

Interleukin 1A és 1B szerepének, valamint az A-PRF alkalmazásának vizsgálata gyógyszer okozta állcsontnekrózisban

Doktori értekezés

Dr. Szentpéteri Szófia Katalin

Semmelweis Egyetem
Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető:

Dr. Vaszilkó Mihály PhD., egyetemi docens

Hivatalos bírálók:

Dr. Antal Márk PhD., egyetemi docens

Dr. Kivovics Márton PhD., egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Gerber Gábor PhD, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Gera István PhD., egyetemi tanár

Dr. Rakonczay Zoltán Dsc., egyetemi tanár

Budapest, 2024

1. Bevezetés

A gyógyszer okozta állcsontnekrozis (MRONJ) az antirepszorptív gyógyszerek és csontanabolikus ágensek adagolásának állcsontokat érintő, viszonylag ritka, de súlyos mellékhatása.

A MRONJ legjellemzőbb tünete az állcsontokon megjelenő denudált csontfelszín. A kórkép a betegek életminőségét jelentősen rontja, súlyos esetben pedig az állcsontok elvesztéséhez és életet veszélyeztető gyulladás kialakulásához is vezethet.

A megbetegedés 2004-es első leírása óta számos publikáció jelent meg a témában. A kórkép feltételezett rizikófaktorai között szerepel többek között az antireszorptív készítmény adagolásának indikációja, ideje és típusa. A kórkép pathomechanizmusa máig nem tisztázott. Többek között csontátépülés gátlását, infekciót, vagy genetikai faktorok szerepét feltételezik a kórkép kialakulásában. A MRONJ az esetek maximum 85-86%-ában gyógyítható és igen gyakoriak a recidívák. A kórkép prognózisát befolyásoló lehetséges tényezők között szerepel többek között az elhalt csontterületek nagysága vagy antiösztrogén terápia.

A publikált vizsgálatok ellenére a kórkép pontos pathomechanizmusa, rizikó – és prognosztikai faktorai továbbra sem tisztázottak úgy, ahogyan a teljes gyógyulását biztosító kezelési eljárás sem.

Doktori tanulmányaim során két fő vizsgálatot folytattunk, melyek eredményeit doktori értekezésem foglalja össze:

1. Interleukin 1A és 1B adott single nucleotid polimorfizmusainak (IL-1A -889C/T, IL-1B +3953C/T)

vizsgálata gyógyszer okozta állcsontnekrózis kialakulásában és prognózisában

2. Advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) alkalmazásának vizsgálata a gyógyszer okozta állcsontnekrózis sebészi terápiájában

Az Interleukin 1A és 1B (IL-1A és IL-1B) gének a 2-es kromoszóma hosszú karján helyezkednek el és az Interleukin 1 α és 1 β cytokin molekulákat kódolják. Az Interleukin 1 α és β központi szerepet töltenek be az immunfolyamatok iniciációjában és regulációjában, emellett az oszteoklasztok differenciálódásának serkentésén keresztül fokozzák a csontreszorpciót. A gének polimorfizmusai a cytokin molekulák szerkezeti eltéréseit okozhatják, mely változásokat idézhet elő gyulladásos folyamatokban. Az IL-1A-889C/T és IL-1B +3953C/T single nucleotid polimorfizmusok (SNP) szerepét több megbetegedésben, köztük a MRONJ pathomechanizmusával több ponton hasonlóságot mutató krónikus parodontitisben és osteomyelitisben is igazolták. Az advanced platelet-rich fibrin (A-PRF) a vérlemezkében gazdag fibrin (PRF) előállítási protokolljának módosításával létrejövő membrán formájú, újabb típusú vérlemezke koncentrátum. A PRF szerkezetét tekintve fibrinhálóba ágyazott trombocyták, leukocyták és sejtek összessége. A PRF nagy koncentrációban tartalmaz növekedési faktorokat és cytokineket. A PRF sebgyógyulást serkentő hatását számos tanulmány támasztja alá, sikerrel alkalmazták parodontológiai, dentoalevoláris sebészeti, maxillofaciális sebészeti és plasztikai sebészeti beavatkozások esetében.

2. Célkitűzések

2.1. Interleukin 1A és 1B adott single nucleotid polimorfizmusainak vizsgálata (IL-1A -889C/T, IL-1B +3953C/T) gyógyszer okozta állcsontnekrózis kialakulásában és prognózisában:

- 1/1 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a **MRONJ kialakulásában**
- 1/2 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a **MRONJ prognózisában**
- 1/3 Az adott génpolimorfizmusok hatásának vizsgálata a **MRONJ lokalizációjára és stádiumára**
- 1/4 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a **betegek anamnesztikus és terápiás adataival** együtt a **MRONJ prognózisára nézve**

2.2. A-PRF alkalmazásának vizsgálata gyógyszer okozta állcsontnekrózis sebészi terápiájában:

- 2/1 A-PRF-el kiegészített sebészi terápia hatásának vizsgálata a **MRONJ prognózisára nézve**
- 2/2 A nekrosis **stádiumának, lokalizációjának, az anamnesztikus és terápiás adatoknak** a vizsgálata az A-PRF-el kiegészített sebészi terápia **kimenetelére**

3. Módszerek

3.1. Vizsgálat elrendezése

3.1.1. Interleukin 1A és 1B adott SNP-inek vizsgálata a MRONJ kialakulásában és prognózisában:

- Kétirányú kohorsz vizsgálat
- Az SNP-k előfordulási arányait vizsgáltuk az egyes célkitűzések alapján meghatározott csoportokban:
- 1/1 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a MRONJ kialakulásában: a génpolimorfizmusok előfordulását beteg -és kontrollcsoportban vetjük össze
- 1/2 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a MRONJ prognózisában: A prognózist a stádiumjavulás, a gyógyulás és a recidívák alapján vizsgáljuk, az SNP-k előfordulását vetjük össze az egyes csoportokban
- 1/3 Az adott génpolimorfizmusok hatásának vizsgálata a MRONJ lokalizációjára és stádiumára: az egyes polimorfizmusok előfordulását vizsgáljuk a lokalizáció és a diagnosztizáláskor rögzített stádium tekintetében
- 1/4 Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a betegek anamnesztikus és terápiás adataival együtt a MRONJ prognózisára nézve: a génpolimorfizmusok előfordulását vizsgáljuk az anamnesztikus és terápiás adatokkal együtt a stádiumjavulásra, a gyógyulásra és a recidívákra.
- Az SNP-k előfordulási arányait külön és kombinációkban is vizsgáltuk mind a négy vizsgálati cél esetében:

- A, A vizsgált SNP-k bármelyike előfordul-e a vizsgált génnek bármelyik kópiáján
- B, A vizsgált SNP-k előfordulnak-e IL-1A, vagy IL-1B gének esetében, vagy mindkét gén bármely kópiáján
- C, A vizsgált SNP az IL-1B gén egy, vagy mindkét kópiáján előfordul-e, vagy egyik kópián sem található meg
- D, A vizsgált SNP az IL-1A gén egy, vagy mindkét kópiáján előfordul-e, vagy egyik kópián sem található meg
- E, A vizsgált SNP-k előfordulásának kombinációi IL-1A és IL-1B gének egyes kópiáin

3.1.2. A-PRF alkalmazásának vizsgálata MRONJ sebészi terápiájában:

- Randomizált kontrollált vizsgálat
- 2/1 A-PRF-el kiegészített sebészi terápia hatásának vizsgálata a MRONJ prognózisára nézve: az A-PRF alkalmazásával kiegészített sebészi terápia eredményeit vizsgáljuk a stádiumjavulás, a gyógyulás és a recidívák alapján hagyományos sebészi terápiával összevetve
- 2/2 A nekrosis stádiumának, lokalizációjának, az anamnesztikus és terápiás adatoknak a vizsgálata az A-PRF-el kiegészített sebészi terápia kimenetelére: a nekrosis lokalizációját, stádiumát, az anamnesztikus és terápiás adatok összességének hatását vizsgáljuk a prognosis egyes változóira

3.2. Betegcsoportok

Vizsgálatainkat az Arc-Állcsont-Szájsebészeti és Fogászati Klinika betegeinek körében végeztük. Vizsgálatainkba 18. életévüket betöltött, cselekvőképes pácienseket vontunk be.

3.2.1. Interleukin 1A és 1B adott SNP-inek vizsgálata a MRONJ kialakulásában és prognózisában:

Vizsgálatunkat beteg - és kontrollcsoportban végeztük. Betegcsoportunkba gyógyszer okozta állcsontnekrozisban szenvedő betegeket vontunk be minden egyéb beválogatási kritérium nélkül. Kontrollcsoportunkba gyógyszer okozta állcsontelhalásban nem szenvedő betegek kerültek beválogatásra.

3.2.2.A-PRF alkalmazásának vizsgálata MRONJ sebészi terápiájában:

Beválogatási kritérium	Kizárási kritérium
MRONJ	sebészi kezelés vagy A-PRF alkalmazásának visszautasítása
sebészi terápia az elsőnek választandó kezelés	a beteg kontrollvizsgálatokon nem tud megjelenni
az elhalt csontrész eltávolítása után minimum kétfalú csonttassak marad vissza	a beteg kemoterápiában részesül az operáció során szegment reszekció vagy maxillectomia szükséges.

3.3. Sebészi terápia

Az elhalt terület feltárásának első lépése gerincélen ejtett metszés, melyet a nekrotikus terület szélső pontjait meghaladóan terjesztettünk ki. A gerincéli metszés végpontjaiból vestibularisan vetrikális segédmetszést

ejtettünk és mucoperiostealis lebenyt képeztünk. A kíméletes feltárását követően az elhalt csontterületet eltávolítottuk. az éles csonszéleket lekerekítettük. A lebenyeket mobilizáltuk, a sebszéleket felfrissítettük. A sebet több rétegben vertikális matracöltésekkel zártuk.

3.4. Genetikai vizsgálat

Genetikai mintavételeink során szájúregi nyálkahártyából hámsejtkaparekot vettünk DentiGen Parodontitis Genetikai Teszt segítségével. A genetikai vizsgálatokra az Istenhegyi Géndiagnosztikai Központban került sor. A vizsgálat első lépése a DNS izolálása, mely sejtlízist követően szelektív DNS kötő oszlopokon történt (KURABO QuickGene DNS kit). Ezt követte a DNS hasítása restrikciós endonukleázokkal, majd a DNS szakaszok felsokszorozása PCR technikával (One Taq Hot Start DNA polimeráz). Az allél analízis DNS-hibridizációs technikával valósult meg, Hain GenoType IL-1 kit felhasználásával. Az analízis során agaróz gélelektroforézissel a DNS mintákat szétválasztják, nitrocellulóz membránra blottolják. Ezt követően a DNS-t denaturálják és festékkel jelölt próbákkal hibridizálják.

3.5. PRF-preparálása

A beavatkozáshoz használt A-PRF-et Choukroun PRF DUOTM Centrifuga és a készülékhez tartozó gyári szett segítségével, a használati utasításban foglaltak alapján állítottuk elő. A műtéti beavatkozás közben, 10 ml-es gyári kémcsőbe, a nekrosis területétől függően, kettő-négy kémcső perifériás vénás vért vettünk. A kémcsőveket azonnal a készülékbe helyeztük és a vért 1300-as fordulaton 14 percig centrifugáljuk. A centrifugálást

követően 5 perc várakozás után a kémcsövekből a PRF-et tartalmazó réteget - elválasztva a felette elhelyezkedő acelluláris plasma és alatta elhelyezkedő vörös vértesteket tartalmazó rétegtől - csipesz segítségével eltávolítottuk és membránt készítettünk.

3.6. Utánkövetés

A sebészi terápiát követő kontrollvizsgálatokra a 7., 14., 30. és 90. posztoperatív napokon, hat hónappal és 1 évvel a beavatkozást követően kerül sor, valamint panaszok esetében.

A kimeneti változókat a kontrollvizsgálatok alkalmával rögzítjük. A kimenetek a stádiumjavulás, a gyógyulás, a recidíva. Stádiumjavulást regisztrálunk, ha a megbetegedés a műtetet követően az AAOMS ajánlása alapján alacsonyabb stádiumba lépett. Gyógyulást rögzítünk, ha a műteti terület per primam vagy per secundam gyógyult. Recidíváról abban az esetben beszélünk, ha a korábban gyógyult területen ismételtelen jelentkeztek a nekrozis tünetei.

3.7. Adatrögzítés és statisztikai elemzés

A betegek anesztikus és terápiás adatait, a nekrozis stádiumát és lokalizációját, valamint a kimeneti változókat Microsoft Excel 2013 program segítségével rögzítettük. Statisztikai elemzéseinket StataBe18 (64-bit) és IBM SPSS Statistics 24 segítségével végeztük. Szignifikanciaszintnek a $p=0,05$ tekintettük. Statisztikai elemzéseink során a változóktól függően független mintás T-próbát, Wilcoxon-féle rangösszegtesztet, Khí-négyzet próbát, Fischer-féle egzakt tesztet, logisztikus regressziót alkalmaztunk.

4. Eredmények

4.1. Interleukin 1A és 1B adott SNP-inek vizsgálata MRONJ kialakulásában és prognózisában

Vizsgálatunk betegcsoportjába 91 beteg, kontrollcsoportjába 59 beteg került bevonásra. A beteg és kontrollcsoport az anamnesztikus és terápiás adatok tekintetében nem mutat statisztikai eltérést, a csoportok homológoknak tekinthetők.

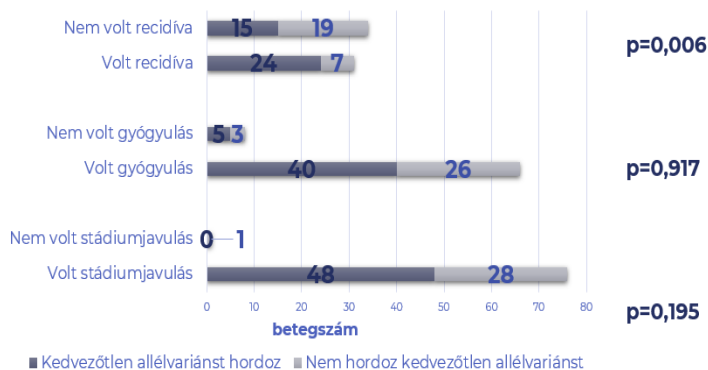
4.1.1. Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a MRONJ kialakulásában

	szignifikancia szint
A, Vizsgált SNP-k bármelyikének előfordulása	p=0.418
A vizsgált SNP-k előfordulása az adott gének bármelyik kópiáján külön-külön vagy együttesen	
B, IL-1A gén esetében	p=0.811
IL-1B gén esetében	p=0.409
IL-1A és IL-1B gének esetében	p=0.786
C, SNP előfordulása az IL-1B gén kópiáin	p=0.778
D, SNP előfordulása az IL-1A gén kópiáin	p=0.671
E, SNP-k előfordulásának kombinációi az IL-1A és IL-1B gének kópiáin	p=0.859

Nem találtunk összefüggést az adott SNP előfordulása és a MRONJ kialakulása között egyik vizsgált kombináció esetében sem.

4.1.2. Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a MRONJ prognózisában

4.1.2.A Az adott SNP-k bármelyikének előfordulása és a prognózis összefüggésének vizsgálata



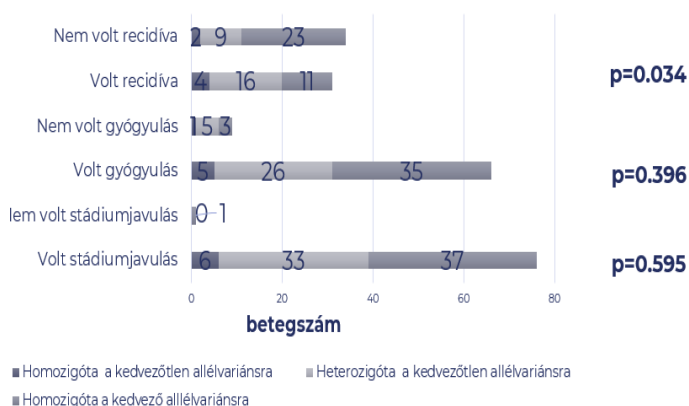
Az adott SNP-k előfordulása szignifikáns összefüggést mutatott a recidívák megjelenésével, míg a stádiumjavulás és a gyógyulás tekintetében nem találtunk összefüggést.

4.1.2.B A adott SNP-k előfordulása az IL-1A, vagy IL-1B, vagy mindkét gén esetében

B. SNP előfordulása IL-1A gén, IL-1B gén, vagy mindkét gén esetében			
	Stádium javulás	Gyógyulás	Recidíva
IL-1A gén	p=0.258	p=0.612	p=0.032
IL-1B gén	p=0.308	p=0.407	p=0.01
mindkét gén	p=0.371	p=0.211	p=0.034

Az adott SNP-k hordozása szignifikáns összefüggést mutatott a recidívák megjelenésével az IL-1A és az IL-1B gének esetében külön-külön és mindkét gén SNP-inek együttes hordozása esetében is.

4.1.2.C SNP-k előfordulása az IL-1B gén kópiáin (egyik/mindkettőn/egyiken sem)



Az SNP-k előfordulása az IL-1B gén egyes kópiáin (egyik/mindkettőn/egyiken sem) szintén szignifikáns összefüggést mutatott a recidívák megjelenésével.

4.1.2D SNP-k előfordulása az IL-1A gén kópiáin (egyik/mindkettőn/egyiken sem)

Nem találtunk összefüggést sem a stádiumjavulás, sem a gyulladás, sem a recidívák esetében az SNP-k előfordulásával az IL-1A gén egyes kópiáin (egyik/mindkettőn/egyiken sem).

4.1.2E SNP-k előfordulásának kombinációi az IL-1A gén és IL-1B gének kópiáin

Nem találtunk összefüggést sem a stádiumjavulás, sem a gyógyulás, sem a recidívák tekintetében a 9 féle kombináció egyikében sem

4.1.3. Az adott génpolimorfizmusok hatásának vizsgálata a MRONJ lokalizációjára és stádiumára

Nem találtunk összefüggést a génpolimorfizmusok előfordulása és a MRONJ lokalizációja és stádiuma között

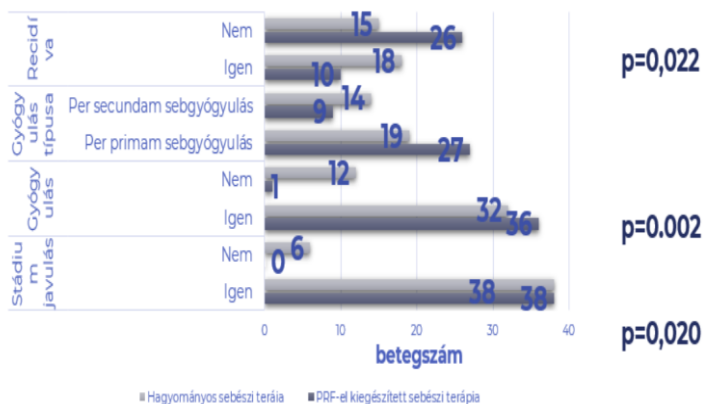
4.1.4. Az adott génpolimorfizmusok vizsgálata a betegek anamnesztikus és terápiás adataival együtt a MRONJ prognózisára nézve

Nem tudtunk összefüggést kimutatni a génpolimorfizmusok előfordulása és a betegek anamnesztikus és terápiás adatainak együttes hatásáról a MRONJ prognózisa tekintetében

4.2. A-PRF alkalmazásának vizsgálata gyógyszer okozta állcsontnekrózis sebészi terápiájában

Vizsgálati csoportunkba 38 beteg, kontrollcsoportunkba 42 beteg került bevonásra. A beteg és kontrollcsoport az anamnesztikus és terápiás adatok tekintetében nem mutat statisztikai eltérést, a csoportok homológoknak tekinthetők.

4.2.1.A-PRF-el kiegészített sebészi terápia hatásának vizsgálata a MRONJ prognózisára nézve



Az A-PRF-el kiegészített sebészi terápia a hagyományos sebészi terápiával összevetve szignifikánsan javította a stádiumjavulást és a gyógyulást, és szignifikánsan csökkentette a recidívák megjelenését

4.2.2. A nekrozis stádiumának, lokalizációjának, az anamnesztikus és terápiás adatoknak a vizsgálata az A-PRF-el kiegészített sebészi terápia kimenetelére

Nekrozis stádiuma, vagy lokalizációja, az anamnesztikus és terápiás adatok nem befolyásolják az A-PRF-e kiegészített sebészi terápia kimenetelét.

5. Következtetések

5.1. IL-1A és IL-1B adott SNP-inek vizsgálata MRONJ kialakulásában és prognózisában:

- Szignifikáns összefüggést találtunk a MRONJ recidívái és a vizsgált SNP-k előfordulása között
- Nem találtunk összefüggést a MRONJ kialakulása és a vizsgált SNP-k előfordulása között
- A vizsgált SNP-k nem befolyásolják a MRONJ stádiumát és lokalizációját
- A vizsgált SNP-k prognózisra kifejtett hatását a nekrosis lokalizációja, stádiuma, az anamnesztikus - és terápiás adatok nem befolyásolták

Eddig nem jelent meg tanulmány, mely az Interleukin 1 SNP-inek szerepét vizsgálata volna MRONJ kialakulásában és prognózisában.

5.2. A-PRF alkalmazásának vizsgálata MRONJ sebészi terápiájában:

- Az A-PRF alkalmazása szignifikánsan javította a MRONJ prognózisát, mind a stádiumjavulás, mind a gyógyulás, mind a recidívák tekintetében.
- Az A-PRF alkalmazása esetében a nekrosis stádiuma és lokalizációja, anamnesztikus és terápiás adatok nem befolyásolják a kimenetelt.

Eddig nem jelent meg nagyobb elemszámú, randomizált kontrollált vizsgálat, mely az A-PRF hatását vizsgálta volna MRONJ sebészi terápiájában. Az eddigi vizsgálatok eredményeivel tanulmányunk eredményei összefüggést mutatnak.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. A disszertáció alapjául szolgáló közlemények

- Szentpeteri S, Schmidt L, Restar L, Csaki G, Szabo G, Vaszilko M. The Effect of Platelet-Rich Fibrin Membrane in Surgical Therapy of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. J Oral Maxillofac Surg. 2020 May;78(5):738-748. doi: 10.1016/j.joms.2019.12.008. Epub 2019 Dec 24. PMID: 31945309.

IF:1,895 Q2

- Szentpeteri S, Kosa J, Juhasz DH, Deak Gy, Nemeth Zs, Lakatos P, Vaszilko M, Examination of certain single-nucleotide polymorphisms of interleukins 1A and 1B in medication-related osteonecrosis of the jaw — an ambirectional cohort study. J Cran Maxillofac Surg. 2024, <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2024.06.007>.

Várható IF:2,1 Q1/D1

6.2. A disszertációtól független közlemények

- Szentpéteri S, Horváth E, Dékány Sz, Krasznai M, Hornyák Cs, Tamás L. A szaglászűkülés vizsgálata neurodegeneratív megbetegedésben szenvedők körében (Examination of olfactory function in neurodegenerative disease). Otorhinolaryngologia Hungarica 2015; 61 (4):147-150.
- Szentpéteri S, Restár L, Németh Z, Vaszilkó M. A gyógyszer okozta állcsontnekrózis prognózisát befolyásoló faktorok [Prognostic factors of the medication-related osteonecrosis of the jaw]. Orv Hetil.

2020 Feb;161(8):283-289. Hungarian. doi: 10.1556/650.2019.31621. PMID: 32073291.

IF:0,54 Q4

- Bojtor B, Vaszilko M, Armos R, Tobias B, Podani J, Szentpeteri S, Balla B, Lengyel B, Piko H, Illes A, Kiss A, Putz Z, Takacs I, Kosa JP, Lakatos P. Analysis of SIRT1 Gene SNPs and Clinical Characteristics in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 25;25(7):3646. doi: 10.3390/ijms25073646. PMID: 38612458; PMCID: PMC11011248

Várható IF:4,9 D1/Q1

- Σ IF: 9,435