

Biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis prognózisát befolyásoló tényezők

Doktori tézisek

Dr. Vaszilkó Mihály Tamás

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Lakatos Péter, DsC, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Fent Zoltán, PhD, egyetemi adjunktus
Dr. Oberna Ferenc, PhD, főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Hermann Péter, PhD, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Mészáros Szilvia, PhD, egyetemi adjunktus
Dr. Seres László, PhD, egyetemi adjunktus

Budapest
2015

Bevezetés

A témaválasztás indoklása

A biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis 2003 óta ismert, viszonylag új betegség. A korábban már ismert állcsontnekrózisokhoz csak hasonlít, sem a betegség kialakulása, sem a lefolyása nem azonos az eddig ismert kórképekkel. Nem alkalmazhatóak egyértelműen a bevált nekrózis gyógyító protokollok, az új ajánlások ellenére sem tökéletes minden esetben a gyógyulás. Így a patomechanizmus teljes tisztázása és a betegség gyógyításában elért hatékony terápiás eljárások az utóbbi években a figyelem középpontjába kerültek.

2005-ben állítottuk fel először a biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis diagnózisát Magyarországon, azóta követjük az irodalomban megjelenő új információkat a betegségről és annak kezeléséről (Vaszilkó 2007). Alkalmunk nyílt arra, hogy a saját betegeinknél elért eredményeket összevegyük a nemzetközi publikációkkal és új megfigyeléseinket beépítsük a már elfogadott gyógyítási protokollba (Vaszilkó 2009, Vaszilkó 2011, Vaszilkó 2013). A Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikájának oszteológiai munkacsoportjával hasznos munkakapcsolatot építettünk ki, ami nagyban segítette a betegség szélesebb alapokon való kutatását és a betegek sokrétűbb követését (Balla, Vaszilkó 2011).

A biszfoszfonát története

A biszfoszfonátokat a 19. század közepe óta ismerjük. Az első vegyület szintézise 1865-ben Németországban történt, akkor a diszfoszfonát nevet kapta (Menschutkin 1865). Elsősorban ipari felhasználása volt jellemző, a textil- és olajipar területén alkalmazták, valamint a műtrágyagyártásban.

Gyógyszerként csupán az 1990-es években terjedtek el széleskörűen. Manapság az új és hatékony szerek kifejlesztésével a legelterjedtebb és egyik legerősebb csontfelszívódás elleni hatóanyagok csoportját képezik (Cynthia 2013). A modern szerek az oszteoporózisban elszenvedett vertebrális törések rizikóját 40-70%-kal, a csípőtáji töréseket pedig 40-50%-kal csökkentik (Chesnut 2004, Papaioannou 2010, Dhanwal 2011).

Biszfoszfonát, mint gyógyszer

Alapstruktúrájukat a P-C-P kötés alkotja, ami a természetes pirofoszfát P-O-P szerkezetét utánozza (Gyires 2011). Ez az alapvegyületi felépítés felelős az általános fizikai tulajdonságaikért, mint például a rossz oldékonyságért, vagy a gyenge membránpenetrációs

képességért. A központi szénatomot két oldallánc fogja közre, melyből az egyik a hidroxipatithez való kötődésért, a másik pedig a biokémiai hatásért felelős. Két alapsoportot különítünk el: a nitrogént tartalmazó aminobiszfoszfonátokat és a nitrogént nem tartalmazó biszfoszfonátokat (Gyires 2011). A manapság szinte kizárólag használt aminobiszfoszfonátok hatására az oszteoklaszt összegömbölyödik és csontreszorpciós tevékenysége szinte megszűnik. A biszfoszfonátok az aktív átépülésben lévő csontfelszínhez kötődnek a hidroxipatithez való affinitásuk révén, ez elsősorban a reszorpciós területeket érinti (Masarachia 1996). A gyógyszer tehát szelektíven lokalizálódik a csontban, és elsősorban ott alakul ki belőle nagyobb koncentráció, ahol épp a csontfelszívódást kell leginkább gátolni. A szisztémás koncentrációjuk minimális, mert felszívódás után a keringésből néhány órán belül eltűnnek: vagy a csontban kötődnek le, vagy változatlan formában, metabolizáció nélkül kiürülnek a vizelettel a vesén keresztül (Lakatos 2012). Alapvető gyógyszere a csontmetasztázissal járó rosszindulatú daganatkezelésnek, mint az emlőtumor, hormon refrakter prosztata daganat, vesekarcinóma (Rosen 2004, Body 2006). Tumoros eredetű hiperkalcémiában is használják. A csontban lévő tumor, illetve metasztázis eredetű fájdalmat enyhítik, így javítják a beteg életminőségét (Small 2003, Heidenreich 2004). In vitro kutatások szerint a biszfoszfonátok gátolják a daganatsejtek áttétképzését, apoptózist indukálnak és gátolják a tumorsejtek szaporodását, a már meglévő csontlítikus folyamat növekedését (Green 2002, Santini 2003). A vegyületcsoportot alkalmazzák a korral járó és a glükokortikoidok okozta oszteoporózis kezelésében, illetve a fokozott csontanyagcserével járó betegségekben, mint a Paget-kór, oszteogenezis imperfekta, myeloma multiplex, fibrózus diszplázia, heterotópiás osszifikáció. Leggyakrabban alkalmazott hatóanyagok az alendronát, a zoledronát, az ibandronát és a rizedronát.

A biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis

A daganatos betegeknél észlelt állcsontelhalást eredetileg oszteomyelitisnek vélték és a daganatterápia mellékhatásának találták, a biszfoszfonátok szerepéről ebben a kórképben csupán 2003-ban esett először szó (Wang_2003, Marx 2003). Önálló kórképként, egyéni, új névvel 2005-ben írták le először a biszfoszfonát kezelést követően jelentkező, csupasszá váló csontfelszínekkkel jellemzett elváltozást, a Bisphosphonate Related Osteonecrosis of the Jaws-t (BRONJ) (Hellstein 2005). Az American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons (AAOMS) 2006-ban megfogalmazott egy ajánlást (position paper) a tudomány aktuális helyzetéről a biszfoszfonát okozta állcsontnekrózissal kapcsolatban. A BRONJ definíciója: a BRONJ diagnózisa bizonyított abban az esetben, ha a maxillofaciális régióban szabaddá vált

csontállomány található, ami nem gyógyul az orvos általi felismeréstől számított 8 héten belül olyan betegek esetében, akik biszfoszfonát kezelésben részesültek, és nem kaptak a fej-, nyaki régiót érintő terápiás dózisu sugárkezelést. További panaszok és tünetek is jelen lehetnek a BRONJ feltételezett és bizonyított eseteiben, mint a fájdalom, duzzanat, paresztézia, gennyes váladékozás, lágyszövetek kifelégyesedése, intra- vagy extraorális sipolyképződés, fogak elvesztése vagy radiológiai elváltozások. A betegséget az említett társaság állásfoglalása alapján 4 stádiumra osztjuk. *Nulladik stádiumba* sorolhatók azok a betegek, akiknél nem észlelhető szabaddá vált nekrotikus csontfelszín, de nem specifikus panaszokkal vagy tünetekkel, illetve radiológiai eltérésekkel jelentkeznek. *Első stádium*úként tartjuk számon azt az elváltozást, amikor szabaddá vált, nekrotikus csontfelszín jelenik meg olyan betegeknél, akik egyébként panasz- és tünetmentesek, fertőzésre utaló jel esetükben nem észlelhető. Az ajánlás terápiás javaslatot is megfogalmaz: a nulladik stádium esetén tüneti kezelés, valamint az egyéb lokális faktorok konzervatív kezelése, így például a kariesz vagy parodontális betegségek ellátása javasolt. A betegség *első stádiumában* hasznosak az orális antimikrobiális oldatok, mint például a 0.12%-os klórhexidin. Sebészi kezelés ekkor nem javasolt. *Második stádiumban* a korábbi klórhexidines öblögetés kiegészítendő antibiotikum kezeléssel. A legtöbb izolált kórokozó érzékenynek bizonyult a penicillin csoportba tartozó antibiotikumokra (amoxicillin+klavulánsav). *Harmadik stádiumban* a debridement a legfontosabb, ami alatt antibiotikum védelemben végrehajtott reszekciót, szekvesztrektómiát értünk, ez sajnos kiterjedt esetben állcsontreszekcióval is járhat. A kórlefolyásban szerepe lehet a fogeltávolítást megelőző gyulladásnak, illetve az azt követően szabaddá vált csontfelszínnek, ami nyílt kapu a szájüregben található kórokozók számára. Erre a behatásra a BP terápia következtében csökkent remodellinggel és vérellátással bíró csont és nyálkahártya nem tud kellő védekezést kifejteni, így elindulhat a csontelhalás folyamata. Ezt a teóriát újabb kutatások egészítették ki, miszerint a nitrogént tartalmazó biszfoszfonátok az epithel sejtekre (Landesberg 2008) és a fibroblasztokra is negatívan hatnak (Reid 2009), ezzel hátráltatva a nyálkahártyaseb gyógyulását. A biszfoszfonátoknak immunmoduláns hatásuk is van, beavatkoznak a TNF α , T-sejtek és a makrofágok működésébe IL-1 modulálta folyamaton keresztül (Deng 2007). A felhalmozódott biszfoszfonát pedig direkt toxikus hatást fejt ki a lágyszövetekre, epitheliumra (Reid 2007, Bauss 2008). A diagnózis felállításában nehézséget okoz, hogy röntgenfelvételen csak igen későn ábrázolódik a csontelhalás. A kezelésben a lézer vagy a hiperbárikus terápia alkalmazása nem hozott meggyőző eredményt, a gyógyszerelhagyás pedig rövidtávon teljesen hatástalan a nekrozisra nézve.

Célkitűzés

A kutatás során és az elkészített értekezésben célul tűztük ki, hogy a Semmelweis Egyetem Arc- Állcsont- Szájsebészeti és Fogászati Klinikáján kezelt, BRONJ-ben szenvedő betegek sokoldalú vizsgálata, illetve kezelése kapcsán szerzett tapasztalatok alapján, a lehető legtöbb megtudjunk a biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis patomechanizmusáról, a rizikótényezőiről, továbbá, hogy a megelőzés és kezelés eredményes formáit megtaláljuk.

Konkrét vizsgálandó kérdések:

1. Van-e genetikai háttere a BRONJ-nek és ez hatással van-e a betegség prognózisára?
2. A csont hormonális környezete befolyással bír-e a biszfoszfonát okozta állcsontnekrózisra: például az ösztrogénhiányos állapot (vizsgáltunkban ösztrogénellenes gyógyszeres kezelés) vagy a parathormon hiánya hatással van-e a betegség lefolyására?
3. Vérből nyerhető csontmarkerek segítségével előrejelezhető-e a betegség, illetve megjósolható-e a prognózisa?
4. Az állcsontnekrózis lefolyását mi módon befolyásolja az, ha a betegnek diabetes mellitusa van?
5. A BRONJ elhelyezkedése a szájüregben, valamint az első észleléskori stádiuma kihatással van-e a betegség eredményes gyógyítására?
6. A biszfoszfonát hatóanyaga és adagolási formája hatással van-e a BRONJ kialakulására és a betegség lefolyására?

Módszerek

Betegek

A vizsgálatba a Semmelweis Egyetem Arc- Állcsont- Szájsebészeti és Fogászati Klinikáján 2006. júniusa és 2013. novembere között biszfoszfonát okozta állcsontnekrózissal diagnosztizált betegeket vettünk bele, minden egyéb szelekció nélkül. A BRONJ diagnózist az AAOMS definíciója alapján határoztuk meg (AAOMS 2007). Rögzítettük a klinikai adataikat, az ellátásukat az AAOMS állásfoglalását követve végeztük. A diagnózishoz panoráma felvételt (OP) minden betegünkönél készítettünk, az OP és a klinikai tünetek alapján meghatároztuk a BRONJ felvételi stádiumát. A beteg szubjektív panaszával összhangban (fájdalom, nervus alveolaris inferior érintettség) meghatároztuk a kezelési stratégiát. Antibiotikum kezelést 2-es stádiumtól mindig alkalmaztunk: amennyiben genny nyerhető volt, leoltást végeztünk a célzott antibiotikum terápia végrehajtásához. Preferáltuk primer antibiotikumként az amoxicillin+klavulánsav készítményeket 1 mg-os kiszerelésben, de használtunk clindamycint (300mg), illetve doxycyclint is, elsősorban penicillinallergia esetén. 2-es és 3-as stádiumban mindig sebészi terápiát alkalmaztunk a beteg beleegyezésével, megelőzően antibiotikum terápia zajlott, ami legalább 1 nappal a beavatkozás előtt kezdődött és a műtét után 7-10 napig tartott. 1-es stádium esetén is végeztünk műtétet, legalább 2-4 hétig tartó sikertelen konzervatív terápia után. A műtét során a szükséges minimális feltárásból, a csont vitális paramétereinek kontrollja mellett (csontvérzés, a csont színe) végeztük a reszekciót, melynek kiterjedése csupán a nekrotikus zónát érintette. A sebzárást lokális lebegek használatával feszülésmentesen végeztük, egysoros varrattechnikát alkalmazva. A posztoperatív időszakban a betegeknek hexidin tartalmú öblögető használatát írtuk elő, legalább napi 2-3 alkalommal. A seb dehisztenciájakor jodoformos gézesíkot helyeztünk a területre, melyet 3 naponta cseréltünk addig, amíg vagy elértük a per secundam sebgyógyulást, vagy ismételt műtétet hajtottunk végre.

Csontmetabolizmus vizsgálata

A betegcsoport egy részénél, akik 2010. január és 2013. szeptember között jelentek meg ellátásra klinikánkon, éhgyomri vércukorértéket mértünk (Beckman Coulter, Brea, CA, USA), meghatároztuk a szérum 25-OH-vitamin-D, PTH és β -crosslaps értékeket a Roche E-170 Modular (Roche, Mannheim, Németország) protokollja alapján. A kísérlet a Semmelweis Egyetem Tudományos és Etikai bizottsága által engedélyezett: Semmelweis

Egyetem (ad.8-101/2009-1018EKU), és minden ebben résztvevő beteg írásbeli tájékoztatást kapott a részletekről.

Genetikai háttér vizsgálata

46 beteg esetében a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikájának laborjában genetikai vizsgálatot végeztünk a CYP2C8 (rs1934951) gén polimorfizmusára vonatkozóan. A vérből történő genomi DNS vizsgálatát kit segítségével végeztük: High Pure PCR Template Purification kit (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany). A DNS mennyiségi és minőségi kontrollja NanoDrop B-100 spektrofotométer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) segítségével történt. Csontsűrűséget (Bone mineral density, BMD) a femuron és a lumbális régióban (L2-L4 csigolyák) mértünk kettős röntgen abszorpciometriával (DPX-L, Lunar Corp. Madison, WI, USA). Az osteoporózist a legutóbbi WHO kritériumok alapján határoztuk meg, azaz osteoporózis a diagnózis, ha a T-score alacsonyabb, mint -2.5 SD (Czerwinski 2007). A kísérlet a Semmelweis Egyetem Tudományos és Etikai bizottsága által engedélyezett: Semmelweis Egyetem (ad.8-101/2009-1018EKU), és minden ebben résztvevő beteg írásbeli tájékoztatást kapott a részletekről. A CYP2C8 rs1934951 polimorfizmus analíziséhez a kontroll csoportban 224 egészséges magyar páciens vérmintáját használtuk fel. Kizáró kritérium volt, ha valakinek metabolikus vagy endokrin, csontot érintő megbetegedés szerepelt az anamnézisében, bármilyen krónikus betegségben szenvedett, hormon-, szteroid terápiát kapott, vagy olyan gyógyszert szedett, ami befolyásolhatta a csontmetabolizmust, korai menopauzája volt (40 év alatt), illetve alkoholfüggőségben szenvedett. Kontroll csoportba nem kerülhetett továbbá, akinél emelkedett szérum alkalikus foszfatáz aktivitást, megnőtt parathormon szintet vagy alacsony D-vitamin értéket (25-OH-vitamin D <30 ng/ml) mértünk. A biokémiai értékeket rutin labor módszerekkel határoztuk meg (Roche, Mannheim, Németország).

Utánkövetés

A konzervatív terápiában részesülő betegeinket legalább heti gyakorisággal visszarendeltük, ellenőriztük. A műtéten átesett betegeink kontrollja 7-10 nappal a műtétet követően mindig megtörtént, javasoltuk az ismételt kontrollt 2 héten belül, vagy az azonnali jelentkezést klinikánkon, ha a gyógyult terület ismételten panaszossá válna.

A betegség kezelési módjait, illetve a gyógyulási/relapszus értékeket rögzítettük. Relapszusnak tekintettük a betegség kiújulását, ha dokumentáltan legalább 4 hét klinikai és radiológiai értelemben is gyógyult állapot után tért vissza a betegség ugyanabban a régióban,

vagy a BRONJ megjelent más régióban is, minden egyéb fogászati, szájsebészeti beavatkozás nélkül.

Statisztikai analízis

Fisher's exact teszt, Mann-Whitney teszt, ANNOVA, Kruskal-Wallis próba és a Chi-négyzet teszt segítségével elemeztük az adatokat. A CYP2C8 genotípus összefüggéseinek analízisekor egy többváltozós logisztikus regressziós modellt használtunk fel, illetve a főkomponens analízist (Principal Components Analysis) alkalmaztuk. Szignifikáns eredménynek fogadtuk el ha $p < 0.05$. A kiértékeléshez SPSS 15.0 illetve 22.0 programot használtunk.

Eredmények

A Semmelweis Egyetem Arc- Állcsont- Szájsebészeti és Fogászati Klinikáján 2006. júniusa és 2013. novembere között, biszfoszfonát okozta állcsontnekrózissal diagnosztizált, 121 beteget vettünk be a vizsgálatba. Ebből 65 betegnél a Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikáján laborvizsgálat történt, 46 páciensnél pedig genetikai és csontsűrűség vizsgálatot is végeztünk.

Teljes betegcsoport (n=121) adatai:

- A nemek aránya, átlagéletkor

Nemek aránya: Nők: 92/121 (76%), férfiak: 29/121 (24%). Ha a BRONJ kezelést követő recidíváját vizsgáljuk a nemek viszonyában, nem kapunk szignifikáns eredményt Fisher's exact teszttel: $p=0,100$. Hasonlóan nincs statisztikai összefüggés a kezelés hatására létrejövő stádiumjavulás és a teljes gyógyulási arány viszonylatában sem ($p=0,383$; $p=0,405$). Átlagéletkor: 65,18 év (31 - 87). A férfiak átlagéletkora 65,16 év, a nőké pedig 65,55 év.

A betegcsoportok között a BRONJ kialakulásakor mért életkor tekintetében szignifikáns összefüggést találtunk: **$p=0,022$** ANOVA teszttel, a többi betegcsoportoz viszonyítva az oszteoporotikus betegeknek idősebb korban lesz állcsontnekrózisuk.

- Alapbetegségek szerinti megoszlás

Mamma tumor: 50/121 (41,3%), Prostatata tumor: 17/121 (14%), Oszteoporózis: 23/121 (19%), Myeloma multiplex: 15/121 (12,4%), Vesetumor: 6/121 (0,49%), Krónikus limfoid leukémia: 1/121 (0,08%), Non-Hodgkin limfoma: 1/121 (0,08%), Mielodiszplázias szindróma: 1/121 (0,08%), Tumor coli: 1/121 (0,08%), Tumor pulmonis: 2/121 (0,16%), Tumor uretri: 2/121 (0,16%), Tumor vesicae urinariae 1/121 (0,08%).

- Az első felvételkedori stádiumok alapján

1-es stádium 27 fő (22,3%), 2-es 69 páciens (57%), 3-as pedig 23 beteg (19%) volt, 2 beteg az első észleléskor 0-ás értékkel rendelkezett. Az alapbetegségekkel sem az első észleléskor rögzített stádium ($\text{Chi}^2 p=0,958$), sem a kezelés alatt észlelt legmagasabb stádium nem mutat statisztikai összefüggést ($\text{Chi}^2 p=0,673$). Az első találkozáskor rögzített stádium alapján

számolva a nekrózis prognózisát, mind a kezelés során mutatott stádiumjavulás ($p=0,048$), mind a betegség recidívája tekintetében ($p=0,029$) szignifikáns eredményt kapunk Chi² teszttel. A kezelés során észlelt legmagasabb stádium alapján következtethetünk a BRONJ prognózisára, a relapszusráta közel szignifikánsan rosszabb a magasabb stádiumok esetén: $p=0,052$ Chi² teszttel. Ugyanez az eredmény a stádium javulás tekintetében már nem szignifikáns: $p=0,066$.

- Hatóanyagok alapján

A zoledronát adagolása szerepel 58,7%-ban (71/121), az alendronát 10,7%-ban (13/121), a per os alkalmazott ibandronát 10,7%-ban (13/121), az intravénásan alkalmazott ibandronát és a pamidronát 5%-ban (6/121), a clodronát 3,3%-ban (46/121), a rizendronát pedig 2,5%-ban (3/121) az anamnézisben. 35 beteg esetében észleltünk párhuzamos, vagy egymást követő biszfoszfonátkészítmény alkalmazást. Ebből a 35 betegből 29-nél jelentett a különböző készítmény más típusú hatóanyagot is egyben (nem csupán a kiszerezés változott), több esetben 3 hatóanyag is szerepel a kórtörténetben.

A férfiak és nők biszfoszfonát hatóanyag szerinti megoszlása eltérő, de nem szignifikáns ($p=0,097$), a női betegek körében jelentősebb az orálisan alkalmazott készítmények aránya. A biszfoszfonát hatóanyag típusa és a kezelés alatt észlelt stádium javulás mértéke és a nekrózis relapszusrátája között nincs összefüggés ($p=0,485$, $p=0,112$) Chi² teszttel. Az intravénás és per os kiszerezést kapó betegeket különválasztva sem a BRONJ relapszusrátájában, sem a teljes gyógyulásban, sem a stádium javulás terén nem kapunk szignifikáns eredményt ($p=0,200$; $p=0,112$; $p=0,315$).

- Biszfoszfonát alkalmazás időtartama a BRONJ-t megelőzően

A BRONJ kialakulása előtti biszfoszfonát alkalmazás hosszát vizsgálva átlagosan: 37,26 hónap (1-185) az eredmény. 11 beteg egy évnél rövidebb ideig kapott BP készítményt, közülük mindenki intravénás kiszerezésben részesült. 4 fő áttétes prosztata-, 4 beteg áttétes emlődagában, 2 fő myeloma multiplexben, 1 páciens pedig vastagbél dagában szenvedett.

A biszfoszfonátokat a BRONJ megjelenése előtt per os kiszerezés alkalmazása esetén átlagosan 53,2 hónapig (SD:37,1), intravénás származék esetén pedig 34,9 hónapig adagolták (SD:26,9). Amennyiben a páciens intravénás és per os készítmény bevitelében is részesült, az érték 38,1 hónap volt. A hatóanyagok átlagos alkalmazási hossza hónapokban: alendronát

50,1, ibandronát per os: 53, risedronát 69, pamidronát 31, ibandronát i.v.: 51,2, zoledronát: 31,6 hónap. A biszfoszfonát kezelés időtartama és a BP hatóanyaga között statisztikai korreláció van, bár az eredmény nem szignifikáns: $p=0,070$ (Kruskal-Wallis teszt). A biszfoszfonát alkalmazási idejét és a beteg nemét értékelve nem kapunk szignifikáns eredményt, férfi: 31,04 hónap, nő: 39,33 hónap, $p=0,252$ (Annova teszt). Csak per os kiszárlás alkalmazásában 35 betegünk (28,9%) részesült. A többi beteg vagy csak parenterálisan kapta a biszfoszfonátot, vagy per os és intravénás alkalmazás is szerepelt az anamnézisében.

A biszfoszfonát kezelés időtartama a nekrozis létrejöttéig szignifikáns összefüggést mutat az adagolási formával, i.v./per os (32,57 hónap / 50,44 hónap): $p=0,007$ (Mann-Whitney teszt), de ugyanez az összefüggés az első észlelt stádiumokból számítva (Chi^2 $p=0,381$), illetve a kezelés során elért legmagasabb stádiumból mérve (Chi^2 $p=0,537$) már nem szignifikáns. A betegség kialakulása (BRONJ) és az első jelentkezés között átlagban 4,78 hét telt el (0-25 hét, SD:6,5). A biszfoszfonát adagolásának hossza, és a BRONJ kialakulása után az első jelentkezésig eltelt idő között nincs összefüggés: $p=0,893$.

- A nekrozis lokalizációja

Lokalizáció állkapocs, kvadránsok szerint:

A nekrozisok 30,2%-ban (36/119) a maxillán, 64,7%-ban a mandibulán (77/119) és 5,1%-ban (6/119) mindkét állcsonton jelentkeztek priméren. A két 0 stádiumos beteget ebben a felosztásban nem értékeltük. A maxillán közel szignifikánsan jobban javul kezelés hatására a BRONJ stádiuma, mint a mandibulán: $p=0,051$ (Fisher's exact teszt). A mandibulán a recidívák aránya magasabb, de a különbség nem szignifikáns: $p=0,076$. Nekrozis jelenléte a különböző kvadránsokban nem mutat összefüggést sem a kezelés alatti stádiumjavulással, sem a recidívák arányával ($p=0,290$, $p=0,212$).

Lokalizáció szextáns szerint:

A front régióban helyezkedik el a nekrozisok 18,7 %-a (14/75) és a premoláris-moláris régióban a 81,3 %-a (61/75). Nem volt igazolható összefüggés a betegség lokalizációja tekintetében sem a kezelés alatt a szextánsokban észlelt stádiumváltozással ($p=0,258$), sem a megjelenő recidívák számában $p=0,539$ (Chi^2 teszt).

- Nekrózist megelőző beavatkozások

Fogászati beavatkozás, vagy invazív esemény a BRONJ lokalizációjában - a közeli anamnézisben - 82 esetben szerepelt (67,8%). A beavatkozás 85%-ban fogeltávolítást jelentett. A beavatkozás a BRONJ észlelése előtt hetekben számolva 0-25 hétig terjedt, azaz míg a beteg eljutott a nekrózis gyanújával vagy egyszerűen a panaszaival klinikánkra. Az átlagosan eltelt idő 4,78 hét. A fogászati beavatkozás sem a BRONJ relapszusrátájával, sem a nekrózis teljes gyógyulásával, sem a stádiumjavulással nem mutat szignifikáns összefüggést ($p=0,443$; $p=0,382$; $p=0,475$).

- Szteroid terápia

Szteroid alkalmazása a megelőző terápiák során 17 esetben volt bizonyítható (14%), 89 beteg nem kapott szteroidot, 15 betegnél nem volt biztos adatunk a terápiáról. Sem a kezelés során mutatott stádiumjavulás terén ($p=0,440$), sem a recidívák előfordulási gyakoriságában ($p=0,461$) nem rontott a prognózison az anamnézisben szereplő szteroidkezelés.

- Kemoterápia

Kemoterápia az anamnézisben 89 esetben fordult elő (73,6%). A kezelés során mutatott stádiumjavulás terén ($p=0,278$), illetve a BRONJ recidíváiban sem találtunk összefüggést ($p=0,484$) a korábbi kemoterápia és a nekrózis prognózisa között.

- Diabetes mellitus

25 betegről volt pozitív anamnézisünk diabetes mellitus tekintetében. Ebből 5 betegnek volt általunk mért magasabb vércukorértéke, mint 7 mmol/l. Az 5 betegből 3-nak volt a kezelést követően nekrózis recidívája, 2-nek pedig nem, ami a beállított vércukorértékkel rendelkező, többi cukorbetegnél regisztrált értékkel, a 13 és 7-tel összehasonlítható, nem kiemelkedően eltérő arány, statisztikai eltérés nincs. Tekintettel erre, illetve a csoportok kis betegszámaira, egyben értékeltük a diabetesben szenvedő betegeket, függetlenül az aktuálisan mért vércukorszinttől. A diabetes mellitus betegek és a cukorbetegséggel nem rendelkezők nekrózis recidíva rátája Fisher exact's teszttel szignifikáns: **$p=0,018$** . A diabetes mellitusnak a kezelés során mutatott stádiumjavulással nem szignifikáns az összefüggése: $p=0,529$. Az alapbetegségcsoportok tekintetében sem igazolható aránytalan eloszlás, $p=0,276$ Chi² próbával.

- Antiangiogén, EGFR ellenes kezelés

3 betegünk részesült antiangiogén terápiában, 2 thalidomid-ot 1 bevacizumab-ot kapott, összesen 2 betegnél alkalmaztak EGFR gátló kezelést, statisztikai adatfeldolgozáshoz ez a szám nem elégséges.

- Műtéti beavatkozás

A 121 betegből 106 esetben végeztünk műtétet, a legtöbb műtét, amit egyazon betegen végeztünk, 9 volt, az átlagos műtétszám pedig 1,92. Konzervatív kezelés 98,3%-ban (119/121) szerepel az anamnézisben. A konzervatív kezelésre gyógyult betegeink száma 9, azaz 7,4%, a többi betegnél az exitus vagy hosszabb kontroll hiánya miatt a gyógyulást nem jelenthetjük ki. A műtét során észlelt maximális stádiumjavulás 3 volt, a legrosszabb esetben 1-et romlott a besorolás, átlagban 1,48-at javult. Konzervatív terápia hatására is előfordult a 3-at javuló stádium, de a 3-at romló is, az átlag 0,56 javulást mutatott. Priméren gyógyult betegeink száma 69, ami 57%, függetlenül a kezelés típusától. Az első észleléskori stádiumból és a kezelés során elért stádiumjavulásból a különböző gyógyítási módszerek szerint (sebészi/konzervatív) számított kezelési eredményesség szignifikáns a sebészi megoldás javára: **p=0,0001** (Wilcoxon teszt).

- Ösztrogénellenes terápia:

50 mamma tumoros betegből 40-ről van biztos adatunk hormonterápia vonatkozásában, ahol 32-en (80%) kaptak valamilyen ösztrogénellenes terápiát, 8-an pedig nem (20%). Az átlagéletkor a hormonterápiában részesültek között 63,27 év, a többi betegé pedig 66,41 év volt átlagosan. Az ösztrogénellenes kezelésben részesült és nem részesült mamma tumoros betegek nekrozis relapsusrátája különböző: **p=0,010** Fisher's exact teszttel. Az összefüggés a hormonkezelést kapott és hormonkezelésben nem részesült betegek recidívaszáma között is megtalálható, szignifikáns érték Fisher's exact teszttel: **p<0,018**. Az ösztrogénellenes terápiában részesültek felvételi átlagos stádiuma 2, míg a hormonterápiában nem részesült egyéb betegek átlaga 1,85, ha ugyanezt a kezelést a kezelés során elért legmagasabb stádium tükrében vizsgáljuk, a számok 2,4 és 2,32. Az eredmények között nincs statisztikai értelemben vett összefüggés. A hormonellenes kezelés és a stádiumjavulás között nincs összefüggés, **p=0,313**. Ha az emlőtumoros betegek recidíva arányát hasonlítjuk össze minden egyéb más betegségben szenvedővel, nem kapunk szignifikáns eredményt, **p=0,083** Fisher exact teszttel.

Az ösztrogénellenes terápiában részesültek csontbiomarkereinek vizsgálata kapcsán a következő összefüggéseket találtuk: a T-score a lumbalis 2-4-es csigolyán **p=0,034**, ugyanez a femuron p=0,72; a BMD a lumbalis 2-4 csigolyán szignifikáns összefüggést mutat szintén a hormonhatású kezeléssel **p=0,022** ugyanez a femur vonatkozásában **p=0,023**. A β -crosslaps tekintetében (**p=0,016**) Kruskal-Wallis teszttel kimutatható, hogy magasabb β -crosslaps értékek tartoznak az antiösztrogénnel kezelt csoport tagjaihoz más alapbetegségekhez viszonyítva. A PTH kapcsán (p=0,128), a Z-score-ban (p=0,102; p=0,132) nem kapunk statisztikai összefüggést a Mann-Whitney teszttel.

Laboratóriumi vizsgálat készült 65 beteg esetén

A 65 részletes laboratóriumi vizsgálattal rendelkező betegnél Mann-Whitney teszttel a következő statisztikai korrelációkat találtuk: a triglicerid szint növekedése pozitívan hat a BRONJ relapszusrátájára: p=0,096, és a kezelés során mutatott stádiumjavulásra: p=0,064. Az összkoleszterin értéknél a stádiumjavulás tekintetében nincs statisztikai összefüggés: p=0,129, mint ahogy az LDL: p=0,111, vagy HDL: p=0,395 szintnél sincs. A kalcium szint közel szignifikánsan függ össze a stádiumjavulással p=0,063 (44 főnek javult, 10-nek pedig magasabb átlag kalciumérték mellett stagnált az állapota a stádium tekintetében), azonban a recidívák megjelenésével már nem mutat statisztikai korrelációt. A CTX (β -crosslaps) érték a mamma tumoros betegek között magasabb értékkel bírt (**p=0,054**) Kruskal-Wallis teszttel, de nincs összefüggése a BRONJ prognózisával.

A parathormon szintje nem befolyásolta a prognózist sem a recidívák (p=0,654), sem a kezelés hatására megmutatkozó stádiumjavulás tekintetében (p=0,208 Mann-Whitney teszttel).

Genetikai eredmények elemzése:

Az átlagéletkor 69,5 év volt a 46 BRONJ-s beteg között (szélsőértékek: 60-81). Nem volt szignifikáns összefüggés a nekrozisban szenvedő és a kontroll csoport között sem a kor, sem a dohányzási, sem az alkohol- és kávéfogyasztási szokások terén, sem az átlagos fizikális aktivitásban.

A genotípus eloszlása a BRONJ csoportban: 67.4 % normál GG (n=31), 30.4 % heterozigóta AG (n=14) és 2.2 % homozigóta AA (n=1). A kontroll csoportban 68.7 % (n=154) GG normál, 23.6 % (n=53) heterozigóta AG és 7.6 % (n=17) a homozigóta AA. Chi²-teszt segítségével nem találtunk szignifikáns különbséget CYP2C8 rs1934951 genotípus vagy az allél eloszlásában a BRONJ és az egészséges csoport között.

Szignifikáns összefüggést találtunk a CYP2C8 genotípus és a nekrosis lokalizációja között. A mandibulán a nekrosis reprezentációja szignifikánsan nagyobb az AG típusú betegeink között a homozigóta GG genotípussal rendelkezőkkel szemben ($\text{Chi}^2=5.447$, $\mathbf{p=0.02}$). A többváltozós logisztikai regressziós modellben két változó adott szignifikáns eredményt a mandibularis BRONJ lokalizációra: a kezelés hossza (B: 0.623, $\mathbf{p=0.016}$) és a CYP2C8 genotípus (B: -2.947, $\mathbf{p=0.015}$). Ebben az analízisben, az AG genotípus 19,2-szeres rizikóval bír az alsó állcsonton jelentkező nekrosisra a GG típushoz képest.

Az AG genotípussal rendelkező BRONJ-s betegeink között tíznek a mandibulán, egynek a maxillán és háromnak mindkét állcsonton volt nekrosis. A GG genotípus esetén 17 esetben jelentkezett az elváltozás a mandibulán, 12-szer a maxillán és 2-szer mindkét állcsonton. A BRONJ a mandibulán (76%) 3.3-szoros megnövekedett rizikóval bírt a maxillához képest (23%) az AG heterozigóta betegek körében ($\mathbf{p \leq 0.041}$). Azonban nem volt szignifikáns összefüggés a nekrosis lokalizációban a GG genotípussal rendelkezők között (mandibula 58%: maxilla 42%). A sokparaméteres főkomponens analízissel erős korrelációt észlelhetünk a maxilla területén jelentkező nekrosis és az intravénás biszfoszfonát alkalmazás, illetve néhány szérumban lévő lipid érték között (triglicerid, koleszterin, HDL, LDL). A mandibulára lokalizálódó BRONJ pozitívan korrelál a szérumban lévő kalcium és D-vitamin értékekkel, az orális biszfoszfonát alkalmazásával és a biszfoszfonát terápia hosszával (átlag: 4.79 ± 3.48 év). A betegség stádiumát és a recidívák számát vizsgáltuk a melldagatanatos betegek részére adott hormonterápia viszonylatában, valamint különböző változó csoportokat rendeltünk minden CYP2C8 rs1934951 allélhoz. Az A allél jelenléte (AA és AG genotípus) pozitív összefüggést mutatott nemcsak a nekrosis mandibulán való elhelyezkedésével, hanem a per os gyógyszerhasználattal, a szérumban lévő kalcium szinttel és a D-vitamin szintekkel is. A GG genotípus a maxillán való megjelenéssel, az intravénás alkalmazással és a szérumban lévő lipid markerekkel mutatott összefüggést.

Következtetések

1. A nekrozis kezelési sikeressége az első találkozáskor rögzített stádium viszonylatában szignifikáns.
2. A biszfoszfonát kezelés időtartama a nekrozis létrejöttéig, szignifikáns összefüggést mutat az intravénás/per os adagolási formával, mert az intravénás adagolás átlagosan hamarabb hoz létre csontelhalást. A hatóanyag fajtája azonban önmagában nincs statisztikai korrelációban a biszfoszfonát alkalmazási hosszával.
3. Az adagolási forma intravénás és per os kiszerezést kapó betegeket különválasztva sem a BRONJ relapszusrátájában, sem a teljes gyógyulásban, sem pedig a stádium javulás terén nem kapunk szignifikáns eredményt.
4. A maxillán szignifikánsan eredményesebb a BRONJ kezelése, mint a mandibulán. A moláris régióban mindkét állcsonton gyakrabban alakul ki nekrozis, mint a frontterületen, azonban ez nem befolyásolja a prognózist.
5. A parathormon szintje, a megelőző szteroid kezelés, illetve a korábbi kemoterápia nincs kihatással a BRONJ prognózisára.
6. A diabetes mellitus betegek és a cukorbetegségben nem szenvedők nekrozis recidívája szignifikánsan eltér egymástól, a diabetes rosszabb prognózist jelent.
7. A műtéti kezelés erős szignifikanciával hatékonyabb, mint a konzervatív terápia.
8. A mamma tumoros betegek között az anamnézisben szereplő ösztrogénellenes kezelés szignifikánsan rontja a nekrozis gyógyulási esélyét, mind a többi alapbetegséggel, mind a hormonterápiában nem részesült emlőtumoros betegekkel szemben.
9. A kalcium- és a trigliceridszint korrelál a gyógyítás során kialakult stádium javulással. Az összkoleszterin szint az LDL és a HDL értékei a kezelés eredményességét nem befolyásolják. A CTX (β -crosslaps) szint a mamma tumoros betegek között statisztikailag magasabb, de az értéke nincs kihatással a BRONJ prognózisára.
10. A single nucleotid polimorfizmust (SNP) a citokróm P450-2C génen (CYP2C8) értékelve úgy találjuk, hogy a mandibulán a nekrozis reprezentációja szignifikánsan nagyobb az AG, AA genotípusú betegek között szemben a GG genotípussal rendelkezőkkel. A BRONJ mandibuláris lokalizációval szignifikánsan függ össze a kezelés hossza, a per os gyógyszerhasználat, a szérum-kalcium és a D-vitamin szint is.

Új eredmények:

1. Elsőként vizsgáltuk széleskörűen a BRONJ-ben az állcsontnekrózis prognózisát befolyásoló faktorokat.
2. Elsőként állapítottuk meg a korai ellátás fontosságát: az első vizsgálat alatt észlelt stádium foka szignifikáns összefüggésben van a gyógyítás sikerességével.
3. Elsőként állapítottunk meg szignifikáns összefüggést a BRONJ kezelésének eredményessége és a korábbi ösztrogén ellenes hormonterápia között, mely rontja a nekrózis gyógyulási esélyét.
4. Megállapítottuk, hogy a BRONJ relapszusrátáját szignifikánsan rontja, ha a betegnek diabetes mellitusa van.
5. Elsőként észleltük, hogy a single nucleotid polimorfizmust (SNP) a citokróm P450-2C génen (CYP2C8) vizsgálva az A allél jelenléte (AA és AG genotípus) pozitív összefüggést mutatott nemcsak a nekrózis mandibulán való helyével, hanem a per os gyógyszerhasználattal, a szérum-kalcium szinttel és a D-vitamin szintekkel is.

Saját publikációk jegyzéke

A disszertációval összefüggő közlemény:

Idegen nyelvű:

1. Balla B*, Vaszilko M*, Kósa J, Podani J, Takács I, Tóbiás B, Nagy Z, Lazáry A, Lakatos P. (2012) New approach to analyze genetic and clinical data in bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaw. *Oral Diseases*, 18(6): 580-585. *: társelsőszerző **IF:2,377**
2. Cséplő K, Vaszilko M, Sandra S, Csáki G, Sidó L, Szmrttyka Á, Suri Cs. (2009) The use of magnetic resonance therapy. *Medical Corps International Forum*, 3: 38-41.
3. Vaszilko M, Kovacs E, Restar L, Balla B, Cseplo K, Kosa J, Lakatos P. (2014) Potential significance of antiestrogen therapy in the development of bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Journal of Cranio-maxillofacial Surgery*, 42(8): 1932-1936. **IF:2,933**

Magyar nyelvű:

1. Vaszilko M, Németh Zs, Cséplő K, Barabás J, Szabó Gy, Ujpál M. (2007) Állhatnak a gyulladások hátterében biszfoszfonát származékok a nehezen kezelhető állcsontnekrózisok esetében? *Dental Hírek: A fogászati szakma információs magazinja*, 3: 34-36.
2. Vaszilko M, Barabás J, Szabó Gy, Velich N, Cséplő K, Ujpál M. (2007) Biszfoszfonátok alkalmazása következtében kialakuló osteonecrosis az állcsontokban *Fogorvosi Szemle*, 100(3): 115-119.
3. Vaszilko M, Cséplő K, Németh Zs, Barabás J, Ujpál M. (2009) Gyógyszeres kezelés okozta csontelhalás az állcsontokban. *Lege Artis Medicinae*, 19(1): 47-49.
4. Vaszilko M. (2011) Az állkapocs osteonecrosis: valós és valótlan félelmek. *Lege Artis Medicinae KID*, 1(3): 5-14.
5. Vaszilko M. (2013) Biszfoszfonátok indukálta állcsontnekrózis. *Magyar Orvos*, 21(5): 14-17.
6. Restár L, Újpál M, Vaszilko M. (2013) A biszfoszfonát okozta állcsontnekrózis súlyos esetei. *Dentál Hírek: a fogászati szakma információs magazinja*, 17(6): 32-35.

Könyvfejezet:

1. Vaszilkó M, Cséplő K. A magnetoterápia szerepe a biszfoszfonátok okozta állcsontnekrózisok kezelésében. In: Sandra Sándor (szerk.), Magnetoterápia. San-Ergonomia Kft, Budapest 2013: 335-338. ISBN: 978-963-08-6435-0.

A disszertációval nem összefüggő közlemény:

Idegen nyelvű:

1. Velich N, Vaszilkó M, Németh Z, Szigeti K, Bogdán S, Barabás J, Szabó G. (2007) Overall survival of oropharyngeal cancer patients treated with different treatment modalities. Journal of Craniofacial Surgery, 18(1): 133-136. **IF:0,653**

Magyar nyelvű:

1. Velich N, Vaszilkó M, Cséplő K, Szigeti K, Németh Z, Barabás J, Szabó G. (2006) Elsődlegesen intraarteriális kemoterápiával kezelt mesopharynx-carcinomás betegek túlélési kilátásai. Retrospektív vizsgálat. Orvosi Hetilap, 147(3): 127-131.
2. Ruszin T, Vaszilkó M, Rásonyi-Kovács O, Ujpál M. (2009) Kiterjedt arcsérüléssel járó, halálos kimenetelű kutyatámadás ritka esete. Fogorvosi Szemle, 102(5): 187-190.
3. Vaszilkó M. (2013) Új fájdalomcsillapító a fogászatban. Dental Hírek: a fogászati szakma információs magazinja, 17(3): 48-49.
4. Restár L, Ujpál M, Vaszilkó M, Golopencza P, Németh Zs. (2014) Súlyos dentális eredetű gyulladások a maxillofaciális régióban. Dental Hírek: a fogászati szakma információs magazinja, 18(1): 28-30.

Könyvfejezet:

- 1 Cséplő K, Vaszilkó M. A magnetoterápia lehetősége a szájsebészetben. In: Sandra Sándor (szerk.), Magnetoterápia. San-Ergonomia Kft, Budapest 2013: 315-321. ISBN: 978-963-08-6435-0