

Sirtuin-1 a Gyógyszer Okozta Állcsontnekrózisban

Doktori értekezés

Dr. Bojtor Bence

Semmelweis Egyetem Doktori Iskola
Rácz Károly Konzervatív Orvostudományi Tagozat



Témavezetők: Dr. Lakatos Péter András, MTA doktora, egyetemi tanár
Dr. Kósa János Pál, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Pálincás Márton, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Vereb Tamás, Ph.D., egyetemi adjunktus

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Putz Zsuzsanna, Ph.D., egyetemi docens

Tagok: Dr. Tőke Judit, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Nádas Judit, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2025

Bevezetés

A gyógyszer okozta állcsontnekrózis (MRONJ) egy ritka, de súlyos mellékhatás, amely leginkább anti-reszorpciós és antiangiogén gyógyszerekkel társul. Főként azokat a betegeket érinti, akik biszfoszfonátokat vagy denosumabot kapnak osteoporosis vagy malignus csontbetegség miatt. A betegséget a maxillofaciális régióban több mint nyolc hétig fennálló, kitett nekrotikus csont jellemzi. Bár az MRONJ patofiziológiája még nem teljesen ismert, multifaktoriálisnak tekinthető. Az anti-reszorpciós gyógyszerek gátolják az oszteoklasztok által közvetített csontátalakulást, ami mikrosérülések felhalmozódásához és a gyulladás zavarához vezet. Az antiangiogén szerek tovább hozzájárulhatnak ehhez azáltal, hogy gátolják az érújdonképződést és a szövetek helyreállítását. További lokális kockázati tényezők közé tartozik a foghúzás, a rossz szájhigiéncia és a krónikus gyulladás. A szisztémás kockázati tényezők, mint például a glükokortikoidok használata, a cukorbetegség és a rosszindulatú daganatok szintén növelik a hajlamot. A genetikai hajlam a közelmúltban jelentős figyelmet kapott, mint az MRONJ kockázatának lehetséges meghatározó tényezője. Számos tanulmány felvetette az

összefüggéseket a csontanyagcserével, az angiogenezissel és a gyulladással kapcsolatos génekben található egyponos nukleotid-polimorfizmusok (SNP-k) és a MRONJ között. A RANK, RANKL és OPG gének polimorfizmusai befolyásolhatják a csontátépítést és az antireszorpciós gyógyszerekre adott választ. A CYP2C8 és CYP19A1 variánsai megváltoztathatják a biszfoszfonátok metabolizmusát, befolyásolva a gyógyszer felhalmozódását a csontokban. A VEGFA gén polimorfizmusait összefüggésbe hozták a károsodott angiogenezissel és a megnövekedett MRONJ kockázattal. Ezenkívül a gyulladással kapcsolatos gének variánsai, mint például a TNF- α , IL1B és IL6, modulálhatják a szervezet reakcióját a szöveti sérülésre. Ezen eredmények ellenére továbbra sem teljesen tisztázott a betegség pontos patomechanizmusa, ami kiemeli a MRONJ heterogenitását. A genetikai, klinikai és farmakológiai tényezők integrálása javíthatja a kockázat előrejelzését és a megelőzési stratégiákat. A molekuláris mechanizmusok megértése szintén segíthet a fokozottan hajlamos betegcsoportok azonosításában. Összefoglalva tehát, a MRONJ jövőbeni molekuláris és klinikai meghatározó tényezőinek folyamatos vizsgálata elengedhetetlen lesz a

személyre szabott terápiás és megelőző megközelítések kidolgozásához.

Célkitűzések

A bemutatott vizsgálatban célul tűztük ki, hogy olyan egyponthoz nukleotid-polimorfizmusokat (SNP-eket) vizsgáljunk, amelyek korábbi genom asszociációs vizsgálatok során potenciális összefüggést mutattak a betegség kialakulásával. További célunk volt összehasonlítani a MRONJ betegekben mért allélfrekvenciás adatokat egészséges európai populációban mért allélfrekvenciás adatokkal. A vizsgálat célja volt továbbá az is, hogy feltárja a potenciális összefüggéseket a genetikai, illetve különböző releváns klinikai változók között. Célként fogalmaztuk meg azt is, hogy az újszerű multiparametrikus statisztikai analízis segítségével különböző szempontok szerinti alcsoportokat azonosítsunk a MRONJ betegek körében.

Módszerek

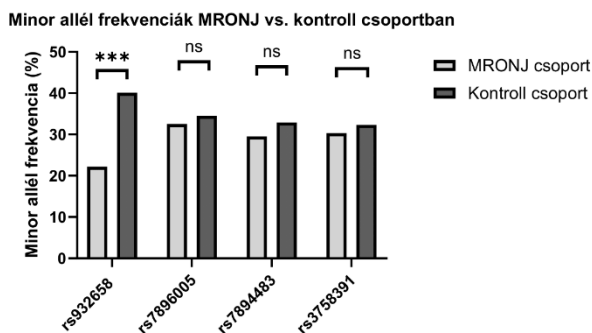
A vizsgálatban hatvanhárom magyar származású, MRONJ-ban szenvedő beteg vett részt. Az összes MRONJ beteget a Semmelweis Egyetem Arc-Állcsont-Szájsebészeti és Fogászati Klinikán kezelték. A részletes

kórelőzmény felvétele, fizikális és laboratóriumi vizsgálat után perifériás vérmintákat vettünk a betegektől. A hatvanhárom betegben négy SNP-t genotipizáltunk a SIRT1 génben. A perifériás vérmintákból minden esetben genomikus DNS-t nyertünk ki a High Pure PCR Template Purification kit (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Németország) segítségével. A SNP-k genotípusának meghatározásához Sanger-féle dideoxi-szekvenálást végeztünk (Eurofins Genomics Europe GmbH, Ebersberg, Németország). A SIRT1 SNP genotípusok és allélok eloszlását az NCBI Allele Frequency Aggregator (ALFA) referencia adatbázisban (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa/>, hozzáférés 2024. január 1.) és az MRONJ populációban Chi-négyzet próba segítségével elemeztük. A p -érték $< 0,05$ alatti értékeket szignifikánsnak tekintettük. A Chi-négyzet próbákat IBM SPSS 28.0 szoftverrel (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) végeztük. Az objektumok összehasonlítása a Gower-féle disszimilitás index segítségével történt. A vegyes típusú változók közötti korrelációk kiszámítása a Podani és társai által nemrégiben javasolt d -korrelációs képlet segítségével történt. A dimenziók csökkentésére, és ezzel az alapul szolgáló adatstruktúra feltárására, a Gower-

disszimilaritások főkoordináta-elemzését (PCoA) és a korrelációs mátrix főkomponens-elemzését végeztük (PCA). A számításokat a DCORR alkalmazás és a SYN-TAX csomag segítségével végeztük.

Eredmények

A Chi-négyzet próba segítségével szignifikáns különbséget észleltünk az rs932658 SNP alléloszlásában a MRONJ csoport és az NCBI ALFA adatbázisban mért egészséges európai populáció között ($p = 4,5 \times 10^{-5}$). A többi SNP-ben esetében nem volt további szignifikáns különbség.



1. ábra. Az SNP-k minor allélfrekvenciáit bemutató oszlopdiagram. A világosabb szín a vizsgált, gyógyszeres kezeléssel összefüggő állsontnekrózisban (MRONJ) szenvedő betegeket jelöli; a sötétebb szín az NCBI Allele Frequency Aggregator (ALFA) adatbázis (hozzáférés: 2024. január 1.) alapján számított átlagos populációs

értéket jelöli. Az rs932658-ban szignifikáns különbséget észleltünk a MRONJ és a kontrollcsoport között. *** $p = 4,5 \times 10^{-5}$. ns=nem szignifikáns.

A klinikai és genetikai változók többváltozós statisztikai elemzésével számos jelentős összefüggést találtunk, amelyek igazolják ennek az új statisztikai módszernek a megbízhatóságát. Ezek közé tartozik a magas korreláció (0,7063) a használt biszfoszfonát típusa és a biszfoszfonát adagolási módja (pl. orális, intravénás) között, vagy a viszonylag magas pozitív korreláció (0,2789) a kemoterápia alkalmazása és a használt biszfoszfonát típusa között. Új eredményként viszonylag magas pozitív korrelációt (0,275) észleltünk az rs932658 genotípus és a megfelelő nem sebészi és sebészi kezelés után javult stádiumok száma között. Ez arra utal, hogy a genetikai tényezők, konkrétan az SIRT1 gén rs932658 SNP-je nemcsak a MRONJ kialakulásában, hanem a betegség klinikai lefolyásában is szerepet játszhatnak. A kedvezőbb genotípussal rendelkező betegeknél kisebb a valószínűsége a MRONJ kialakulásának, és a MRONJ kialakulása után is nagyobb a javulás aránya, mint a kevésbé kedvező genotípussal rendelkező betegeknél.

Következtetések

Vizsgálatunkban sikeresen azonosítottuk a *SIRT1* gén promóter régiójában elhelyezkedő SNP-t (rs932658), melynek alléleloszlása szignifikánsan eltért az általunk vizsgált MRONJ betegcsoportban az átlagos európai populációhoz képest. Megállapítottuk, hogy az rs932548 SNP A alléja szignifikánsan ritkábban fordul elő MRONJ betegekben, mint az átlagos európai kontroll populációban. Továbbá pozitív összefüggést tudunk azonosítani az rs932658 genotípus és a MRONJ-betegek állapotának javulása között. A főkomponens-elemzés elkülönülő betegcsoportokat tárt fel, amelyeket elsősorban a három SNP, azaz az rs7894483, az rs7896005 és az rs3758391 genotípusai befolyásoltak. Különböző genetikai háttérrel rendelkező betegcsoportokban végzett validálás után eredményeink hozzájárulhatnak az MRONJ patofiziológiájának jobb megértéséhez és az antireszorpciós gyógyszerekkel kezelt betegek korai genetikai kockázatértékeléséhez.

Irodalomjegyzék

Az értekezéshez közvetlenül kapcsolódó publikációk

- **B. Bojtor**, M. Vaszilko, R. Armos, B. Tobias, J. Podani, S. Szentpeteri, B. Balla, B. Lengyel, H. Piko,

A. Illes, A. Kiss, Z. Putz, I. Takacs, J. P. Kosa, and P. Lakatos, “Analysis of SIRT1 Gene SNPs and Clinical Characteristics in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw,” *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 25, no. 7, 2024.

IF: 4,9

- **B. Bojtor**, B. Balla, M. Vaszilko, S. Szentpeteri, Z. Putz, J. P. Kosa, and P. Lakatos, “Genetic Background of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: Current Evidence and Future Perspectives,” *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 25, no. 19, 2024.

IF: 4,9

- **B. Bojtor**, B. Balla, M. Vaszilko, R. Ármós, B. Tóbiás, S. Szentpéteri, B. Lengyel, H. Pikó, A. Illés, Z. Putz, A. Kiss, I. Takács, J. Kósa, and P. Lakatos, “A gyógyszer indukálta állcsontnekrózis genetikai háttere,” *ORVOSTOVÁBBKÉPZŐ SZEMLE*, vol. 31, no. 4, pp. 72–78, 2024.

IF: 0

Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó publikációk

- R. Armos, **B. Bojtor**, M. Papp, I. Illyes, B. Lengyel, A. Kiss, B. Szili, B. Tobias, B. Balla, H. Piko, A. Illes, Z. Putz, A. Kiss, E. Toth, I. Takacs, J. P. Kosa, and P. Lakatos, “MicroRNA Profiling in Papillary Thyroid Cancer,” *INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES*, vol. 25, no. 17, 2024.

IF: 4,9

- R. Armos, **B. Bojtor**, J. Podani, I. Illyes, B. Balla, Z. Putz, A. Kiss, A. Kohanka, E. Toth, I. Takacs, J. P. Kosa, and P. Lakatos, “Descriptive Analysis of

Common Fusion Mutations in Papillary Thyroid Carcinoma in Hungary,” INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES, vol. 25, no. 19, 2024.

IF: 4,9