

Genetikai variációk szerepe az ágyéki
porckorong degeneráció kialakulásában és
kezelésének hosszútávú eredményességében

Doktori tézis

Dr. Biczó Ádám

Semmelweis Egyetem
Rácz Károly Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető Dr. Lazáry Áron, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Katz Sándor, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Schandl Károly, Ph.D., részleg vez. főorvos

Komplex vizsga elnöke:

Dr. Szendrői Miklós, DSc, egyetemi tanár

A komplex vizsgabizottság tagjai:

Dr. Holnapy Gergely, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Böröcz István, Ph.D., oszt. vez. főorvos

Budapest

2022

1. Bevezetés

A degeneratív gerincbetegségek krónikus mozgásszervi panaszokat okozva a munkából kimaradás egyik vezető oka fejlett országokban. Konzervatív kezelésük általában hatásos azonban az esetek nagyjából 4%-ban sebészeti beavatkozásra kerül sor hatástalan konzervatív kezelés miatt. A műtéti beavatkozás elsődleges célja a fájdalom csökkentése és a funkciók helyreállítása. A műtét eredményessége összetett és multifaktoriális tényezők befolyásolják. Az eredményességet objektív (pl.: izomerő, vegetatív funkciók) és szubjektív (a Beteg által kitöltött kérdőívek alapján, ún. "PROM") eszközökkel vizsgálhatjuk. A leggondosabb sebészi beavatkozást követően is vannak Betegek, akiknél maradványtünetek, panaszok maradnak vissza, akár ún. "failed back surgery syndrome" alakul ki.

A fájdalomfeldolgozás összetett, különböző kémiai anyagok által szabályozott folyamat. A fájdalom ingerület kialakulását szöveti sérülés indítja, amelynek érzetté alakulása változó módon az egyén bizonyos pszichés állapotai és megbirkózó mechanizmusai által

befolyásolva történik. A különböző citokineknek és interleukineknek, mint az interleukin 6 (IL6) és interleukin 1B (IL1B), jelentős szerepe van a lokális fájdalomválasz modulálásában. Az IL1B további fájdalomérzetet közvetítő anyagokat és kaszkádok felszabadulásában is szerepet játszik (pl IL6, prosztoglandinok, MMP9, P anyag).

Különböző multifaktoriális genetikai háttérrel rendelkező betegségek kialakulásában azonosítottak ún. egy pontos nukleotid polimorfizmusokat (SNP). A degeneratív porckorongbetegségek is a multifaktoriális genetikai háttérrel rendelkező betegségek családjába tartoznak, kialakulásukkal sok gén polimorfizmusát összefüggésbe hozták nemzetközi kutatások. Ezen polimorfizmusok közül a D vitamin receptor génjének polimorfizmusait vizsgálták a legtöbbit, szerepét a degeneratív gerincbetegségekben különböző munkacsoportok bizonyították, míg mások ezeket cáfolták. Rajasekaran és munkatársai elemezték az ellentétes eredményeket és arra a megállapításra jutottak, a porckorong degeneráció témakörében végzett kutatások nagyrésze nem homogén, eltérő definíciókat használtak a

degeneráció definiálásra, továbbá nem megfelelő elemszámú csoporton végezték az analíziseket. Véleményük szerint az ellentétes eredmények kiküszöbölésére mindenképp egységes, jól körülírt definíciót kell alkalmazni a degenerációra, továbbá megfelelően nagy elemszámú csoporton kell végezni a vizsgálatokat.

Több esetben leírták a COMT és ARDRB2 gének és variációik szerepét degeneratív porckorong betegségekhez társuló fájdalom panasz megélésében, illetve az interleukin 1B és 6 géncsalád szerepét is bizonyították a degeneratív gerincbetegségek kialakulásában az ágyéki, illetve a gerincből eredő alsó végtagi fájdalmak közvetítésében, valamint a degeneratív gerincbetegek konzervatív kezelésének eredményességében is. Mindazonáltal kevés tanulmány foglalkozik gerincsebészeti beavatkozások eredményességének genetikai befolyásoltságával

2. Célkitűzések

Vizsgálataink során az alábbi kérdésekre kerestük a válaszokat:

1. A genetikai variációknak van-e hatása a gerinc antropometriai tulajdonságainak kialakulására.
2. A VDR génvariációk befolyásolják-e a porckorong degeneráció kialakulását.
3. Genetikai polimorfizmusok milyen szerepet játszanak a betegek preoperatív fizikai állapotukban?
4. Azonosíthatók-e génpolimorfizmusok amelyek befolyásolják a gerincműtétek hosszútávú eredményességét?
5. Milyen genetikai alterációk befolyásolhatják revíziós műtét szükségességét?

3. Módszerek

Genotípezálás

A DNS mintákat vénás vérből vagy nyálból vontuk ki. A kiválasztott polimorfizmusok a Helsinki Egyetemhez tartozó, Helsinkiben található Molekuláris Medicina Intézetben (Finnország) kerültek genotípezálásra Sequenom-Mass Array technológiával iPLEX Gold reagensek felhasználásával (Sequenom Inc., San Diego, USA).

Statisztikai analízis

Allél és genotípus eloszlás, Hardy-Weinberg egyensúly, minor allél frekvencia (MAF) és a genetikai asszociációk az R statisztikai software 'SNPassoc' és 'haplo.stats' beépülő moduljaival lettek meghatározva és elemzve. Az individuális genotípus-fenotípus összefüggések valamint a gén-gén interakciók generalizált lineáris modellel lettek elemzve, a haplotípus-fenotípus összefüggések pedig a haplo.score teszt segítségével voltak vizsgálva. A szignifikáns kovariánsokat (kor, nem, magasság, testsúly, BMI, dohányzás) külön minden

fenotípusra kiszámoltunk, és a $p < 0,05$ értékeket építettük be a vizsgálatainkba.

Klinikai adatok

A betegek bevonásuk során standardizált és validált kérdőíveket (PROM) töltöttek ki a műtét előtt és a köveséi periódusban, amelyekben felmértük a fizikai és mentális állapotukat, életminőségüket. A fájdalmat a 10cm hosszú vizuális analóg skálán (VAS) mértük. Az ágyéki gerinchez kapcsolódó állapotukat az Oswestry Disability Index (ODI) segítségével monitoroztuk. A pszichés zavarokat a szorongás és affektív zavarok szintjén keresztül vizsgálatuk, amelyeket a Zung depresszió skála és a módosított szomatikus percepciók kérdőív magyar változatának kitöltésével mértünk. A betegeket megkértük, hogy értékeljék a gerincműtétjük sikerességét összességében, amelyhez egy 5 elemből álló Likert skálát alkalmaztunk („sokat segített”, „segített”, „kicsit segített”, „nem segített”, „rontott az állapotomon”). Ahhoz, hogy globálisan tudjuk mérni a kezelésük sikerességét a Likert skálán adott válaszok alapján bevezettünk egy új dichotomikus változót az ún. „globális

terápiás kimenetelt” (GTK). Ezen új változóban jó eredménynek számított az, aki azt válaszolta, hogy a kezelés „sokat segített” vagy „segített”, minden egyéb esetben a GTK rossz minősítést kapott. A műtét sikerességét ahhoz igazítottuk, hogy a betegnek volt-e szükséges 2 éven belül reoperációra, amennyiben nem volt, úgy a műtétet sikeresnek minősítettük, egyéb esetben sikertelennek.

4. Eredmények

A gerinccsatorna fejlődésében szerepet játszó genetikai tényezők

Vizsgálataink során úgy találtuk, hogy a DOT1L gén rs12982744 polimorfizmusa szerepet játszik a gerinccsatorna csontos átmérőjének kialakításában az L.I-IV szinteken. Minél több 'G' allélel bír egy beteg annál tágasabb gerinccsatornával rendelkezik (átlag \pm SD 1,75 \pm 0,44; 1,79 \pm 0,41; 1,83 \pm 0,39; $p=0.0005$ log-additive modellben, 'C/C', 'C/G', 'G/G' genotípusok esetén).

A VDR génvariációk és a degeneratív porckorong betegségek

Minden vizsgált specifikus degeneratív fenotípus mutatott összefüggést a VDR gén különböző polimorfizmusaiival. A Pfirrmann grade a DdeI, FokI és ApaI SNP-vel volt kapcsolatban, a porckorong előboltosulás szintén az ApaI polimorfizmussal, míg a Modic típusú véglemez eltérés pedig a BsmI, TaqI és a FokI polimorfizmusokkal mutatott összefüggéseket

A haplotípus vizsgálatok során azt találtuk, hogy a 3' végen található haploblock (BsmI-ApaI-TaqI) a Modic típusú véglemez eltéréssel, amíg az 5' végen található haploblock (Cdx2-A1012G) pedig a véglemez sérülésekkel mutatott összefüggéseket.

IL1B és 6 génvariánsok és a fizikai-, mentális státusz valamint a gerincműtétek hosszútávú eredményessége

IL1B génvariánsok összefüggést mutattak a műtét előtti fájdalmakkal a porckorong sérvvel rendelkezők körében, továbbá a műtét utáni fájdalom csökkenéssel SNP és haplotípus szinten is. Szintén az IL1B gén variánsai hatással voltak a preoperatív depresszió nagyságára. Az IL6 polimorfizmusok hatásait találtuk a preoperatív depresszió és szomatizáció mértékében, továbbá a reoperációk szükségességében.

5. Következtetések

1. A genetikai variációknak van-e hatása a gerinc antropometriai tulajdonságainak kialakulására.

A tanulmányunkban azt találtuk, hogy DOT1L gén variációja befolyással van a csontos gerinccsatorna átmérőjének kialakulására.

2. A VDR génvariációk befolyásolják-e a porckorong degenerációt.

Találtunk összefüggéseket a D vitamin receptor génjének variánsai és a különböző degeneratív porckorong eltérések kialakulása között, amely alátámasztja a korábban megfogalmazott komplex genetikai hátterét a porckorong degeneráció kialakulásának. Jelen tézisben a genetikai vizsgálatokhoz nagy elemszámú homogén degeneratív betegség miatt operált beteg kohortot használtunk. A vizsgálatok során a különböző VDR polimorfizmusokat szerepét néztük jól elkülönülő MR degeneratív porckorong fenotípusok kialakulásában, amelynek során azt találtuk, hogy a különböző

fenotípusok létrejöttében a VDR polimorfizmusoknak jelentős szerepe van.

3. Genetikai polimorfizmusok milyen szerepet játszanak a betegek preoperatív fizikai állapotukban?

Mind az IL1B mind pedig az IL6 polimorfizmusok összefüggést mutattak a depresszió szintjével műtét előtt, továbbá az IL6 polimorfizmusa nagyobb szorongási szinttel társult szintén műtét előtt. IL6 szerepe kimutatható volt a preoperatív fájdalom érzetben a gerincsérvvel rendelkezők körében.

4. Azonosíthatók-e génpolimorfizmusok, amelyek befolyásolják a gerincműtétek hosszútávú eredményességét?

Csak az interleukin 1B géncsalád volt befolyással a gerincműtétek eredményességére, összefüggést mutatott a postoperatív fájdalom csökkenéssel, valamint a globális terápiais kimenetellel.

5. Milyen genetikai alterációk játszhatnak szerepet revíziós műtét szükségességéért?

Az összes vizsgált Il6 polimorfizmus összefüggést mutatott a reoperáció szükségességével.

6. Saját publikációk

A dolgozat alapjául szolgáló közlemények

1/ A. Biczó, J. Szita, I. McCall, P. P. Varga, and A. Lazary, “Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with disc degeneration,” Eur. Spine J., vol. 29, no. 3, 2020
doi: 10.1007/s00586-019-06215-7.

Impakt faktor: 2.64 (2020)

Kvartilis: D1

2/ A. Biczó; F. Bereczki; K. Koch; PP. Varga; Genodisc Consortium; A. Lazary, “Genetic variants of interleukin 1B and 6 are associated with clinical outcome of surgically treated lumbar degenerative disc disease” BMC Musculoskeletal Disorders (2022)

doi: 10.1186/s12891-022-05711-0

Impakt Faktor: 2,562

Kvartilis: Q2

Egyéb közlemények

1/Bozsodi, A., Scholtz, B., Papp, G., Sapi, P., Biczo, A., Varga, PP., Lazary, A. (2022). Potential molecular mechanism in self-renewal is associated with miRNA dysregulation in sacral chordoma – A next-generation RNA sequencing study. *Heliyon*, 8: 8 Paper: e10227, 9 p. doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10227>

Impact Factor: 3,776

2/Lazary, A., Klemencsics, I., Szoverfi, Z., Kiss, L., Biczo, A., Szita, J., & Varga, P. P. (2021). Global Treatment Outcome after Surgical Site Infection in Elective Degenerative Lumbar Spinal Operations. *Surgical infections*, 22(2), 193–199. <https://doi.org/10.1089/sur.2019.344>

3/Szita, J., Kiss, L., Biczó, A., Feher, K., Varga, P. P., & Lazary, A. (2020). Outcome of group physical therapy treatment for non-specific low back pain patients can be predicted with the cross-culturally adapted and validated Hungarian version STarT back screening tool. *Disability and rehabilitation*, 1–9. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/09638288.2020.1799248>

4/Katz, S., Zsiros, V., Dóczy, N., Szabó, A., Biczó, Á., & Kiss, A. L. (2016). GM-CSF and GM-CSF receptor have regulatory role in transforming rat mesenteric mesothelial cells into macrophage-like cells. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society* ... [et al.], 65(10), 827–836. <https://doi.org/10.1007/s00011-016-0967-5>

7. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Lazáry Áronnak, aki medikus korom óta a teljes doktori képzésem során egyengette utamat, támogatott szakmailag és emberileg egyaránt.

Köszönetemet szeretném továbbá kifejezni az Országos Gerincgyógyászati Központ minden munkatársának, akik lehetővé tették a klinikai munkám mellett a tudományos előmeneteletem. Külön köszönet illeti a K+F részlegen dolgozó munkatársaimat, név szerint: Szita Júliát, Pap Editet, Dr. Kiss Lászlót, Dr. Éltés Péter Endrét, Dr. Klemencsics Istvánt, Dr. Szövérfi Zsoltot és Dr. Bozsódi Árpádot.

Végül de nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak a támogatást, amelyet egész életem során kaptam.