targeting subchondral bone for treating osteoarthritis: what is the evidence? Best practice & research. *Clinical rheumatology* 24, 51-70.
- Lampropoulou-Adamidou, K., Dontas, I., Stathopoulos, I.P., Khaldi, L., Lelovas, P., Vlamis, J., Triantafillopoulos, I.K., Papaioannou, N.A., 2014. Chondroprotective effect of high-dose zoledronic acid: An experimental study in a rabbit model of osteoarthritis. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 32, 1646-1651.
- Lehenkari, P.P., Kellinsalmi, M., Napankangas, J.P., Ylitalo, K.V., Monkkonen, J., Rogers, M.J., Azhayev, A., Vaananen, H.K., Hassinen, I.E., 2002. Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of

mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite. *Molecular pharmacology* 61, 1255-1262.

Ling, Y., Sahota, G., Odeh, S., Chan, J.M.W., Araujo, F.G., Moreno, S.N.J., Oldfield, E., 2005. Bisphosphonate Inhibitors of *Toxoplasma gondi* Growth: In Vitro, QSAR, and In Vivo Investigations. *Journal of medicinal chemistry* 48, 3130-3140.

Lozano-Calderon, S., Colman, M., Raskin, K., J Hornicek, F., Gebhardt, M., 2014. Use of Bisphosphonates in Orthopedic Surgery: Pearls and Pitfalls.

Major, P., Lortholary, A., Hon, J., Abdi, E., Mills, G., Menssen, H.D., Yunus, F., Bell, R., Body, J., Quebe-Fehling, E., Seaman, J., 2001. Zoledronic acid is superior to pamidronate in the treatment of hypercalcemia of malignancy: a pooled analysis of two randomized, controlled clinical trials. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 19, 558-567.

Marshall, C.J., 1993. Protein prenylation: a mediator of protein-protein interactions. *Science (New York, N.Y.)* 259, 1865-1866.

Maruotti, N., Corrado, A., Neve, A., Cantatore, F.P., 2012. Bisphosphonates: effects on osteoblast. *European journal of clinical pharmacology* 68, 1013-1018.

Masarachia, P., Weinreb, M., Balena, R., Rodan, G.A., 1996. Comparison of the distribution of 3H-alendronate and 3H-etidronate in rat and mouse bones. *Bone* 19, 281-290.

Mashiba, T., Turner, C.H., Hirano, T., Forwood, M.R., Johnston, C.C., Burr, D.B., 2001. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles. *Bone* 28, 524-531.

Matarazzo, P., Lala, R., Masi, G., Andreo, M., Altare, F., de Sanctis, C., 2002. Pamidronate treatment in bone fibrous dysplasia in children and adolescents with McCune-Albright syndrome. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM* 15 Suppl 3, 929-937.

Mathov, I., Plotkin, L.I., Sgarlata, C.L., Leoni, J., Bellido, T., 2001. Extracellular signal-regulated kinases and calcium channels are involved in the proliferative effect of bisphosphonates on osteoblastic cells in vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 16, 2050-2056.

McClung, M.R., Geusens, P., Miller, P.D., Zippel, H., Bensen, W.G., Roux, C., Adami, S., Fogelman, I., Diamond, T., Eastell, R., Meunier, P.J., Reginster, J.Y., 2001. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *The New England journal of medicine* 344, 333-340.

McLellan, J., 2017. Science-in-brief: Bisphosphonate use in the racehorse: Safe or unsafe? *Equine Vet. J.* 49, 404-407.

Menschutkin, N. 1865. Ueber die Einwirkung des Chloracetyls auf phosphorige Saure. *Annalen der Chemie und Pharmacie* 133, 317-320

- Mhaskar, R., Redzepovic, J., Wheatley, K., Clark, O.A., Miladinovic, B., Glasmacher, A., Kumar, A., Djulbegovic, B., 2012. Bisphosphonates in multiple myeloma: a network meta-analysis. The Cochrane database of systematic reviews, Cd003188.
- Miller, P.D., 2011. The kidney and bisphosphonates. *Bone* 49, 77-81.
- Mirрахимов, A.E., 2015. Hypercalcemia of Malignancy: An Update on Pathogenesis and Management. *North American Journal of Medical Sciences* 7, 483-493.
- Moreau, M., Rialland, P., Pelletier, J.P., Martel-Pelletier, J., Lajeunesse, D., Boileau, C., Caron, J., Frank, D., Lussier, B., del Castillo, J.R., Beauchamp, G., Gauvin, D., Bertaim, T., Thibaud, D., Troncy, E., 2011. Tiludronate treatment improves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model. *Arthritis research & therapy* 13, R98.
- Moreno, B., Bailey, B.N., Luo, S., Martin, M.B., Kuhlenschmidt, M., Moreno, S.N., Docampo, R., Oldfield, E., 2001. ³¹P NMR of apicomplexans and the effects of risedronate on *Cryptosporidium parvum* growth. *Biochemical and biophysical research communications* 284, 632-637.
- Moriyama, Y., Nomura, M., 2018. Clodronate: A Vesicular ATP Release Blocker. *Trends in pharmacological sciences* 39, 13-23.
- Morris, C.D., Einhorn, T.A., 2005. Bisphosphonates in orthopaedic surgery. *The Journal of bone and joint surgery. American volume* 87, 1609-1618.
- Muhlbauer, R.C., Russell, R.G., Williams, D.A., Fleisch, H., 1971. The effects of diphosphonates, polyphosphates, and calcitonin on "immobilisation osteoporosis" in rats. *European journal of clinical investigation* 1, 336-344.
- Murakami, H., Takahashi, N., Sasaki, T., Udagawa, N., Tanaka, S., Nakamura, I., Zhang, D., Barbier, A., Suda, T., 1995. A possible mechanism of the specific action of bisphosphonates on osteoclasts: tiludronate preferentially affects polarized osteoclasts having ruffled borders. *Bone* 17, 137-144.
- Nagae, M., Hiraga, T., Wakabayashi, H., Wang, L., Iwata, K., Yoneda, T., 2006. Osteoclasts play a part in pain due to the inflammation adjacent to bone. *Bone* 39, 1107-1115.
- Nakamura, I., Takahashi, N., Jimi, E., Udagawa, N., Suda, T., 2012. Regulation of osteoclast function. *Modern Rheumatology* 22, 167-177.
- Nakaya, H., Osawa, G., Iwasaki, N., Cochran, D.L., Kamo, K., Oates, T.W., 2000. Effects of bisphosphonate on matrix metalloproteinase enzymes in human periodontal ligament cells. *Journal of periodontology* 71, 1158-1166.
- Nancollas, G.H., Tang, R., Phipps, R.J., Henneman, Z., Gulde, S., Wu, W., Mangood, A., Russell, R.G., Ebetino, F.H., 2006. Novel insights into actions of bisphosphonates on bone: differences in interactions with hydroxyapatite. *Bone* 38, 617-627.
- Nieto, J.E., Maher, O., Stanley, S.D., Knych, H.K., Snyder, J.R., 2013. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of zoledronic acid in horses. *Am J Vet Res* 74, 550-556.

Nishikawa, M., Akatsu, T., Katayama, Y., Yasutomo, Y., Kado, S., Kugal, N., Yamamoto, M., Nagata, N., 1996. Bisphosphonates act on osteoblastic cells and inhibit osteoclast formation in mouse marrow cultures. *Bone* 18, 9-14.

Orriss, I.R., Key, M.L., Colston, K.W., Arnett, T.R., 2009. Inhibition of osteoblast function in vitro by aminobisphosphonates. *Journal of cellular biochemistry* 106, 109-118.

Pan, B., Farrugia, A.N., To, L.B., Findlay, D.M., Green, J., Lynch, K., Zannettino, A.C., 2004. The nitrogen-containing bisphosphonate, zoledronic acid, influences RANKL expression in human osteoblast-like cells by activating TNF-alpha converting enzyme (TACE). *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 19, 147-154.

Papapoulos, S.E., Hoekman, K., Lowik, C.W., Vermeij, P., Bijvoet, O.L., 1989. Application of an in vitro model and a clinical protocol in the assessment of the potency of a new bisphosphonate. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 4, 775-781.

Pasternak, B., Aspenberg, P., 2009. Metalloproteinases and their inhibitors-diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics. *Acta orthopaedica* 80, 693-703.

Pelletier, J.P., Troncy, E., Bertaim, T., Thibaud, D., Goulet, A.C., Abram, F., Caron, J., Boileau, C., d'Anjou, M.A., Moreau, M., Lussier, B., Martel-Pelletier, J., 2011. Treatment with tiludronic acid helps reduce the development of experimental osteoarthritis lesions in dogs with anterior cruciate ligament transection followed by reconstructive surgery: a 1-year study with quantitative magnetic resonance imaging. *The Journal of rheumatology* 38, 118-128.

Plotkin, L.I., Lezcano, V., Thostenson, J., Weinstein, R.S., Manolagas, S.C., Bellido, T., 2008. Connexin 43 is required for the anti-apoptotic effect of bisphosphonates on osteocytes and osteoblasts in vivo. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 23, 1712-1721.

Plotkin, L.I., Weinstein, R.S., Parfitt, A.M., Roberson, P.K., Manolagas, S.C., Bellido, T., 1999. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *The Journal of clinical investigation* 104, 1363-1374.

Porras, A.G., Holland, S.D., Gertz, B.J., 1999. Pharmacokinetics of alendronate. *Clinical pharmacokinetics* 36, 315-328.

Räkel, A., Boucher, A., Ste-Marie, L.-G., 2011. Role of zoledronic acid in the prevention and treatment of osteoporosis. *Clinical Interventions in Aging* 6, 89-99.

Richbourg, H.A., Mitchell, C.F., Gillett, A.N., McNulty, M.A., 2018. Tiludronate and clodronate do not affect bone structure or remodeling kinetics over a 60 day randomized trial. *BMC veterinary research* 14, 105.

Ridley, A.J., Hall, A., 1992. The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 70, 389-399.

Ridley, A.J., Paterson, H.F., Johnston, C.L., Diekmann, D., Hall, A., 1992. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 70, 401-410.

Rogers, M.J., Brown, R.J., Hodkin, V., Blackburn, G.M., Russell, R.G., Watts, D.J., 1996. Bisphosphonates are incorporated into adenine nucleotides by human aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. *Biochemical and biophysical research communications* 224, 863-869.

Rogers, M.J., Crockett, J.C., Coxon, F.P., Monkkonen, J., 2011. Biochemical and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Bone* 49, 34-41.

Rolando, J., Polli, M., Caggiano, N., Perrone, G., De Simone, E., Chiappe Barbará, M.A., 2013. Aplicación de la determinación de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en las enfermedades articulares equinas.

Rossini, M., Viapiana, O., Ramonda, R., Bianchi, G., Olivieri, I., Lapadula, G., Adami, S., 2009. Intra-articular clodronate for the treatment of knee osteoarthritis: dose ranging study vs hyaluronic acid. *Rheumatology (Oxford, England)* 48, 773-778.

Russell, R.G., Muhlbauer, R.C., Bisaz, S., Williams, D.A., Fleisch, H., 1970. The influence of pyrophosphate, condensed phosphates, phosphonates and other phosphate compounds on the dissolution of hydroxyapatite in vitro and on bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture and in thyroparathyroidectomised rats. *Calcified tissue research* 6, 183-196.

Russell, R.G., Watts, N.B., Ebetino, F.H., Rogers, M.J., 2008. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 19, 733-759.

Russell, R.G.G., 2006. Bisphosphonates - From bench to bedside, In: *Skeletal Development and Remodeling in Health, Disease, and Aging*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 367-401.

Russell, R.G.G., 2011. Bisphosphonates: The first 40 years. *Bone* 49, 2-19.

Russell, R.G.G., Bisaz, S., Donath, A., Morgan, D.B., Fleisch, H., 1971. INORGANIC PYROPHOSPHATE IN PLASMA IN NORMAL PERSONS AND IN PATIENTS WITH HYPOPHOSPHATASIA, OSTEOGENESIS IMPERFECTA, AND OTHER DISORDERS OF BONE. *J. Clin. Invest.* 50, 961-&.

Sahni, M., Guenther, H.L., Fleisch, H., Collin, P., Martin, T.J., 1993. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. *The Journal of clinical investigation* 91, 2004-2011.

Sanders, J.M., Ghosh, S., Chan, J.M., Meints, G., Wang, H., Raker, A.M., Song, Y., Colantino, A., Burzynska, A., Kafarski, P., Morita, C.T., Oldfield, E., 2004. Quantitative structure-activity relationships for gammadelta T cell activation by bisphosphonates. *Journal of medicinal chemistry* 47, 375-384.

Santini, D., Stumbo, L., Spoto, C., D'Onofrio, L., Pantano, F., Iuliani, M., Fioramonti, M., Zoccoli, A., Ribelli, G., Virzì, V., Vincenzi, B., Tonini, G., 2015. Bisphosphonates as anticancer agents in early breast cancer: preclinical and clinical evidence. *Breast Cancer Research : BCR* 17, 121.

- Sato, M., Grasser, W., Endo, N., Akins, R., Simmons, H., Thompson, D.D., Golub, E., Rodan, G.A., 1991. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J. Clin. Invest.* 88, 2095-2105.
- Saviola, G., Abdi-Ali, L., Povino, M.R., Campostrini, L., Sacco, S., Carbonare, L.D., 2017. Intramuscular clodronate in erosive osteoarthritis of the hand is effective on pain and reduces serum COMP: a randomized pilot trial-The ER.O.D.E. study (ERosive Osteoarthritis and Disodium-clodronate Evaluation). *Clinical rheumatology* 36, 2343-2350.
- Schenk, R., Eggli, P., Fleisch, H., Rosini, S., 1986. QUANTITATIVE MORPHOMETRIC EVALUATION OF THE INHIBITORY ACTIVITY OF NEW AMINOBISPHOSPHONATES ON BONE-RESORPTION IN THE RAT. *Calcified tissue international* 38, 342-349.
- Schenk, R., Merz, W.A., Muhlbauer, R., Russell, R.G., Fleisch, H., 1973. Effect of ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonate (EHDP) and dichloromethylene diphosphonate (Cl 2 MDP) on the calcification and resorption of cartilage and bone in the tibial epiphysis and metaphysis of rats. *Calcified tissue research* 11, 196-214.
- Schibler, D., Russell, R.G.G., Fleisch, H., 1968. INHIBITION BY PYROPHOSPHATE AND POLY-PHOSPHATE OF AORTIC CALCIFICATION INDUCED BY VITAMIN D3 IN RATS. *Clin. Sci.* 35, 363-&.
- Seeman, E., Delmas, P.D., 2006. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *The New England journal of medicine* 354, 2250-2261.
- Selander, K.S., Monkkonen, J., Karhukorpi, E.K., Harkonen, P., Hannuniemi, R., Vaananen, H.K., 1996. Characteristics of clodronate-induced apoptosis in osteoclasts and macrophages. *Molecular pharmacology* 50, 1127-1138.
- Siris, E.S., 1998. Paget's disease of bone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 13, 1061-1065.
- So, A., Chin, J., Fleshner, N., Saad, F., 2012. Management of skeletal-related events in patients with advanced prostate cancer and bone metastases: Incorporating new agents into clinical practice. *Canadian Urological Association Journal* 6, 465-470.
- Soto, S.A., Barbara, A.C., 2014. Bisphosphonates: Pharmacology and Clinical Approach to Their Use in Equine Osteoarticular Diseases. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 727-737.
- Spector, T.D., Conaghan, P.G., Buckland-Wright, J.C., Garner, P., Cline, G.A., Beary, J.F., Valent, D.J., Meyer, J.M., 2005. Effect of risedronate on joint structure and symptoms of knee osteoarthritis: results of the BRISK randomized, controlled trial [ISRCTN01928173]. *Arthritis research & therapy* 7, R625-633.
- Sternlicht, H., Glezerman, I.G., 2015. Hypercalcemia of malignancy and new treatment options. *Therapeutics and Clinical Risk Management* 11, 1779-1788.
- Strang, P., 1996. Analgesic effect of bisphosphonates on bone pain in breast cancer patients: a review article. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)* 35 Suppl 5, 50-54.

Strassle, B.W., Mark, L., Leventhal, L., Piesla, M.J., Jian Li, X., Kennedy, J.D., Glasson, S.S., Whiteside, G.T., 2010. Inhibition of osteoclasts prevents cartilage loss and pain in a rat model of degenerative joint disease. *Osteoarthritis and cartilage* 18, 1319-1328.

Stutzer, A., Fleisch, H., Trechsel, U., 1988. Short- and long-term effects of a single dose of bisphosphonates on retinoid-induced bone resorption in thyroparathyroidectomized rats. *Calcified tissue international* 43, 294-299.

Su, X., Sun, K., Cui, F.Z., Landis, W.J., 2003. Organization of apatite crystals in human woven bone. *Bone* 32, 150-162.

Sullins, K., 2011. Lameness in the extremities: The Tarsus and Tibia. In: Adams & Stashak's Lameness in Horses, Sixth Edn. Wiley-Blackwell, West-Sussex, UK, pp.725-770

Tada, M., Inui, K., Sugiyoka, Y., Mamoto, K., Okano, T., Anno, S., Koike, T., 2017. Use of bisphosphonate might be important to improve bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis even under tight control: the TOMORROW study. *Rheumatol Int* 37, 999-1005.

Takata, S., Yasui, N., 2001. Disuse osteoporosis. *The journal of medical investigation* : JMI 48, 147-156.

Thompson, K., Rogers, M.J., 2004. Statins prevent bisphosphonate-induced gamma,delta-T-cell proliferation and activation in vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 19, 278-288.

Tomlin, J.L., Sturgeon, C., Pead, M.J., Muir, P., 2000. Use of the bisphosphonate drug alendronate for palliative management of osteosarcoma in two dogs. *The Veterinary record* 147, 129-132.

Trechsel, U., Stutzer, A., Fleisch, H., 1987. Hypercalcemia induced with an arotinoid in thyroparathyroidectomized rats. New model to study bone resorption in vivo. *The Journal of clinical investigation* 80, 1679-1686.

Turek, J., Ebetino, F.H., Lundy, M.W., Sun, S., Kashemirov, B.A., McKenna, C.E., Gallant, M.A., Plotkin, L.I., Bellido, T., Duan, X., Triffitt, J.T., Russell, R.G., Burr, D.B., Allen, M.R., 2012. Bisphosphonate binding affinity affects drug distribution in both intracortical and trabecular bone of rabbits. *Calcified tissue international* 90, 202-210.

Turner, C.H., 2006. Bone strength: current concepts. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1068, 429-446.

Tyrovola, J.B., 2015. The "Mechanostat Theory" of Frost and the OPG/RANKL/RANK System. *Journal of cellular biochemistry* 116, 2724-2729.

Tyrovola, J.B., Spyropoulos, M.N., Makou, M., Perrea, D., 2008. Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system: a mini review. *Journal of oral science* 50, 367-376.

Valenti, M.T., Mottes, M., Biotti, A., Perduca, M., Pisani, A., Bovi, M., Deiana, M., Cheri, S., Dalle Carbonare, L., 2017. Clodronate as a Therapeutic Strategy against Osteoarthritis. *International Journal of Molecular Sciences* 18, 2696.

Varela, A.M., Lepage, O.M., Garnero, P., Marcoux, M., 2001. Tiludronate in horses: Tolerance and effects on bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 16, S407-S407.

Vaysbrot, E.E., Osani, M.C., Musetti, M.C., McAlindon, T.E., Bannuru, R.R., 2018. Are bisphosphonates efficacious in knee osteoarthritis? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Osteoarthritis and cartilage* 26, 154-164.

Viereck, V., Emons, G., Lauck, V., Frosch, K.H., Blaschke, S., Grundker, C., Hofbauer, L.C., 2002. Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. *Biochemical and biophysical research communications* 291, 680-686.

Whitfield, C.T., Schoonover, M.J., Holbrook, T.C., Payton, M.E., Sippel, K.M., 2016. Quantitative assessment of two methods of tiludronate administration for the treatment of lameness caused by navicular syndrome in horses. *Am J Vet Res* 77, 167-173.

Wong, M.H., Stockler, M.R., Pavlakis, N., 2012. Bisphosphonates and other bone agents for breast cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*, Cd003474.

Wood, J., Bonjean, K., Ruetz, S., Bellahcene, A., Devy, L., Foidart, J.M., Castronovo, V., Green, J.R., 2002. Novel antiangiogenic effects of the bisphosphonate compound zoledronic acid. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 302, 1055-1061.

Xing, R.L., Zhao, L.R., Wang, P.M., 2016. Bisphosphonates therapy for osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *SpringerPlus* 5, 1704.

Yu, H., Qin, A., 2009. Could local delivery of bisphosphonates be a new therapeutic choice for hemangiomas? *Medical hypotheses* 73, 495-497.

Yukizawa, Y., Inaba, Y., Kobayashi, N., Choe, H., Kubota, S., Saito, T., 2017. Efficacy of Alendronate for the Prevention of Bone Loss in Calcar Region Following Total Hip Arthroplasty. *The Journal of arthroplasty* 32, 2176-2180.

Zhang, D., Udagawa, N., Nakamura, I., Murakami, H., Saito, S., Yamasaki, K., Shibasaki, Y., Morii, N., Narumiya, S., Takahashi, N., et al., 1995. The small GTP-binding protein, rho p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. *Journal of cell science* 108 (Pt 6), 2285-2292.

Zhao, H., Liu, S., Huang, D., Xu, Q., Shuto, T., Iwamoto, Y., 2006. The protective effects of incadronate on inflammation and joint destruction in established rat adjuvant arthritis. *Rheumatology International* 26, 732-740.