

Roli i olanzapinës në modulimin e homeostazës kockore – hulumtim eksperimental paraklinik

Saranda Disha-Ibrahimi, Furlani B, Drevenšek G, Hudoklin S, Marc J, Prodan Žitnik I, Drevenšek M

Autorë

Saranda Disha Ibrahimi

Departamenti i Parodontologjisë dhe Mjekësisë Orale, Fakulteti i Mjekësisë, Universiteti i Prishtinës, Prishtinë, Kosovë

B. Furlani, G. Drevenšek

Departamenti i Farmakologjisë dhe Toksikologjisë Eksperimentale, Fakulteti i Mjekësisë, Universiteti i Ljubljanes, Ljubljane, Slloveni

S. Hudoklin

Departamenti i Biologjisë Qelizore, Fakulteti i Mjekësisë, Universiteti i Ljubljanes, Ljubljane, Slloveni

J. Marc, I. I. Prodan Žitnik

Departamenti i Biokimisë Klinike, Fakulteti i Farmacisë, Universiteti i Ljubljanes, Ljubljane, Slloveni

M. Drevenšek

Departamenti i Ortodoncisë, Fakulteti i Mjekësisë, Universiteti i Ljubljanes, Ljubljane, Slloveni

Për korrespondencë

Saranda Disha Ibrahimi

saranda.disha@uni-pr.edu

ABSTRACT

Long-term use of olanzapine may adversely affect oral health by disrupting bone homeostasis and increasing the risk of alveolar resorption and structural bone damage. This preclinical experimental investigation aimed to elucidate the role of olanzapine in modulating bone homeostasis during orthodontic tooth movement, with a specific emphasis on the expression of Dentin Matrix Protein 1 (DMP1), a pivotal marker of osteocyte activity and skeletal remodeling. Thirty male Wistar rats were randomly allocated into experimental groups receiving olanzapine (2 mg/kg/day, orally), orthodontic force, or a combination thereof, alongside a control group. Orthodontic force was applied for five weeks using a closed-coil superelastic spring. Analyses were conducted on days 21 and 56, including histomorphometric evaluation of alveolar bone and quantitative gene expression analysis via RT-PCR for Dmp1, with GAPDH as the endogenous control. Short-term administration of olanzapine led to a statistically significant downregulation of Dmp1 expression on day 21 compared to controls ($P = 0.0003$; $P = 0.0228$). On day 56, Dmp1 expression remained significantly suppressed in the group subjected to combined olanzapine treatment and orthodontic force ($P = 0.0021$; $P = 0.0432$), indicating a sustained interference of olanzapine with bone remodeling pathways under

mechanical loading conditions. The data suggest that olanzapine impairs osteocyte maturation and function by attenuating Dmp1 expression, thereby potentially disrupting alveolar bone remodeling during orthodontic tooth movement. These findings underscore the need for careful skeletal monitoring in patients undergoing long-term olanzapine therapy, particularly those exposed to orthodontic or biomechanical interventions.

Keywords: olanzapine, Dmp1 expression, orthodontic forces, mice.

ABSTRAKTI

Përdorimi afatgjatë i olanzapinës mund të ndikojë negativisht në shëndetin oral duke dëmtuar homeostazën kockore dhe duke rritur rrezikun për resorbim alveolar si dhe dëmtime strukturore të kockës. Ky studim paraklinik eksperimental synon të vlerësoj ndikimin e olanzapinës në modulimin e homeostazës kockore gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve, me fokus të veçantë në ekspresionin e proteinës Dentin Matrix Protein 1 (DMP1), një marker thelbësor i aktivitetit të osteociteve dhe rimodelimit skeletor. Tridhjetë minj meshkuj të racës Wistar u ndanë në mënyrë të rastësishme, në grupe eksperimentale që morën olanzapinë (2 mg/kg/ditë, oral), forcë ortodontike ose një kombinim të të dyjave, krahasuar me grupin kontroll. Forca ortodontike është aplikuar për pesë javë nëpërmjet një suste të mbyllur superelastike. Analizat janë realizuar në ditët 21 dhe

56, duke përfshirë histomorfometrinë e kockës alveolare dhe analizën kuantitative të ekspresionit të gjeneve përmes RT-PCR për Dmp1, me përdorimin e gjenit GAPDH si kontroll endogjen. Administrimi afatshkurtër i olanzapinës rezultoi në një ulje të ekspresionit të Dmp1 në ditën e 21-të në krahasim me grupin kontroll, me dallim të rëndësishëm sinjifikant ($P = 0.0003$; $P = 0.0228$). Në ditën e 56-të, ulja e ekspresionit të Dmp1 ka vazhduar të vërehet në grupin e trajtuar me olanzapinë dhe forcë ortodontike ($P = 0.0021$; $P = 0.0432$), duke sugjeruar një ndërhyrje të vazhdueshme të olanzapinës në mekanizmat e rimodelimit kockor, veçanërisht në ngarkesë mekanike. Gjetjet e këtij studimi tregojnë se olanzapina kompromenton funksionin e osteociteve përmes uljes së ekspresionit të Dmp1, duke dëmtuar potencialisht procesin e rimodelimit kockor gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve. Këto rezultate nënvizojnë rëndësinë e monitorimit të shëndetit skeletor te pacientët në terapi kronike me olanzapinë, sidomos ata që i nënshtrohen forcave biomekanike si trajtimi ortodontik.

Fjalët kyçe: olanzapina, ekspresioni Dmp1, forcat ortodontike, minjtë.

Hyrje

Olanzapina është një antipsikotik atipik i gjeneratës së dytë, që gjen përdorim të gjerë në trajtimin e skizofrenisë, çrregullimit bipolar dhe çrregullimeve të tjera psikiatrike. Megjithatë ofron përfitime të rëndësishme terapeutike, përdorimi i saj shoqërohet me një sërë efektsh anësore, përfshirë çrregullime metabolike, shtim në peshë dhe ndryshime në funksionin endokrin [1].

Hulumtimet më të fundit kanë theksuar ndikimin potencial të olanzapinës në metabolizmin e kockave, duke sugjeruar implikime të rëndësishme për shëndetin kockor. Të dhënat gjithnjë e më shumë tregojnë se antipsikotikët, përfshirë olanzapinën, mund të ndërhyjnë në mekanizmat që rregullojnë homeostazën e kockave, duke ndikuar negativisht në densitetin mineral dhe forcën strukturore të tyre [2]. Olanzapina është raportuar të ndikojë negativisht në metabolizmin e kalciumit dhe të vitaminës D, duke rezultuar në inhibimin e aktivitetit të osteoblasteve dhe në rritjen e aktivitetit të osteoklasteve. Ky disbalanc biologjik mund të kontribuojë në reduktimin e densitetit mineral të kockave, duke rritur rrezikun për osteopeni dhe osteoporozë [3]. Një ndër komponentët kyç të përfshirë në këtë proces është DMP1 (Dentin Matrix Protein 1), një proteinë esenciale për mineralizimin e indeve të kockave dhe dhëmbëve. Kjo proteinë gjendet kryesisht në osteocite dhe osteoblaste, dhe luan një rol thelbësor në rregullimin e proceseve të mineralizimit kockor [4, 5].

Një studim ka demonstruar se ekspresioni i proteinës DMP1 rritet në përgjigje ndaj aplikimit të forcave me-

kanike në kockë, duke ndikuar në mënyrë të ndjeshme në funksionin e osteociteve dhe osteoblasteve. Kjo rritje e ekspresionit është evidentuar si në zonat e apozicionimit, ashtu edhe në ato të resorbimit kockor. Këto gjetje sugjerojnë se DMP1 ka një rol të rëndësishëm në procesin e përshtatjes së kockës ndaj stimulave mekanikë, veçanërisht gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve [6]. Studimi nga Shoji-Matsunaga me bp., ka raportuar se osteocitet përbëjnë burimin kryesor të RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand) në indet parodontale, ndërsa proteina DMP1 është e përfshirë në rregullimin e ekspresionit të RANKL, që përfaqëson një molekulë kyçe në aktivizimin e osteoklasteve. Këto gjetje sugjerojnë se DMP1 luan një rol thelbësor në modulimin e aktivitetit të osteoklasteve gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve, duke ndikuar në dinamikën e riformimit kockor në kontekstin e forcave mekanike të aplikuara [7].

Ekspresioni i rritur i DMP1 është vërejtur si përgjigje ndaj stresit mekanik, duke sugjeruar një rol të rëndësishëm në ndërmjetësimin e rimodelimit kockor gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve (OTM). Studimet kanë demonstruar se ekspresioni i DMP1 shtohet në ligamentin periodontal (PDL) dhe në cementin e rrenjës së dhëmbit gjatë procesit të OTM, veçanërisht në anën e tensionit. Kjo evidencë mbështet përfshirjen e DMP1 në proceset e mineralizimit të kockës dhe të cementit të formuar rishtazi [8]. Mund të theksohet se DMP1 është një proteinë thelbësore për mineralizimin e kockave dhe dhëmbëve, duke luajtur një rol kyç në rregullimin e procesit të remodelimit kockor gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve.

Lëvizja ortodontike e dhëmbëve (LODH) është një proces biologjik që rezulton nga aplikimi i forcave mekanike mbi dhëmbët dhe përbëhet nga disa faza [9].

Lëvizja ortodontike e dhëmbëve është një mekanizëm që përfshin adaptimin biomekanik të procesit alveolar dhe indit parodontal [10, 11]. Gjatë LODH formohen zona presioni dhe tensioni në ligamentin periodontal; zonat e presionit, të vendosura në drejtim të aplikimit të forcës, karakterizohen nga resorbimi i kockës alveolare, ndërsa në zonat e tensionit, që ndodhen në anën e kundërt, ndodh formimi i kockës së re. Për studimin e këtij remodelimi të përshtetshëm të kockës, modeli i kafshëve, veçanërisht minjtë, konsiderohet një model eksperimental i përshtatshëm [12, 13].

Qëllimi i këtij studimi është të përcaktojë rolin e olanzapinës në remodelimin e kockës alveolare gjatë lëvizjes ortodontike të dhëmbëve, duke vlerësuar ndikimin e saj në ekspresionin e DMP1 në qelizat osteoblaste të minjve Wistar.

Materiali dhe metoda

Në këtë studim u përdorën tridhjetë minj meshkuj të racës Wistar (peshë 260–280 g; moshë 13–15 javëshe) (**Figura 1**). Kafshët u mbajtën në kushte standarde laboratorike të kontrolluara (temperatura: 23–25 °C; cikël ditë/natë prej 12 orësh), me qasje të lirë në ushqim dhe ujë. Të gjitha procedurat eksperimentale u aprovuan nga Komiteti Etik për Eksperimente me Kafshë të Republikës së Sllovenisë (Nr. 34401-62/2008/20) dhe u zhvilluan në përputhje me Direktivën e Bashkimit Evropian 2010/63/EU për mbrojtjen dhe mirëqenien e kafshëve laboratorike.

Minjtë u ndanë në mënyrë të rastësishme për të marrë olanzapinë (2 mg/kg/ditë, në rrugë orale; Krka d.d., Slloveni) ose solucion mbajtës (ujë i kripur) për një periudhë prej 21 ditësh. Në ditën e 21-të, një nën-grup i kafshëve ($n = 6$ për grup) u sakrifikuara për të vlerësuar ndryshimet e hershme në metabolizmin kockor. Minjtë e mbetur u ndanë në katër grupe eksperimentale: grupi kontroll, grupi me vetëm olanzapinë, grupi me vetëm pajisje ortodontike (forcë mekanike), dhe grupi me olanzapinë të kombinuar me pajisje ortodontike.

Forca ortodontike u aplikua për pesë javë përmes një suste të mbyllur superelastike, e vendosur ndërmjet molarit të dytë dhe incizivit qendror të maksillës, me qëllim të stimulimit të remodelimit të kockës alveolare (**Figura 2**).

Analiza histomorfometrike e kockës

Në përfundim të eksperimentit (ditët 21 dhe 56), minjtë u anestezuan dhe më pas u eutanazuan në përputhje me protokollet etike. Segmentet e maksillës që përfshinin zonën përreth molarit të dytë u eksplantuan, u fiksuan në paraformaldehid 4% dhe u dekalcifikuan në tretësirë EDTA 10%. Mostrat u përpunuan për përfshirje në parafinë, u prerë në seksione të holla dhe u ngjyrosën me hematoksilinë dhe eozinë (H&E) për analizë histologjike.

Histomorfometria e kockës u realizua në zonën e kockës alveolare përreth molarit të dytë maksillar, duke përdorur metodën e numërimit të pikave me mikroskop optik të pajisur me rrjetë cikloide. Densiteti vëllimor i qelizave osteoblaste dhe osteoklaste u mat përgjatë rrënjëve meziale dhe distale të molarit të dytë. Sipërfaqja e kockës alveolare si dhe vëllimet relative të osteoblasteve dhe osteoklasteve u përcaktuan në bazë të analizës së 20 seksioneve për secilën mostër.

Ekspresioni gjenetik i DMP1

Për qëllime të analizës molekulare, indet e kockës alveolare dhe ligamentit periodontal (PDL) u izoluan dhe u ngrinë menjëherë në azot të lëngshëm për ruajtje opti-



Figura 1 Minjtë e racës Wistar pas aplikimit të anestetikëve me rrugë intraperitoneale: ketamine 50 mg/kg të peshës trupore (Bioketan, Vetoquinol Bioëet, Gorzów Wielkopolski, Poland), medetomidine hydrochloride 67 mg/kg të peshës trupore (Domitor, Pfizer, Brooklyn, NY, USA) dhe thiopental 3 mg/kg të peshës trupore (Tiopental, Pliva, Zagreb, Croatia).

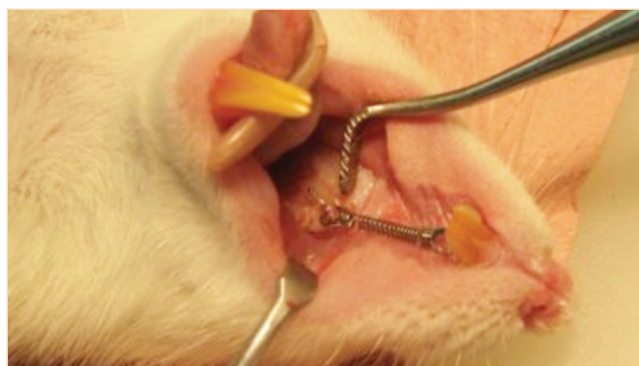


Figura 2 Vendosja e pajisjes ortodontike në mes të molarit të dytë dhe incizivit qendror të maksillës, tek minjtë e racës Wistar.

male të ARN-së. Ekstraktimi i ARN-së totale u krye duke përdorur reagentin TRIzol, ndërsa pastrimi i mëtejshëm u realizua me kompletin PureLink RNA Mini (Invitrogen, SHBA). Sasia dhe cilësia e ARN-së së përfutur u vlerësuan përmes spektrofotometrit NanoDrop dhe analizuesit Agilent Bioanalyzer 2100.

Sintetizimi i ADN-së komplementare (cDNA) u realizua duke përdorur 50 ng ARN të pastruar dhe kompletin me efikasitet të lartë për transkriptim të kundërt. Reaksioni i RT-PCR kuantitativ u zhvillua duke përdorur analizën e shprehjes gjenike TaqMan për Dmp1 (Rn01450122_m1; Applied Biosystems), me gjenin GAPDH të përdorur si kontroll të brendshëm endogjen. Të gjitha reaksionet u kryen në duplikat, duke u analizuar në platformën Roche LightCycler 480.

Të dhënat u analizuan përmes programit statistikor SPSS duke përdorur analizën one way ANOVA dhe Tukey post-hoc test për të identifikuar dallimet statistikore $p < 0.001$.

Rezultatet

Analiza me RT-PCR kuantitative u realizua me qëllim të vlerësimit të niveleve të ekspresionit të gjeneve të Dmp1, një marker i rëndësishëm i osteociteve i përfshirë në proceset e mineralizimit dhe rimodelimit të kockës. Në ditën e 21-të të eksperimentit, u evidentua një ulje e ekspresionit të Dmp1 në grupin OLZ21 në krahasim me grupin Kontroll 21, me dallim statistikor sinjifikant ($P = 0.0003$ dhe $P = 0.0228$, përkatësisht). Këto të dhëna sugjerojnë se administrimi afatshkurtër i olanzapinës mund të ndikojë negativisht në funksionin e osteociteve dhe në rregullimin e matricës kockore. Me rëndësi të veçantë është fakti se, në këtë fazë të hershme, nuk u vërejtën ndryshime të rëndësishme në nivelet e ekspresionit të gjeneve të tjera të lidhura me metabolizmin e kockës, duke sugjeruar që përgjigjja molekulare fillestare mund të jetë e përqendruar kryesisht në rrugët osteocitare ose të jetë në fazat e para të çrregullimit (Figura 3).

Në ditën e 56-të, pas aplikimit të zgjatur të forcës ortodontike në kombinim me trajtimin me olanzapinë, u konstatua se ulja e ekspresionit të Dmp1 vazhonte të ishte e pranishme. Në veçanti, grupi OLZ+OF56 rezultoi me nivele dukshëm më të ulëta të mRNA-së për Dmp1 krahasuar me grupin OF56 ($P = 0.0021$ dhe $P = 0.0432$, përkatësisht). Këto rezultate përforcojnë më tej hipotezën se olanzapina ndërhyr në mekanizmat e rimodelimit të kockës, veçanërisht në prani të ngarkesës mekanike (Figura 4).

Diskutimi

Olanzapina ndikon negativisht në maturimin e osteociteve përmes uljes së ekspresionit të Dmp1 dhe Sost, dy markues kyç të osteociteve të pjekura. Kjo ndërhyrje është e lidhur me shtypjen e rrugës sinjalizuese Wnt/ β -catenin, e cila është thelbësore për diferencimin dhe funksionin e osteociteve gjatë ngarkesës mekanike të kockës alveolare [14]. Në përputhje me këto gjetje, studime të tjera kanë raportuar se përdorimi afatgjatë i antipsikotikëve të gjeneratës së dytë, përfshirë olanzapinën, shoqërohet me ulje të formimit dhe resorbimit të kockës, duke dëmtuar balancën e metabolizmit kockor. Kjo sugjeron se olanzapina mund të ndikojë në mënyrë të drejtpërdrejtë në metabolizmin e kockës, përtej efekteve të saj metabolike sistemike [15].

Për më tepër, olanzapina është një antagonist i receptorëve të serotoninës 5HT_{2A} dhe 5HT₆, si dhe një antagonist i pjesshëm i receptorit të histaminës H1. Modulimi farmakologjik i këtyre receptorëve është raportuar të ndikojë në osteoblastogjenezën dhe osteoklastogjenezën, duke sugjeruar që olanzapina mund të ndërhyjë në me-

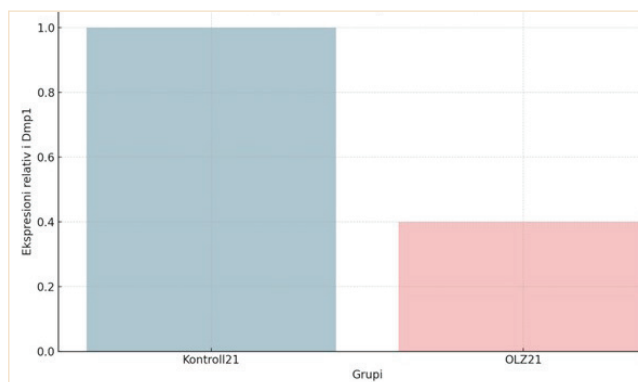


Figura 3 Ekspresioni i Dmp1 në ditën 21 – një ulje e dukshme në grupin OLZ21 krahasuar me Kontrollin.



Figura 4 Ekspresioni i Dmp1 në ditën 56 – një reduktim i konsiderueshëm në grupin OLZ+OF56 krahasuar me grupin vetëm me forcë ortodontike (OF56).

tabolizmin e kockës përmes këtyre rrugëve sinjalizuese [14]. Ndikimi i olanzapinës në maturimin e osteociteve dhe në rrugët sinjalizuese të përfshira në homeostazën e kockës sugjeron nevojën për vlerësim të kujdesshëm të përdorimit të saj, veçanërisht në pacientët që i nënshtrohen trajtimeve ortodontike ose që janë në rrezik për çrregullime të metabolizmit kockor. Studime të mëtejshme janë të nevojshme për të kuptuar plotësisht mekanizmat përmes të cilëve olanzapina ndikon në metabolizmin e kockës dhe për të zhvilluar strategji për të minimizuar këto efekte anësore.

Përfundimi

Të dhënat e këtij studimi tregojnë se olanzapina ndikon negativisht në maturimin dhe funksionin e osteociteve përmes uljes së ekspresionit të Dmp1, një proteinë thelbësore për rimodelimin kockor. Kjo ndërhyrje mund të dëmtojë cilësinë strukturore të kockës dhe të rrisë rrezikun për fraktura, edhe nëse densiteti mineral kockor mbetet i pandryshuar.

Këto rezultate theksojnë rëndësinë e monitorimit të shëndetit kockor te pacientët në terapi afatgjatë me olanzapinë, veçanërisht në grupet e ndjeshme. Strategjitë terapeutike që synojnë mbrojtjen e funksionit të osteociteve mund të jenë thelbësore për parandalimin e dëmtimeve kockore të shkaktuara nga trajtimi antipsikotik.

Literatura

- [1] Lamberti J, Woltmann E, Weitz J. Metabolic and endocrine side effects of atypical antipsychotics: Implications for treatment. *Psychiatr Clin North Am.* 2018; 41(3): 459-72.
- [2] Cypowyj C, Noveau S, Hay E. The effects of atypical antipsychotics on bone mineral density in schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol.* 2016; 36(4):392-8.
- [3] Bauer M, Vieta E, Sulaiman AH. Bone density and fracture risk with olanzapine and other atypical antipsychotics: A systematic review. *Int J Psychiatry Clin Pract.* 2019; 23(1): 8-14.
- [4] Lu Y, Yuan B, Qin C, Cao Z, Xie Y, Dallas SL, McKee MD, Drezner MK, Bonewald LF, Feng JQ. The biological function of DMP-1 in osteocyte maturation is mediated by its 57-kDa C-terminal fragment. *J Bone Miner Res.* 2011;26(2):331-40.
- [5] Li MCM, Chow SK, Wong RMY, Chen B, Cheng JCY, Qin L, Cheung WH. Osteocyte-specific dentin matrix protein 1: the role of mineralization regulation in low-magnitude high-frequency vibration enhanced osteoporotic fracture healing. *Bone Joint Res.* 2022;11(7):465–476.
- [6] Gluhak-Heinrich J, Ye L, Bonewald LF, Feng JQ, MacDougall M, Harris SE, Pavlin D. Mechanical loading stimulates dentin matrix protein 1 (DMP1) expression in osteocytes in vivo. *J. Bone Miner. Res.* 2003; 18(5):807-17.
- [7] Shoji-Matsunaga A, Ono T, Hayashi M, Takayanagi H, Moriyama K, Nakashima T. Osteocyte regulation of orthodontic force-mediated tooth movement via RANKL expression. *Sci Rep.* 2017;7(1):8753.
- [8] Erdenebat T, Lee DJ, Kim SJ, Choi YJ, Kim EJ, Choi EH, Liu J, Hwang CJ, Jung HS, Cha JY. Effect of the Number of Micro-Osteoperforations on the Rate of Tooth Movement and Periodontal Response in Mice. *Front Physiol.* 2022; 3:13:837094.
- [9] Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006;129(4):469.e1-32.
- [10] Davidovitch Z. Tooth movement. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2(4):411-50.
- [11] Stanfeld J, Jones J, Laster L, Davidovitch Z. Biochemical aspects of orthodontic tooth movement I Cyclic nucleotide and prostaglandin concentrations in tissues surrounding orthodontically treated teeth in vivo. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 1986; 90(2):139-48.
- [12] Reitan, K. Clinical and histologic observations on tooth movement during and after orthodontic treatment. *Am J Orthod.* 1967;53(10):721-45.
- [13] Rygh, P. Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. *Am J Orthod.* 1976;70(3):269-81.
- [14] Disha-Ibrahimi S, Furlani B, Drevenšek G, Hudoklin S, Marc J, Prodan Žitnik I, Sajovic J, Drevenšek M. Olanzapine decreased osteocyte maturation and Wnt/ β -catenin signaling during loading of the alveolar bone in rats. *Biomol Biomed.* 2023 ;23(1):114-125.
- [15] Wang F, Li H, Yi K, Wu Y, Bian Q, Guo B, Luo X, Kang Y, Wu Q, Ma Q. Long-term second-generation antipsychotics decreases bone formation and resorption in male patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl).* 2024;241(9):1771-1780.