

A gyógyszer okozta állcsont elhalás mikrobiológiai háttere

Doktori (PhD) értekezés tézisei



dr. Kövér Zsanett

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Klinikai
Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori (Ph.D.) – értekezés tézisei

Témavezető:

Prof. Dr. Urbán Edit egyetemi tanár

Programvezető: Dr. Nagy Ákos egyetemi docens

Iskolavezető: Prof. Bogár Lajos egyetemi tanár

Pécs

2025.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. A gyógyszer okozta állcsontelhalás (MRONJ)	4
2.1.1. A kórkép etiológiája, patomechanizmusa	4
2.1.2. A kórkép stádiumok szerinti beosztása	5
2.1.3. Diagnózis, differenciáldiagnózis	6
2.1.4. Rizikófaktorok	6
2.1.5. Terápiás lehetőségek	6
2.1.6. Prevenció	7
2.2. MRONJ és a szájüregi mikrobita kapcsolata	7
2.2.1. A mikrobiota szerepe a MRONJ-ban	7
2.2.2. Az actinomycesek mikrobiológiája	8
2.2.3. Az actinomycesek szerepe fogászati kórképekben	9
2.2.4. Az actinomycesek és a MRONJ közötti összefüggések	9
2.3. Állcsontnekrozist okozó gyógyszerek	9
2.3.1. Antiresszorptív szerek	9
A: Biszfoszfonátok: zoledronsav, alendronsav	9
B: Monoklonális antitestek: denosumab	10
2.3.2. Antiangiogén szerek	10
A: Vascularis endothel növekedési faktor gátlók	10
B. Tirozin-kináz gátlók: szunitinib, szorafenib és kabozantinib	11
3. CÉLKITŰZÉSEK	11
4. BETEGANYAG ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK	11
4.1. A beteg- és kontrollcsoport kiválasztása	11
4.2. Mikrobiológiai mintavétel	12
4.3. A minták mikrobiológiai feldolgozása	13
4.3.1. Hagyományos tenyésztéses módszer	13
4.3.2. PCR módszer	13
4.3.3. DNS izolálás, 16S rRNS génkönyvtár készítés és MiSeq szekvenálás	13
5. EREDMÉNYEK	14
5.1. A beteg és a kontrollcsoport anamnesztikus adatainak statisztikai elemzése	14
5.2. A MRONJ lokalizációja és a stádiumok szerinti besorolása a betegcsoportban	15
5.3. Mikrobiológiai eredmények	17
5.3.1. Hagyományos tenyésztéses eljárás eredményei	17
5.3.2. PCR vizsgálatok eredményei	18
5.3.3. Szekvencia analízis eredményei	19
6. A BETEGEK UTÁNKÖVETÉSE: tapasztalatok, eredmények	20
7. MEGBESZÉLÉS	21
8. ÖSSZEFOGLALÁS	25
9. ÚJ EREDMÉNYEK	27
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	27

1. BEVEZETÉS

Az állkapocscsontok (mandibula, maxilla) biszfoszfonát (BP) okozta osteonekrózist, mint diagnózist és betegséget először 2003-ban írták le az állkapocs indukált vascularis nekrozisaként. Marx R.E. *et al.* publikációjukban felhívták a figyelmet ezen szerek egy addig fel nem ismert és nem jelentett súlyos mellékhatásra, illetve, hogy ezen gyógyszerek alkalmazásakor óvatosan kell eljárni (Marx R.E. *et al.* 2003).

A biszfoszfonátok a szervetlen pirofoszfátok (PPi) kémiaiailag stabil analógjai. Az a megfigyelés a humán gyógyászatban, hogy a PPi és a BP-k nem csak a csontnövekedést, hanem a hidroxipatit kristályok feloldódását is késleltetik, csontresorpciót gátló vizsgálatokra készített. Bár a PPi nem volt képes erre, a BP-k oszteoklaszt aktiváció gátlásával rendkívül hatékonyan gátolják a csontresorpciót mind *in vitro*, mind *in vivo* kísérleti rendszerekben és ez a hatás végül igazolódott emberben is. A cél a kóros törések megelőzése, az intraossealis daganat megnagyobbodásának gátlása, a csontfájdalom csökkentése és a hypercalcaemia kontrollálása volt.

Az első geminális biszfoszfonát, amelyet humán terápiában alkalmaztak, az etidronát volt (Smith R. *et al.* 1976). A sikeres első kezelést követően a biszfoszfonátok alkalmazása a humán gyógyászatban egyre népszerűbb lett, így ma már egyre több beteg részesül ebben a terápiában. A fő indikációk a Paget-kór, a myeloma multiplex, az elsődlegesen emlő- és prosztata-metasztázisok a csontokban és a csonttritkulás (Reid IR. and Hosking DJ. 2011; Coleman RE. and McCloskey EV. 2011; Eastell R. *et al.* 2011; Guarneri V. *et al.* 2010). A biszfoszfonátok széles felhasználási spektrummal rendelkeznek és sokáig a megfelelő életminőséget biztosíthatják, azonban ahogy a terápiás alkalmazásuk egyre gyakoribbá vált, illetve megjelentek a kombinált és a szekvenciális terápiák is, újabb és újabb mellékhatásokat jelentettek. A legsúlyosabb késői mellékhatás a biszfoszfonáttal összefüggő állkapocs osteonekrózis (Bisphosphonate- Related Osteonekrózis of the Jaw: BRONJ), amely elnevezését 2014-ben az AAOMS (Amerikai Száj- és Állcsont- és Állcsont-Sebészek Szövetsége) **MRONJ**-ra (Medical Related Osteonekrózis of the Jaw; orvosi eredetű állkapocs osteonekrózis) változtatta (Ruggiero SL. *et al.* 2014). 2022-ben történt az AAOMS a MRONJ ajánlás legutóbbi módosítása (Ruggiero SL. *et al.* 2022). A gyakori alkalmazás, a terápiás kombinációk használata miatt az osteonekrotikus mellékhatások is egyre gyakoribbá és súlyosabb mértékűvé váltak. A MRONJ patofiziológiája, etiológiája ma még mindig nem teljesen tisztázott, így fontos lenne feltárni, pontosabban megismerni a kórkép kiváltó és fenntartó okait. A MRONJ kialakulásában fontos szerepet játszhat a főként anaerob baktériumokból álló szájüregi mikrobiom kvalitatív és kvantitatív összetételének változása, ezáltal az állcsontok bakteriális fertőzése által kiváltott gyulladás. A jelenlegi kutatások alapján nem egyértelmű az orális mikrobiom változásának, átalakulásának szerepe a kórképben. Egyes szakirodalmi adatok alapján különösen kiemelkedő az anaerob mikrobiota tagjai közül a kórkép kialakulásában, súlyosbodásában az actinomycesek és *Actinomyces*-szerű (*Actinomyces*-like Organisms: ALOs) törzsek patogén szerepe (Cerrato A. *et al.* 2021). Amennyiben igazolódik, hogy az *Actinomyces* specíesek jelen vannak és nagyobb csíraszámban vannak jelen az érintett szövetekben, és az általuk kiváltott lokális gyulladás a MRONJ klinikai lefolyásában és prognózisában szerepet játszik, ezt fontos lenne a prevenció és a terápia szempontjából is figyelembe venni. Az eddig alkalmazott mikrobiológiai tenyésztéssel, igazolható a kórokozó jelenléte, azonban ehhez megfelelően felkészült mikrobiológiai laboratóriumi háttérrel kell rendelkezni, ahol a speciális tenyésztési igényeket (anaerob atmoszféra, megfelelő táptalajok, legalább 14 nap inkubálás) meg tudják valósítani. Ma már a korszerű, molekuláris diagnosztikai módszerek (Polimeráz Láncreakció: PCR, 16S rRNS szekvenálás, teljes genom analízis: WGS)

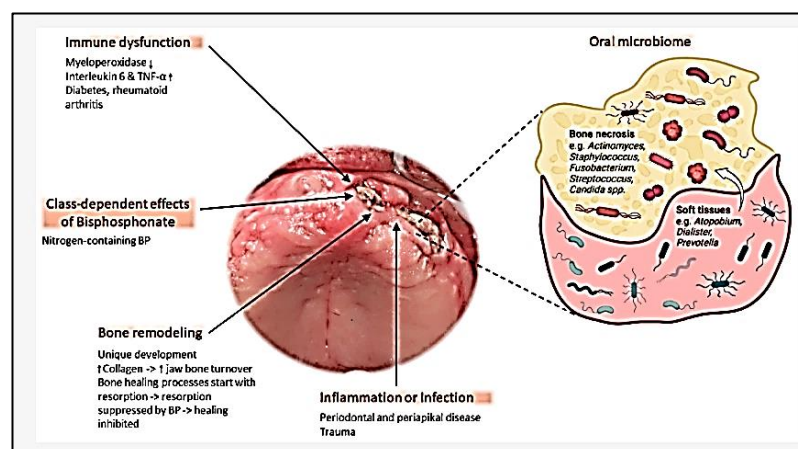
alkalmazásával species-szintű, kvantitatív kimutatás is lehetséges (Könönen E. and Wade WG. 2015, Zhao K. *et al.* 2014, Panya S. *et al.* 2017). Közelmúltbeli kutatások feltárták a biszfoszfónátok és az általuk kiváltott immunrendszeri diszfunkció lehetséges összefüggését, ami a szájüregi fertőzésekre való fokozott fogékonysághoz vezet (Roato I. *et al.* 2023). Ez az új perspektíva megkérdőjelezi azt a korábbi vélekedést, hogy a szájüregi mikrobiom közvetlenül okozza a MRONJ-t. Más tényezők, mint például a szisztémás betegségek, mint a reumatoid arthritis (RA) és a diabetes mellitus (DM), befolyásolhatják az immunrendszer ellenálló képességét és a szervezet fertőzésekre és gyulladásokra való reagáló képességét (Chang J. *et al.* 2018). Feltételezhető, hogy a MRONJ-ban szenvedő betegek immunrezisztenciája csökkent, ami befolyásolhatja az N-BP okozta immunológiai stresszel való megbirkózási képességüket (Kalyan S. *et al.* 2015).

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A gyógyszer okozta állcsontelhalás (MRONJ)

2.1.1. A kórkép etiológiája, patomechanizmusa

Csontnekrózisról akkor beszélünk, ha a csontsejtek bármilyen hatás következtében elhalnak, mely károsodás az adott csont egy részét vagy teljes egészét érintheti. Állcsontnekrózis akkor alakul ki, ha bármelyik állcsont területén denudált csontfelszín látszik és az első kontrolltól számított 8 héten belül is fennáll az elváltozás, valamint az érintett terület nem mutat gyógyulási hajlamot, az anamnézisben nem szerepel fej-nyaki sugárterápia (Lončar Brzak B. *et al.* 2019). Etiológiai faktorok szempontjából a kórképet feloszthatjuk sugárterápia okozta állcsontnekrózisra (osteoradionekrózis), trauma- és nem trauma okozta állcsontelhalásra, az irodalomban is ritka esetnek minősülő idiopátiás állcsontelhalásra és a gyógyszer okozta állcsontelhalásra (Lončar Brzak B. *et al.* 2023). A MRONJ előfordulási aránya a gyógyszerosztálytól, az adagolástól és az alkalmazás módjától függően jelentősen eltér, 0,4% és 21% között mozog (Kim HY. *et al.* 2024). Jelenleg úgy tartják, hogy öt fő tényező, mégpedig az immunrendszeri diszfunkció, a biszfoszfónát (BP) gyógyszercsoport-dependens hatásai, a csontok remodellinje, gyulladás/fertőzés és a szájüregi mikrobiom játszik szerepet a MRONJ kialakulásában (Jelin-Uhlig S. *et al.* 2024) (1. ábra). A klinikai kép alapján az osteonekrózis és MRONJ csak a pontos anamnézis ismeretében különíthető el biztonságosan (Studer G. *et al.* 2016).



1. ábra: Az állkapocs osteonekrózisának patofiziológiájában szerepet játszó öt fő tényező (Jelin-Uhlig S. *et al.* 2024).

2.1.2. A kórkép stádiumok szerinti besorolása

Osteonekrózist okozhat a biszfoszfonátokon kívül az állcsontokon a vasculáris endotheliális növekedési faktor (VEGF) gátlók közé tartozó bevacizumab (Guarneri V. *et al.* 2010) és aflibercept (Mawardi H. *et al.* 2017), a tirozinkináz-gátlók közül a szunitinib (Soós B. *et al.* 2015), szorafenib és kabozantinib (Sánchez López JD. *et al.* 2021) és a monoklonális antitestek, így a denoszumab.

A MRONJ kritériumai:

1. A betegnél korábban történt, vagy jelenleg is zajlik antireszorptív kezelés – önmagában, vagy immunmodulátorokkal kombinálva-, és/vagy antiangiogén terápia.
2. Denudált csontfelszín, vagy extra- és/vagy intraoralis fistulán keresztül vizsgálható állcsontterület a maxillofacialis régióban, amely lézió már több mint 8 hete fennáll.
3. Az anamnézisben nem szerepel az állcsontokat érintő sugárterápia, vagy metasztatikus csonttáttét.

A MRONJ esetében a betegség progressziójában eltérő stádiumokat különböztetünk meg, amelynek besorolása a „staging” rendszerrel történik. Az AAOMS általi ajánlás nem az egyetlen érvényben lévő klasszifikációs rendszer, más nemzetközi szervezetek által kidolgozott konszenzus is érvényben van (Campisi G. *et al.* 2020). Dolgozatomban AAOMS ajánlása szerinti klasszifikációt ismertetem a MRONJ kórképének súlyossága szerinti 5 csoportja (rizikócsoporthoz, 0-III. stádium) alapján:

Rizikócsoporthoz: Olyan intravénás vagy orális antireszorptív terápiaiban részesült vagy részesülő betegeket jelent, akiknél nem diagnosztizálható jelenleg állcsontnekrózis.

0. stádium: Azok a betegek sorolhatóak ebbe a stádiumba, akiknél klinikai vizsgálattal nem igazolható necroticus csontfelszín, de nonspecifikus-panaszok (fogfájdalom fogeredet nélkül; temporo-mandibularis ízületbe sugárzó tompa állcsontfájdalom; arcüregi fájdalom; megváltozott neuroszensoros funkciók), klinikai (fogvesztés, intra- és extraoralis duzzanat) és/vagy radiológiai (alveolaris csontvesztés; trabecularis szerkezet megváltozása, periodontális ligamentumok megvastagodása) eltérések megtalálhatóak. Tekintettel arra, hogy a 0. stádium I. stádiumba történő progressziójára közel 50% esély van, így az AAOMS kiemelt figyelmet javasol a tünetek pontos ismeretére, hiszen ezáltal a betegség korai fázisban diagnosztizálható (Fedele S. *et al.* 2010).

I. stádium: Az állcsonton denudált és necroticus csontfelszín vagy szondázható fistula látszik gyulladásos tünetek nélkül. Radiológiai eltérések megegyezhetnek az processus alveoláris 0. stádiumban leírt elváltozásaival.

II. stádium: Az állcsonton denudált és necroticus csontfelszín vagy szondázható fistula látszik gyulladásos tünetek kíséretében. A radiológiai eltérések a processus alveolarisra korlátozódnak a 0. stádiumban leírtaknak megfelelően.

III. stádium: A II. stádium tünetei mellett legalább egy kritériumnak a következőkből teljesülnie kell:

- a nekrosis a processus alveolarison is túlterjed (ramus mandibulae, sinus maxillaris, zygoma)
- patológiás törés
- extraoralis fistula
- oronasalis vagy oroantralis fistula
- osteolysis a mandibula basisáig vagy a sinus maxillaris alapjáig is kiterjed.

2.1.3. Diagnózis, differenciáldiagnózis

Klinikailag legfontosabb jel a már több mint 8 hete fenn álló, gyógyulási hajlamot nem mutató denudált necroticus csontfelszín, amely és/vagy extra vagy intraoralis fistulán keresztül vizsgálható. Az anamnézisben nem szerepel fej-nyaki sugárkezelés vagy ezen a területen kialakult csontmetasztázis. A beteg korábbi és vagy jelenlegi gyógyszerei között szerepel antireszorptív kezelés esetlegesen immunmodulátorokkal kombinálva, vagy antiangiogén terápia. Amennyiben a három kritérium teljesül a diagnózis felállítható (Ruggiero SL, *et al.* 2022). Differenciáldiagnosztika szempontjából fontos megkülönböztetni a korábbiakban felsorolt egyéb behatások (trauma, sugárterápia stb.) által okozott állcsontnekrosis betegségektől, valamint más osteitisektől, vagy akár rosszindulatú csontbetegségektől (sarcoma), a chronicus sclerotizáló osteomyelitis-től, valamint a változatos tüneteket és megjelenést okozó fibroosseus elváltozásoktól (Kün-Darbois JD. and Fauvel F. 2021).

2.1.4. Rizikófaktorok

A MRONJ kialakulása multifaktoriális folyamat, amelyet több különböző tényező is befolyásolhat egyszerre. Mi sem mutatja jobban a multifaktoriális eredetet, minthogy a betegség incidenciája világszerte 0,4%-21%-os változatos spektrumot mutat (Faiman B. *et al.* 2013; Khan AA. *et al.* 2015; Kos M. 2015; Owosho AA. *et al.* 2016; Bagan J. *et al.* 2016; Limones A. *et al.* 2020; Soares AL. *et al.* 2020; Hajeri S. and Alturkistany Y. 2022; Amigues C. *et al.* 2023, Kim HY. *et al.* 2024). A kórkép kialakulását alapvetően befolyásolhatja az alkalmazott terápiás szer tulajdonsága és annak beadási módja, mennyisége, időtartama, társbetegségek és gyógyszeres kezelések és egyéb további lokális és szisztémás tényezők (Kos M. 2015). Mára már az alkalmazott terápiás szerek száma, indikációja és az esetleges kombinációs terápiák miatt az ORJ előfordulása is megnőtt, a rizikófaktorok meglete sem elkerülhető, ezért ezek ismerete és rendszerezése hasznos iránymutatást adhat a terápiában és a mellékhatások kezelésében, esetleg azok prevenciójában.

2.1.5. Terápiás lehetőségek

A stádiumok szerint a betegség különböző előrehaladott fázisai különíthetők el, így a stádiumok különböző terápiás ellátást is igényelhetnek. Legfontosabb a betegek megfelelő tájékoztatása a kórfolyamatról, valamint edukációja. A kezelőorvos legfőbb feladata az életminőség romlásának megakadályozása, ezt a fájdalomcsillapítással és a felülfertőződés, valamint a nekrosis továbbterjedésének megakadályozásával előzhetjük meg. A sebészi ellátás, a pre-, poszt- és konzervatív terápiaként is alkalmazható antibiotikus terápia, a megfelelő szájhigiéné fenntartása, szájvíz használat és a gyakori fogorvosi kontrollok, a DM megfelelő

kontrollálása, a dohányzás elkerülése mind a MRONJ tág terápiás és prevenciók spektrumát képezhetik (Kunchur R. and Goss AN. 2008; Lodi G. *et al.* 2010; Bonacina R. *et al.* 2011).

2.1.6. Prevenció

A **primer prevenció** az ún. fogászati góctalanítást értjük: a betegek az biszfoszfonát és egyéb állcsontnekrózist okozó gyógyszeres terápia megkezdése előtt kötelező, alapos fogászati szűrővizsgálaton jelennek meg, ahol szükség esetén fogászati góctalanítást végzünk (Nicolatou-Galitis, O. *et al.* 2019). A cél ezzel a szájüregi gócok eliminálása, amivel edukációval egybekötve egy jó szájhygiénét biztosíthatunk a beteg számára, és csökkenthetjük a további patológiás rizikófaktorok megjelenését (Soares AL. *et al.* 2020), így biztosíthatjuk a beteg számára a legkisebb esélyt a MRONJ kialakulására. A primer prevenció az ajánlások szerint nemcsak a terápiát megelőző fogorvosi ellenőrző vizsgálatot jelenti, hanem a gyógyszeres terápia alatti és utáni folyamatos kontrollt.

A **szekunder prevenció** vagy a korai diagnózis a kórkép fontos alappillére, emellett ide tartozik a dohányzás, drog- és alkoholfogyasztás mellőzése vagy mérséklése, csökkentése is. Az állcsont nekrozisra ható tényezők alapján a betegeket magas rizikócsoporthoz tartozó „high risk” és alacsony rizikócsoporthoz tartozó „low risk” kategóriába sorolhatjuk (Veréb T. *et al.* 2020; Kammerhofer G. *et al.* 2022) (1. táblázat).

Alacsony rizikócsoporthoz tartozó beteg	Magas rizikócsoporthoz tartozó beteg
Szisztémás	
Benignus (oszteológiai) alapbetegség	Malignus alapbetegség
Egyszerű RA, vagy VEGF terápia	Kombinált/Konkomitáns AR+VEGF terápia
Orális gyógyszer adagolás	Intravénás adagolás
Alacsony kumulatív dózis, rövid kezelési idő	Magas kumulatív dózis, hosszú kezelési idő
Kísérő betegség (DM, AR) hiánya	Kísérő betegségek megléte (DM, AR)
Egyéb gyógyszeres kezelés hiánya	Egyéb gyógyszeres kezelés: szteroid, immunterápia
Lokális	
Nincs megelőző MRONJ az anamnézisben	Megelőző MRONJ az anamnézisben
Jó páciens compliance	Rossz páciens compliance
Jó szájhygiéne	Rossz szájhygiéne
Fogon megtámasztott pótlás/nincs fogpótlás	Nyálkahártyán/rosszul támaszkodó fogpótlás

1. táblázat: A „low és high risk” faktorok besorolása (Veréb T. *et al.* 2020; Kammerhofer G. *et al.* 2022).

2.2. MRONJ és a szájüregi mikrobiota kapcsolata

2.2.1. A mikrobiota szerepe a MRONJ-ban

Az orális mikrobióta a mikroorganizmusok hatalmas számú változatos fajtát/alfaját képviseli, dinamikus és polimikrobiális közösségekben. A szájüregi mikrobióta a szájüreg fiziológiás része, amelynek fontos funkciói vannak, mint például a patogén baktériumok elleni védelem, amelyek károsak lehetnek az általános egészségre; ezek a mikrobiális közösségek együttesen a homeosztázis és a dysbiosis fő mozgatórugói az egészségben, illetve a betegségekben (Gao L. *et al.* 2018; Baker JL. *et al.* 2024). Ennek a nagyon érzékeny ökoszisztémának a megváltozása, a különböző, additív virulenciafaktorokkal rendelkező patogén

mikroorganizmusok elszaporodása, ami az ökológiai egyensúly felbomlásához vezet, a hibásan működő immunrendszerig jelentős hatással lehet mind a helyi, mind a szisztémás egészségre. A szájüregi mikrobiota az emberi gazdaszervezet immunrendszerére is jelentős hatással van, így nemcsak a szájüreg egészségében, hanem a szisztémás egészségben is fontos szerepet játszik. Egy elterjedt hipotézis (Sedghizadeh PP. *et al.* 2008; 2009; Street J. *et al.* 2002) szerint a csont mindaddig megőrzi egészségét, amíg sérülést nem szenved, és meg nem fertőződik patogén orális baktériumokkal. A fertőzésnek a kombinációja a BP-k okozta csontreszorpció-csökkenéssel és az erek károsodásával együtt gátolhatja az új csontképződés folyamatát, így elősegítheti a MRONJ kialakulását, ami azt sugallja, hogy a MRONJ-ban a bakteriális kolonizáció a száj mikrobiómából származhat, befolyásolja a BP-kezelés és a száj/csontok egészségének ezt követő változásai (Aspenberg P. 2002, Bi Y. *et al.* 2010; Migliorati CA. *et al.* 2005). Az a kérdés, hogy az orális mikrobiom ok-okozati szerepet játszik-e a MRONJ-ben, összetett és több vonatkozású. Számos tanulmány azt mutatja, hogy a szájüregi mikrobiom nem tekinthető a BRONJ közvetlen okozójának, mivel a BP-vel kezelt egyéneknek az alapbetegségük miatt jellemzően hiányosak az immunrendszerük, ezért az BP kezelések által okozott további immunstressz növelheti a BRONJ kialakulásának kockázatát (Kalyan S. *et al.* 2015). Más tanulmányok azt mutatják, hogy a MRONJ-vel kapcsolatos csontfertőzésekhez kapcsolódó baktériumok eltérhetnek a szájüregben előforduló egyéb csontfertőzésekben előforduló baktériumoktól, (Sedghizadeh PP. *et al.* 2008, 2009) amelyek tartalmazzák a MRONJ léziókban található különféle mikroorganizmusokat, melyek a csontokat, ízületeket és fogakat érintő opportunist fertőzésekért felelősek (Wei X. *et al.* 2012; Jabbour Z. *et al.* 2016).

2.2.2. Az actinomycesek mikrobiológiája

2.2.3. Az actinomycesek szerepe fogászati kórképekben

Az *Actinomyces* fajok az „*Actinomycetaceae*” családba tartoznak, más nemzetségekkel együtt, mint az *Actinomyces*, *Actinotignum*, *Arcanobacterium*, *Schaalia* és *Varibaculum* és az „*Actinomyces*-szerű” fajok (*Actinomyces*-like organisms: ALO). Az *Actinomyces* nemzetség jelenleg 46 fajból és 2 alfajból áll, amelyeket molekuláris és fenotípusos módszerekkel jellemeztek.

Az *Actinomyces* spp. tagjai elágazó, coryneform Gram-pozitív pálcák, amelyek néhány klinikailag releváns faj kivételével fakultatív anaerob baktériumok. Az *Actinomyces* spp. törzseinek fonalas, mikroszkópikus telepei anaerob környezetben, 37°C-on történő inkubálás után 2-4 napon belül szaporodhatnak, azonban általában a telepek kitenyésztéséhez 7-14 nap szükséges (Könönen E. 2020). Az *Actinomyces* fertőzések fej-nyak régiói (beleértve a központi idegrendszert), hasi, mellkasi (tüdő), kismedencei és bőrfertőzésekre oszthatók, a klinikailag legelterjedtebb típusuk a cervicofaciális fertőzések. Az *Actinomyces* törzsek által okozott fertőzések endogén fertőzések és a normál fiziológiás barrierek, például a szájnyálkahártya sérülése után keletkeznek, melyek lehetővé teszik a mikroorganizmusok bejutását a lágy szövetekbe. Az actinomycosis jellegzetes elváltozása több, kisméretű, egymással kommunikáló tályogból álló indurált terület, amelyet granulációs szövet vesz körül (Bojanova L. *et al.* 2015). A léziók ún. „kén” szemcséket tartalmaznak, amelyek ként nem tartalmaznak, sárgás megjelenésük miatt nevezik így; az *Actinomyces* baktériumok elágazó filamentumainak összegabalyodott tömegéből állnak. A szájüregben a fiziológiai barrierek károsodása bekövetkezhet trauma miatt, mint például foghúzás, állkapocstörés vagy egyéb traumás sérülések, parodontális műtétek, de akár a mély parodontális tasakok, vagy fertőzött gyökércsatornák miatt is. Az *Actinomyces* fertőzések többsége polimikrobiális, azaz a fertőzésben több, különböző virulenciafaktorral rendelkező aerob-anaerob mikroorganizmus

együttesen játszik patogén szerepet (Brook I. 2008). Általában a *Streptococcus* nemzetség tagjai a leggyakrabban társult organizmusok (Doran A. *et al.* 2004), melyek szinergikusan hatnak azáltal, hogy gátolják a gazdaszervezet védekező mechanizmusait és jelentősen csökkentik az oxigénpotenciált az adott szövetben, ami fokozza az anaerob baktériumok elszaporodását. A patogén *Actinomyces* törzsek virulenciafaktorait igyekeznek megismerni, egereken végeztek actinomycosis-fertőzés kísérleteket, (Jordan HV. *et al.* 1984) ahol a szövettani bizonyítékok azt mutatták, hogy a polymorphonucleáris leucocyta nem képesek behatolni a granulomatózus bakteriális léziók centrumába, így nem érik el a granulomokon belüli baktériumokat és ezek a túlélő baktériumok az anaerob környezet fokozott kialakításával az *Actinomyces* sejtek életképességét, szaporodását segítik elő. Így, a kísérő copatogén baktériumok képesek a toxinok és enzimek termelésére, valamint a gazdaszervezet védekezésének gátlására. Egyes kutatások rávilágítanak arra, hogy az *Actinomyces* fajok szerepet játszanak az orális biofilm képződésében (D'Amore F. *et al.* 2020).

2.2.4. Az actinomycesek és a MRONJ közötti összefüggések

A MRONJ esetében a biszfoszfónatok szövetekben történő felhalmozódását feltételezik az osteonekrózis elsődleges okaként, mivel a biszfoszfónatok gátolják a csont-helyreállítási folyamatot és vascularisált nekrozishoz vezetnek. A megfigyelések azonban megkérdőjelezték ezt a hipotézist, és felvetették, hogy a biszfoszfónatok alkalmazása elősegíti az osteonekrózist eredményező actinomycosis fertőzést. Számos preklinikai és klinikai vizsgálat azt sugallja, hogy a fertőzés nagy szerepet játszik a patogenezisben, ez az úgynevezett „fertőzés hipotézis”, azonban a hipotézisnek még nincs elég meggyőző bizonyítéka. Hiányzik az egyértelmű bizonyíték arról, hogy az *Actinomyces* speciesek törzseinek megtelepedése, kvalitatív és kvantitatív arányának jelentős változása hozzájárul-e a csontnekrozist okozó gyulladásokhoz, vagy csak a már elhalt csontot kolonizálja. Mindazonáltal az irodalomban rendelkezésre álló kutatások erős összefüggést mutatnak a helyi fertőzés és az MRONJ kialakulása között.

2.3. Állcsontnekrozist okozó gyógyszerek

2.3.1. Antireszorptív szerek

A: Biszfoszfónatok: zoledronsav, alendronsav

A BP-k klinikai humán terápiás elterjedésének fő oka az volt, hogy a BP-k bizonyíthatóan gátolják a csontreszorpciót (Russell RG. *et al.* 2008). A biszfoszfonsavak két foszfonsav csoportot és egy P-C-P kötést tartalmazó vegyületek, melyek szerkezete hasonlóságot mutat a pirofoszfát P-O-P szerkezetével, mely a csont egyik fontos építőeleme. A változatos struktúra az antireszorptív hatás potenciált, valamint a hydroxiapatithoz kötődést befolyásolja. A biszfoszfónát molekulastruktúrája több fizikai tényezőt is befolyásolhat, köztük az oldékonyságot és membránpenetrációt (Drake MT. *et al.* 2008). Ezek a szintetikus pirofoszfát analógok 2 csoportra oszthatóak R2 oldallánc alapján: az egyik csoport a nitrogént tartalmazó amino-biszfoszfónatok (N-BP): zoledronsav, ibadronsav, pamidronsav, alendronát, rizedronát, a másik csoportba tartoznak a nem nitrogén tartalmú biszfoszfónatok (etidronsav). Az egyszerű BP-k nagyon hasonlítanak a PPI-re (pl. klodronát, R2=Cl), és ezek voltak az elsők felszívódást gátló BP-ok, melyeket klinikai használatra fejlesztettek ki. A nitrogéntartalmú biszfoszfónatok (N-BP) nagyságrendekkel erősebben gátolják a csontreszorpciót *in vivo*, mint az egyszerű biszfoszfónatok. A biszfoszfónatok nem csak az osteoclast-osteoblast-osteocytá rendszert befolyásolják, hanem közvetlen hatást gyakorolnak a lokális érrendszerre is. Ezenkívül *in vitro* vizsgálatok is folynak a biszfoszfónatok progenitor sejtekre gyakorolt hatásáról. A placenta

mesenchimális őssejtekből differenciált endothel sejtvonallal végzett kísérletek igazolták, hogy a nitrogén tartalmú biszfoszfonátok (N-BP) gátló hatást gyakorolnak az endothelsejt migrációjára, differenciálódására, funkciójára és befolyásolják a morfogén tulajdonságait. Így befolyásolva az angiogenezist is és elősegítve a MRONJ kialakulását (Sharma D. *et al.* 2016). A BP-ok alacsony terápiás dózisu alkalmazása növeli a fibroblastok proliferációs képességét, de csökkenti a növekedésükhöz és differenciálódásukhoz szükséges gének expresszióját, ezáltal a fibroblastok funkcionális képessége korlátozódhat és más faktorokkal kiegészülve a MRONJ kialakulásának esélye megnőhet (Manzano-Moreno FJ. *et al.* 2019). Egészséges emberek szájnyálkahártyáján, és tenyésztett humán orális keratinocytákon végzett kísérletek igazolták, hogy a BP-ok befolyásolják az epitheliális sejtek adhézióját, a differenciálódását, a proliferációját, a migrációját, az öregedését és elősegítik az apoptosist (Oike A. *et al.* 2022). A biszfoszfonátoknak több alkalmazási módja lehet, az alendronátot orálisan (po), a neridronátot intramuszkulárisan (im) a zolderonsavat intravénásan (iv) kapják a betegek. A csontremodelling BP-k általi gátlása az egyik kulcsfontosságú tényező, amely a MRONJ-t okozza (Tetradis S. *et al.* 2023). A BP-k csontremodellingre gyakorolt hatása, valamint az állcsontok eltérő fejlődési mechanizmusai a hosszú csontokhoz képest magyarázhatják a MRONJ domináns előfordulását az állkapocsban. Míg a maxilla és a mandibula intramembranális csontfejlődés útján jön létre, a hosszú csontok endochondralis csontosodáson mennek keresztül. Ez a fejlődési utak különbsége jelentős anatómiai különbségekhez vezet, beleértve a csontsűrűség eltérését, valamint a kortikális és szivacsos csont- és csontvelő-terek egyensúlyát. Érdekes módon az emberi mandibulában magasabb a kollagéntartalom és alacsonyabb a hidroxilizin enzim szintje, mint a hosszú csontokban, ami hozzájárulhat az állkapocscsontokban előforduló osteonekrózis magasabb arányához (Sasaki M. *et al.* 2010). Mindezek mellett a BP-k még anti-angiogén tulajdonságokkal rendelkeznek: gátolják a humán endotélsejtek proliferációját, adhézióját és migrációját és elnyomják az angiogenezist (Vincenzi B. *et al.* 2005). Ezen kutatások hangsúlyozzák a MRONJ multifaktoriális patofiziológiáját, amelyet az immunrendszer diszfunkciója, a megváltozott génexpresszió és az antiangiogén hatások együttesen váltanak ki.

B: Monoklonális antitestek (MAB): denoszumab

Annak ellenére, hogy a biszfoszfonát és denoszumab terápiának van azonos indikációja, hatásmechanizmusuk mégis különbözik: (Malan J. *et al.* 2012) míg a biszfoszfonátok sejtszinten, azaz az osteoclastokon keresztül érik el a kívánt terápiás hatást, addig a denoszumab az extracelluláris térben hat (Baron R. *et al.* 2011). A denoszumab egy olyan monoklonális antitest (IgG2), amely RANK-RANKL-osteoprotegerin tengely mentén fejti ki hatását (Jakab L. 2014). Az antireszorptív hatású molekula nagy affinitással és szelektivitással kötődik a RANKL-hoz, ezzel megakadályozza az osteoclast prekursorok és kifejlett osteoclastok felszínén található receptorának (RANK) aktiválódását, ezért csökken az osteoclastok érési folyamata, aktivitása és ezáltal csontreszorpció is (Taylor KH. *et al.* 2010; Tofé VI. *et al.* 2020).

2.3.2. Antiangiogén szerek

A. Vascularis endothel növekedési faktor (VEGF) gátlók

Bevacizumab: Az antiangiogén gyógyszerek csoportjába tartozó G1 humán monoklonális antitest az úgynevezett VEGF receptorhoz kötődést gátolja (Morita Y. *et al.* 2020). A VEGF az egyik felelős faktora az angiogenesis és vasculogenesis folyamatának, a bevacizumab így csökkenti a tumor vascularizációját ezáltal gátolja a tumornövekedést.

Aflibercept: A aflibercept rekombináns fúziós fehérje, amelyben a humán VEGF receptor extracelluláris doménjei a humán immunglobulin G1 (IgG1) Fc részével fúzionálnak (Clarke JM. and Hurwitz HI. 2013). A VEGF-A és PlGF az angiogén faktorok VEGF családjának tagjai, ahol a PlGF faktor szinergizmusban hat a VEGF-A-val, mely kapcsolat a vascularis permeabilitásért felelős. A receptorok gátlásával blokkolható a tumor angiogenesis és vascularis permeabilitás.

B. Tirozin-kináz gátlók: szunitinib, szorafenib és kabozantinib

Szunitinib: A tirozin-kináz receptorcsalád bizonyítottan hatással van a tumor növekedésre, a patológiás angiogenezisre és a metasztázis terjedésre. (Soós B. 2015; Ramírez L. *et al.* 2015) A szunitinib gátolja a tirozin-kináz receptorcsalád tagjait (PDGFRD, PDGFRE, VEGFR1-2-3, KIT, FLT3, CSF-1R, RET) és ezáltal a jelátviteli útvonalakat, melyek befolyásolják az angiogenesis indukcióját és a tumor progresszióját (Hoefert S. *et al.* 2010).

Szorafenib: A szorafenib multikináz inhibitor, amely gátolja daganat érellátását (CRAF, VEGFR-2, VEGFR-3 és PDGFR-β) és csökkenti a daganatsejtek proliferációját valamint a daganat angiogenezisét. Fő indikációs területe a hepatocelluláris- és vesecarcinoma.

Kabozantinib: A kabozantinibet leginkább vesecarcinoma, pancreas tumor és gastrointestinalis stroma tumor kezelésére alkalmazzák. Több tirozin-kináz receptort gátol, így beavatkozhat a tumornövekedést és érzékelést serkentő jelátviteli folyamatokba, valamint csökkentheti a metasztázis progressziót és a patológiás csont remodellinget szintén gátolhatja.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk során célul tűztük ki:

- azt, hogy beteganyagunkban a terápiát kapó, gyógyszer okozta állcsontelhalásban szenvedő betegek anamnesztikus- és állapotfelmérő adatait: átlagéletkorát, nemét, alapbetegségeit, predisponáló tényezőiket, a kapott terápiát, ennek alkalmazási módját, időtartamát elemezve összehasonlítsuk a nemzetközi adatokkal.
- a betegek esetében a már műtéttel eltávolított csontdarabból tenyésztéssel kimutatható **anaerob** baktériumok, ezek közül is az **Actinomyces** fajok jelenlétének igazolását, az orális mikrobiota mennyiségi és minőségi jellemzését.
- azt, hogy igazoljuk, mind tenyésztéssel, mind PCR módszerrel, hogy a MRONJ beteganyagban a kontrollcsoporthoz képest nagyobb arányban fordulnak elő az **Actinomyces** fajok, illetve ezek a fajok mely másik baktérium fajokkal fordulnak elő együtt a csont mikrobiotában.
- random módon válogatott 5-5 esetben vizsgáljuk a csont mikrobiom összetételét, az alfa és béta diverzitásbeli különbségeket.
- vizsgáljuk, hogy van-e összefüggés a betegek klinikai státusza, a betegség rizikótényezői és a csont-biofilmből tenyésztéssel kimutatott mikrobiota összetétele között.
- a betegek állapotának hosszútávú (1 hónap, 3 hónap, 6 hónap) nyomonkövetését, melyben a kezelt betegek posztoperatív, konzervatív terápiáját követően megfigyeljük a kórkép lefolyását és az esetleges recidívák előfordulásának gyakoriságát.

4. BETEGANYAG ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

4.1. A beteg- és kontrollcsoport kiválasztása

A kutatásba 35 olyan, az osteonekrózis különböző stádiumaiban szenvedő beteg került bevonásra, akik biszfoszfonát, vagy más állcsontnekrózist okozó gyógyszeres terápiát kaptak a jelen műtét előtt per os, vagy intravénás formában. A kontroll csoportot 35 olyan, egyébként egészséges egyén képezi, akiknél leginkább bölcsességfog-eltávolítás vagy más fogeltávolítás történt csontelvétellel. Vizsgálataink során a már a klinikai paraméterek alapján hagyományos tenyésztéses eljárason alapuló kvalitatív és kvantitatív mikrobiológiai elemzéshez kiválasztott MRONJ-ban szenvedő betegből random kiválasztottunk 5 páciens mintáját, illetve 5 mintát a kontroll csoportba tartozó páciensek közül, akiknek mikrobiológiai teljes genom szekvenálását végezték el, azért, hogy összehasonlítsuk a két csoport mikrobiomjában található különbségeket.

MRONJ betegek A kutatásba bevont vizsgálni kívánt páciensek panaszosak, klinikailag Stage I., II. vagy III. stádiumba voltak sorolhatóak. Ezeknél a stádiumoknál már látható denudált csontfelszín, amiből megfelelő mintavétel lehetséges, a továbbiakban hosszútávon csak konzervatív terápia nem alkalmazható tekintettel a panaszokra, klinikai tünetekre és a folyamat előrehaladott állapotára. A csontelhalás mértéke miatt ezek a betegek mindannyian operatív ellátást igényeltek. A szájjüregben kialakult denudáció, mely állandó gyulladást tarthat fent a szervezetben, gócforrás is lehet, egyéb terápiával már nem szüntethető meg. A folyamat során minden beteg esetében fogvesztéssel is járt, mely tovább növelte a táplálkozási nehezítettséget és életminőség romlását. A betegek további besorolása magas és alacsony MRONJ rizikófaktorok alapján is megtörtént. A vizsgálatnál figyelembe vettük a beteg nemét, korát, élvezeti szerek (alkohol, dohányzás, stb) használatát, szájhigiénés állapotát. Mindezek mellett elemeztük az alkalmazott osteonekrózist okozó gyógyszer(ek) típusát, az alkalmazott terápia időtartamát, valamint a gyógyszer intravénás vagy per os alkalmazását, a terápiát indokoló alapelbetegséget és az egyéb alapelbetegségeket.

A kuratív céllal a betegek esetében a vizsgált időperiódusban mindenképpen elvégzett operatív beavatkozás során a necroticus terület eltávolításra került. A vizsgálathoz szükséges mintavétel a beteg számára nem járt egyéb, ismételt beavatkozással, fájdalommal vagy megterheléssel (fizikai és pszichés), hiszen a lokális érzéstelenítésben vagy narkózisban egyébként is mindenképpen eltávolításra kerülő necroticus csontdarabból történt a mintavétel. A műtét célja minden esetben eleve a necroticus csontdarab eltávolítása volt, a vizsgálatra küldött partikulum ebből a rezekátumból kerül mikrobiológiai elemzésre, az eltávolított csontdarab méretét nekrosis mértéke határozta meg.

Kontroll csoport A kontroll csoportba olyan, egyébként egészséges, malignus betegségben nem szenvedő, nem immunszupprimált, nem gravid, sem biszfoszfonát, sem egyéb, állcsont nekrozist okozó gyógyszeres, illetve radiológiai terápiában nem részesülő egyének kerültek, akiknél valamilyen okból fogeltávolításra került sor. A fogeltávolítás, illetve a mikrobiológiai mintavétel a betegcsoport vizsgálatával párhuzamosan, ugyanabban az időperiódusban történt. A bölcsességfogak és más fogak, vagy foggyökerek eltávolítása estén előfordult olyan beavatkozás, ahol a szükséges fogeltávolítás csontelvétellel járt. A mikrobiológiai elemzésre a csontpartikulum itt is a már amúgy is szükségszerűen műtét közben eltávolított csontdarabokból származik.

Etikai engedély

A vizsgálat tervét és a beteg beleegyező nyilatkozat és betegtájékoztató etikai jóváhagyását a Pécsi Tudományegyetem Regionális és Intézményi Tudományos és Kutatás Etikai Bizottsága engedélyezte, etikai engedély száma: 9503-2023 Pécsi Tudományegyetem (PTE)/2023. A vizsgálat kialakítása összhangban volt az adatvédelmi előírásokkal és a Helsinki Nyilatkozattal.

4.2. Mikrobiológiai mintavétel

A mikrobiológiai mintavétel mind a betegek, mind a kontroll csoport esetében műtét közben történt. A beavatkozás előtt 5 perccel intraorálisan mind a betegeket, mind a kontroll csoport tagjait dezinficiáltuk kb. 1-2 percig átmosva az érintett területet, illetve az egész szájüreget 0,2%-os chlorhexidin oldattal. Ezt követően a betegeknél steril eszközzel (csontcsípő, fűrő, stb) eltávolított necroticus csontdarabból egy, a nekrozist jól reprezentáló darabkát (kb. 2-3 mg) steril csipesszel az anaerob transzport közegbe helyeztük. A kontrollcsoport esetén az egyébként is eltávolításra került alveoláris csontdarabkákat helyeztük hasonló módon az anaerob transzport közegbe.

4.3. A minták mikrobiológiai feldolgozása

4.3.1. Hagyományos tenyésztési módszer

A laboratóriumba beérkezett csontmintákat a beérkezés után azonnal feldolgozták. Az eltávolításra kerülő necroticus csontdarabokat, illetve a kontroll csoport esetén az alveoláris csontdarabkákat steril csipesszel 1,0 ml redukált BHI (Brain Heart Infusion pH 7,2) levesbe (Oxoid, Basingstoke, UK) tették, majd Stomacher (Stomacher 80, LabSystem) készülékben homogeniálták 30 másodpercig. A kémcsőbe helyezett csontdarabkákat előzetesen megmérték, majd az eredményeket telepszám/milligramm-ra (CFU/mg) vonatkoztatva adták meg. A törzsoldatból egy hígítási sort készítettek melyet 10^{-1} - 10^{-6} hígítási fokig hígítottak. Fastidious Anaerobe Agar táptalajt (FAA), melyet kiegészítettek 5% (v/v) marhavérrel, haeminnel és K_1 vitaminnal, használtak az összes tenyészhető anaerob baktérium izolálására és csíraszámolására. A kitenyésztett baktériumokat és gombákat pontos csíraszám meghatározással megszámlálták, a különböző telepmorfológiájú törzseket species szinten identifikálták Mátrix-asszisztált lézer deszorpciós, ionizációs, repülési idő mérésén alapuló tömegspektrometriás (MALDI-TOF MS; (Bruker Daltonik, Bréma, Gr) identifikációs módszerrel.

4.3.2. PCR módszer

DNS extrakció

A teljes genomiális DNS-t az E.Z.N.A® Bakteriális DNS készlettel (D3350-00, Omega Bio-tek) extrahálták a "nehezen lizálható mikrobák" protokollt követve a gyártó ajánlása szerint 1,5 ml folyékony anaerob tenyészetből, amelyet anaerob táplevesben (FAB) tenyésztettek 5 napig 37°C-on.

PCR amplifikáció

Az amplifikáció során Xia T. and Baumgartner JC. 2003-ban leírt módszerét alkalmazták. Az *Actinomyces oris* típus törzsből (VPI 12593/CDC W1544/) izolált DNS-t és az *Enterobacter cloacae* törzs aerob tenyészetét használták *Actinomycetales*-PCR pozitív és negatív kontrollként. Az elemzés után az amplifikált PCR-termékeket -20°C-on tárolták a további feldolgozásig.

4.3.3 DNS izolálás, 16S rRNS génkönyvtár készítés és MiSeq szekvenálás

A DNS izolálást a ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research Corp., Irvine, CA, USA) segítségével végezték el. A minták DNS-koncentrációit Qubit fluoriméterrel mérték Qubit dsDNA HS Assay Kittel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). A bakteriális DNS-t a bakteriális 16S rRNS gén V3-V4 régióját lefedő, jelölt primerekkel amplifikálták. A PCR- és DNS-tisztításokat az Illumina protokollja szerint végezték. A PCR termékkönyvtárakat DNA 1000 Kit és Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Waldbronn, Gr.) segítségével értékelték. A könyvtárak ekvimoláris koncentrációit összegyűjtötték, és a next-generációs szekvenálást (NGS) MiSeq® Reagent Kit vs3-mal (600 ciklus) végezték Illumina MiSeq Systemben (Illumina, San Diego, CA, USA).

5. EREDMÉNYEK

5.1. A beteg- és a kontrollcsoport anamnesztikus adatainak statisztikai elemzése

Betegcsoport

Nem/Kor

A 35, betegcsoportba kiválasztott egyén 54%-a nő (19 beteg) a férfiak a betegcsoport 46%-át teszik ki (16 beteg). A legfiatalabb beteg a MRONJ diagnózisakor egy 40 éves nőbeteg, a legidősebb pedig egy 87 éves férfibeteg volt, vizsgálatunkban a kórkép diagnosztizálásakor az átlag median életkor 67 év (67,4).

Az antireszorptív kezelés indikációi

Antireszorptív kezelést 11 nőbeteg emlődaganat (31%), 14 férfibeteg prosztatadaganat (40%), 2 férfi és 1 női beteg vesedaganat (8,5%), tüdődaganat miatt 3 nőbeteg (8,5%), myeloma multiplex miatt 1 nőbeteg (3%), vastagbél-daganat miatt 1 nőbeteg (3%), ez 33 esetben (94%) jelent malignus eredetű alapbetegséget csontáttétellel. Két beteg esetében (6%) a kialakult állcsontnekrozis nem volt köthető rosszindulatú elváltozáshoz: Langerhans-histiocitosis miatt 1 nőbeteg (3%), oszteoporózis miatt 1 nőbeteg (3%) kapott kezelést.

Társ-, alapbetegségek

A betegcsoportban 24 (68,5%) beteg anamnézisében szerepelt magasvérnyomás, a beteg vérnyomáscsökkentő terápiában is részesült párhuzamosan. A betegcsoportban 1 obes beteg volt (BMI: ≥ 35). A DM-t, mint másik fontos alapbetegséget is vizsgáltuk az anamnesztikus adatok alapján: 11 beteg (31%) említett cukorbetegséget betegfelvételkor, a vizsgálatban a betegeknek 10 esetben a két említett kórkép együttesen fennállt, a betegcsoportban a páciensek 28,5 %-nál együtt volt a magasvérnyomás és cukorbetegség.

Élvezeti szerek:

Kutatásunk során az alkoholfogyasztást, kábítószerhasználatot és a dohányzási szokásokat vizsgáltuk. Kábítószerfogyasztásról egyik beteg sem számolt be, 35 betegből 12 beteg (34%) /8 nő (23%) és 4 férfi (11%) napi szinten aktív dohányos volt, vagy anamnézisében szerepelt a dohányzás. Rendszeres vagy alkalmi alkoholfogyasztás 6 férfibetegnél (17%) volt jellemző, 5 esetben mindkét élvezeti szert használta a beteg (2. táblázat).

Az alkalmazott terápiás szerek, az alkalmazás módja és időtartama:

A kutatásunkba biszfoszfonátokkal (ibadronsav, zoledronsav) és denosumabbal kezelt betegek kerültek be. A legtöbb beteg intravénás zoledronsavat 32 (91%) kapott, intravénás ibadronsavat 1 beteg, per os denosumabot 1 beteg és per os ibadronsavat 1 beteg kapott primeren a csontléziók diagnózisakor. A kezdeti terápia esetén a betegek döntő többsége, 33 beteg (94%) intravénás kezelést kapott, míg orális terápiában csak 2 (6%) részesült. Az anamnézis alapján 26 (74%) esetben történt a kezelések ideje alatt az állcsontnekrózist okozó gyógyszercsoporton belüli váltás: ez 24 esetben egyszeri gyógyszerváltást, míg 2 esetben háromszori gyógyszerváltást jelentett. Az intravénás zoledronsavról 8 esetben per os ibadronsavra, 18 esetben intravénás denosumab terápiára történt váltás, két esetben a per os ibadronsavra történő váltást követően ismét intravénás denosumab terápiát rendeltek el. Beteganyagunkban a terápia alkalmazása alatt legkorábban 8 hónap után jelent meg az állcsontnekrózis két beteg esetében: egy vesedaganatos férfibetegnél, illetve egy emlődaganatos nőbetegnél. A férfibetegnél primeren intravénás zoledronsav terápiát rendeltek el, sem góctalanítás, sem gyógyszerváltás nem történt a terápia megkezdése alatt. A nőbeteg esetén azonban a primeren elrendelt iv zoledronsavat két terápiás dózist követően per os ibadronsavra módosították, ezt követően később fogeltávolításra került sor, majd a nem gyógyuló, denundált csontfelszín hívta fel a figyelmünket a MRONJ-ra. A vizsgálatban a leghosszabb terápiát egy emlődaganatos nőbeteg kapta, akinél a primer intravénás ibadronsav kezelést 58 hónappal később per os ibadronsav terápiára módosították és a beteg 162 hónappal később jelentkezett osztályunkon MRONJ-ra jellemző panaszokkal. A terápia kezdete és a primer szájüregi állcsontlézió között betegeink esetében átlagosan 43 hónap telt el (median 36 hónap). Tizenhárom beteg esetében a primer malignus daganat diagnózis felállításánál került megállapításra a csontáttét is és az onkológiai kezeléssel együtt (sebészi vagy gyógyszeres kezelés) kezdődött meg a biszfoszfonát, ibadronsav vagy denosumab terápia is.

5.2. A MRONJ lokalizációja és a stádiumok szerinti besorolása a betegcsoportban

Tizenkét (34%) beteg esetében a maxilla területén alakult ki primeren állcsontnekrózis, egy esetben a mandibula és maxilla egyaránt érintett volt, beteganyagunkban döntő többségben (22 beteg, 63%) a mandibula területén igazolódott MRONJ. A betegcsoportba olyan páciensek kerültek beválasztásra, akik klasszifikáció alapján **I., II., illetve a III. stádiumba** sorolhatóak. Ezen vizsgálatunkban a nemzetközileg elfogadott klasszifikációban 3 páciens az I. stádiumba, míg a legtöbb beteget (19 páciens 54,3%) a II. stádiumba és 13 beteget a III. stádiumba soroltunk, azonban a stádiumok egyértelmű tankönyvi meghatározása ellenére is a klinikumban a betegek pontos besorolása a tünetek változatos, átfedő, egyéni megjelenése okozhat eltéréseket. A betegek ellátása szempontjából stádiumonként a terápiás javaslat az általunk is alkalmazott nemzeti guideline-ok alapján eltérő. A három, I. stádiumú betegnél konzervatív terápiát alkalmaztunk, érdemi sebészi beavatkozás nélkül, azonban a csont-mintavétel a státusz ellenőrzés során lehetséges volt. Az alapos szájhigiéne mellett szükség esetén pótlás revíziót is javasoltunk és szoros kontroll mellett ezeket a betegeket havonta ellenőrizzük.

A II. és III. stádiumú betegek esetén 5 beteg kivételével konzervatív sebészi terápiát is alkalmaztunk. Az öt beteg általános állapota (altathatósági nehézségek a várható súlyos komplikációk miatt) az előrehaladott stádium ellenére nem tette lehetővé az adekvát sebészi ellátást, náluk további konzervatív terápiát alkalmaztunk antibiotikum terápia mellett. Mintavétel esetükben lokális érzéstelenítés, aszepszis betartása mellett történt a necroticus csontból az antibiotikum terápia megkezdése előtt. Huszonhét beteg esetén történt adekvát sebészi beavatkozás, leggyakrabban a betegek műtéti ellátása patológias törés, az alveolust meghaladó csontnekrózis, állandó panaszt okozó intra-, vagy extraoralis fistula, maxilla érintettség esetén

oroantrális-, vagy oronasális fistula miatt történt. A beavatkozásoknál a „drug holiday” (biszfonát terápia időszakos felfüggesztése) jelentőségét figyelembe vettük és a biszfoszfonát és denoszumab terápiát elrendelő kezelőorvossal egyeztetettünk a szájüregi beavatkozások előtt.

A betegcsoport tagjai közül rövidebb-hosszabb (1-3 hét) hospitalizációt mindegyik beteg (100%) igényelt, a bennfekvés alatt minden betegnél adekvát intravénás antibiotikum terápiát indítottunk megfelelő dózisban és időtartamban: a leggyakrabban amoxicillin-klavulánsavat alkalmaztunk, szükség esetén metronidazollal kiegészítve, intravénás vagy esetenként per os alkalmazás formájában is, ismert penicillin gyógyszerallergia esetén clindamycint vagy erythromycint rendeltünk el (1 beteg). Elbocsátás után 25 beteg (71%) a betegség recidívája miatt otthonában további per os antibiotikum terápiában részesült.

Kontrollcsoport

Nem/Kor

A kontrollcsoportba 18 férfi (51%) és 17 nő (49%) került be, a nemek megoszlására a beválogatás során figyeltünk arra, hogy a betegcsoportéhoz hasonló legyen, így nem volt szignifikáns különbség a beteg- és a kontrollcsoport között ($p=0,632$). A kontrollcsoportba olyan esetek kerültek, ahol az anamnézisben nem szerepelt semmilyen antireszorptív vagy antiangiogén kezelés, malignus daganatos betegség és annak terápiája, oszteoporózis, fej-nyaki sugárkezelés, oszteomielitis vagy az állcsontnekrozis bármilyen egyéb formája. A beválogatási kritériumoknak megfelelően a kontrollcsoportba tartozók között gravid és a beavatkozás előtt 2 hónappal antibiotikum kezelésben részesült páciens nem volt. A kontrollcsoportba tartozó páciensek átlagéletkora 35 év (34,5 év volt a beavatkozáskor. A legfiatalabb páciens egy 17 éves fiú, míg a legidősebb egy 78 éves férfi volt. Nyilvánvalóan mivel ezek a páciensek nem a súlyos, gyakran késői korban felismert alapbetegségük miatt kerültek beválogatásra, hanem „csak” egy fogászati indikáció miatt történt fogeltávolítás, így az átlagéletkor jóval alacsonyabb volt, mint a betegcsoport esetében.

Társbetegségek

Öt (14%), a kontroll csoportba tartozó pácienszt kezeltek magas vérnyomás miatt, míg DM 8%-nál fordult elő. Szignifikáns különbséget találtunk a kontrollcsoport és a betegcsoport között a két vizsgált alapbetegség vonatkozásában: cukorbetegség $p=0,004$, míg a magasvérnyomás esetén $p < 0,001$. Ennek nyilvánvaló magyarázata az életkorbeli eltérés lehet. A kontrollcsoportban nem volt obes beteg ($BMI \leq 35$).

Élvezeti szerek:

Az anamnézisben a betegek 54%-a (19) számolt be arról, hogy korábban dohányzott, de már leszokott, vagy még aktuálisan is dohányzik, mely a betegcsoporthoz viszonyítva magasabb előfordulású. Alkohol fogyasztással kapcsolatban összesen 9 (26%) páciens számolt be rendszeres, vagy alkalmi fogyasztásról. Bár a kontrollcsoport tagjai fiatalabbak voltak, az anamnézis alapján kábítószerfogyasztásról egyik beteg sem számolt be.

A fogeltávolítások oka

A kontrollcsoportba olyan pácienseket válogattunk be, akiknél csontelvéttel járó fogeltávolítást végeztünk: 26 (74%) betegnél impaktált alsó bölcsességfog eltávolítása miatt történt a beavatkozás, ezeknél a betegeknél a fogeltávolítás nem hagyományos extrakció útján történt, hanem eltávolításukhoz sokszor lebenyképzésre, csontelvéttelre és a fog szekcionálására is szükség volt. A többi (9) esetben az eltávolítás oka góctalanítás, fogszabályozás miatti eltávolítás, protetikai indikáció volt. Az eltávolítandó csontból kb. 0,5-1 cm nagyságú csontdarab képezte a mikrobiológiai mintát.

Vizsgáltuk a **két csoport (beteg-kontroll)** és a többi releváns kategórikus változó (nem, dohányzás, egyebek) közötti összefüggést, a nemek aránya azonos volt, -ez egyébként a beválogatás egyik szempontja is volt. A kontrollcsoport alanyai fiatalabbak voltak, mivel ők egyébként egészségesek, így ez a korreláció a betegcsoport alapbetegségének jellegéből is adódik. Nincs szignifikáns különbség az alkoholt fogyasztók arányában a beteg és kontrollcsoportban, nincs szignifikáns különbség a dohányzók arányában a beteg és kontrollcsoportban, mivel az esetszám statisztikailag alacsony, így figyelembe vettük a 10%-os szintet, ahol már van, a kontrollcsoportban többen dohányoznak. Jelentős szignifikáns különbség a van a cukorbeteg arányában a beteg és kontrollcsoportban, a betegcsoportban jóval több cukorbeteg van, ugyancsak jelentős szignifikáns különbség van a magas vérnyomásban szenvedők arányában a beteg és kontrollcsoportban.

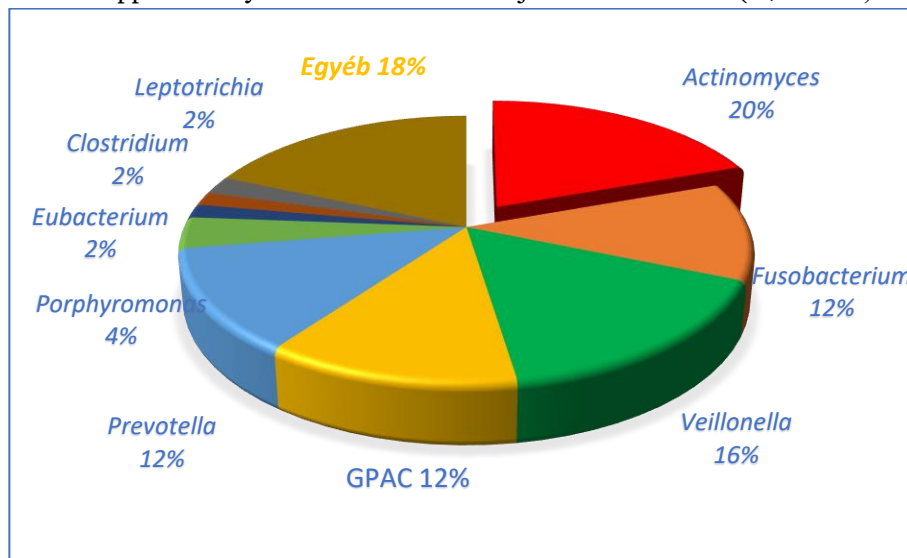
5.3. Mikrobiológiai eredmények

5.3.1. Hagyományos tenyésztési eljárás eredményei

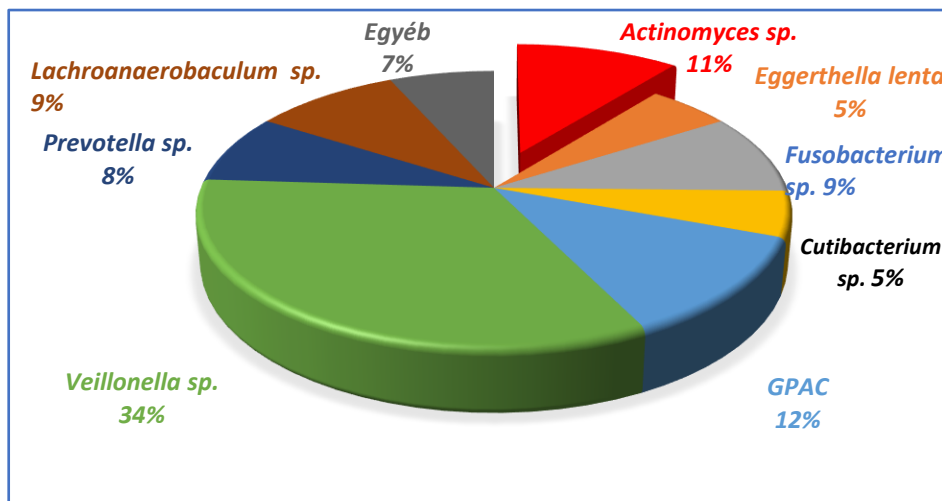
A mikrobiológiai **hagyományos aerob-anaerob tenyésztési** eljárások során a 35 betegből egy nőbeteg kivételével nagy csíraszámú vegyes aerob-anaerob komplex baktérium mikrobiótát sikerült kitenyészteni. A 66 éves nőbeteg esetében tenyésztéssel csak aerob baktériumokat tudtunk izolálni. A kitenyésztett különböző anaerob speciestípusokba tartozó törzsek aránya betegenként 0-14 között (átlag: 5,6) az aerob baktériumok esetén 0-4 között (átlag: 1,3) volt, két beteg esetében tenyésztett ki sarjadzó-, illetve penészgomba. A kontroll csoportba tartozó egészséges páciensek csontmintái esetében 11 páciensnél (31,4%) nem találtunk tenyészthető anaerob baktériumot, az izolált anaerob törzsek száma 0-6 között (átlag: 2,2) változott. Az izolált aerob baktériumok száma 0-3 között volt (átlag: 1,3), 1 mintából tenyésztett ki sarjadzó gomba.

A betegcsoport esetében 65 különböző speciestípusba tartozó 185 anaerob törzset sikerült kitenyészteni, míg a kontroll csoport mintáiból 27 speciestípusba tartozó 72 anaerob baktériumtörzset tenyésztettünk, tehát a fajgazdagság jóval szélesebb volt a betegcsoportban. A betegcsoportban 23 (65,7%) beteg esetében tudtunk egy-vagy több **Actinomyces/ALO** speciestípusba tartozó baktériumtörzset **izolálni tenyésztéssel** (kimutathatósági határ: kb. 10^4 CFU/mg), ez a kontrollcsoport esetében 6 páciens: 17,1% volt, ami igen jelentősen szignifikáns különbség a két csoport között ($p < 0,001$). A huszonhárom MRONJ beteg közül kilenc esetben egyféle, 13 esetben kétféle, egy beteg mintájából három különböző **Actinomyces/ALO** speciestípusba tartozó törzs is tenyésztett (összesen 36 törzs, az izolált törzsek 20%-a), a kitenyésztett törzsek csíraszámuk 10^5 - 10^9 CFU/mg között változott. A kontrollcsoportba tartozó hat, tenyésztéssel pozitív esetben négy esetben egy, két esetben két különböző **Actinomyces/ALO** speciestípusba tartozó törzs tenyésztett. A kitenyésztett törzsek csíraszámuk 10^4 - 10^5 CFU/mg között változott. A betegcsoportban az anaerob tenyésztés során actinomycesek mellett leggyakrabban a *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Veillonella* spp. és GPAC fajok törzsei voltak a leggyakrabban izolált fajok magas csíraszámúban. A kontrollcsoport mintáihoz képest a *Fusobacterium* spp. (22 vs. 7; $p = 0,001$), a *Prevotella* spp.

(22 vs. 6; $p=0,034$) és a GPAC (30 vs. 9; $p=0,016$) fajok törzseinek izolálása szignifikánsan gyakoribb volt az MRONJ betegmintái között; azonban nem volt szignifikáns különbség a *Veillonella* spp. (30 vs. 25; $p > 0,05$) izolálási arányában a két csoport között. Mind a MRONJ-beteg, mind a kontrollcsoportban a leggyakoribb aerob baktériumok az α -hemolizáló, orális streptococcusok voltak (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. mitis*, *S. oralis* és *S. sanguis*); meglepő módon mindkét csoportban az *Enterobacterales* rendbe tartozó Gram-negatív baktériumok (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp. és *Morganella morganii*), valamint az *Acinetobacter* spp. is a tenyésztéssel kimutatott fajok közé tartoztak (2., 3. ábra).



2. ábra: A betegcsoportból izolált 65 különböző speciesbe tartozó 185 anaerob törzs %-os megoszlása



3. ábra: a kontroll csoport mintáiból 27 speciesbe tartozó 72 anaerob baktériumtörzs megoszlása

Az összes izolált Gram-pozitív anaerob pálcák/coccobacillus törzs száma a betegcsoportban 54 volt, míg a kontrollcsoportban 25, még jelentősebb különbség mutatkozott az izolált Gram-negatív anaerob pálcák számarányában a betegcsoport és a kontrollok esetében: 71 törzs vs. 15 törzs. Igen jelentős volt a különbség az izolálási arányban a Gram pozitív anaerob coccusok (GPAC) között: betegcsoport 30 törzs, kontrollcsoport 9 törzs, azonban nem volt ilyen jelentős a különbség az izolált Gram-negatív anaerob coccusok száma között: 30 vs. 25 törzs.

5.3.2. PCR vizsgálatok eredményei

A PCR vizsgálatok/tenyésztési eredmények során egyezés volt a **betegcsoportban** abban az esetben, amikor a betegek mintáiból nagy csíraszámban ($\geq 10^5$ CFU/mg) tenyésztett ki az *Actinomyces*/ALO törzs. A MRONJ betegcsoport mintáiból hagyományos, 12 napig tartó tenyésztéssel 23 betegből tudtunk *Actinomyces* törzse(ke)t izolálni, ebből kilenc betegmintából egyféle törzs, 13 betegminta esetében kétféle speciesbe tartozó törzs, egy beteg mintájából pedig három, különböző *Actinomyces* speciesbe tartozó törzs is tenyésztett 10^4 - 10^9 CFU/mg csíraszámban. Ezen minták mindegyike (23 minta) pozitív volt az univerzális *Actinomyces* primereket alkalmazó, species-specifikus PCR módszerrel. A tenyésztéssel negatív (*Actinomyces* törzs nem tenyésztett 12 nap inkubálás után) 12 betegmintából 5 beteg mintája negatív volt a PCR kimutatás során is, kétes negatív volt 1 minta (+), így összesen 6 beteg mintája (17,5%) bizonyult mind a tenyésztéssel, mind a PCR módszerrel *Actinomyces* negatívnak. Három beteg mintája (8,5%) esetén a PCR módszer + pozitív volt (10^2 - 10^3 CFU/mg), másik három betegminta (8,5%) esetén erősen pozitív volt, ami magas csíraszámoknak felel meg (10^4 - 10^6 CFU/mg), tenyésztéssel azonban a baktériumot nem tudtuk kimutatni a betegek 17%-ban. 29 beteg mintája volt az *Actinomyces*-specifikus 16SrRNS PCR detektálási módszerrel pozitív (82,9%), nem találtunk olyan mintát, amelyből *Actinomyces* törzs tenyésztett, de a PCR negatív volt. A stádiumok besorolása szerint az I.-es stádiumba tartozó 3 beteg esetén tenyésztéssel egyiknél sem igazolódott az *Actinomyces* jelenléte (0%), míg a PCR-el egy bizonyult negatívnak, a másik kettő pozitív volt (66%). A II.-es stádiumba tartozó 19 beteg mintáiból 14 esetben (73,7%) igazoltuk az *Actinomyces* jelenlétét tenyésztéssel, míg PCR-el plusz 1 betegnél tudtuk kimutatni az *Actinomyces* törzs jelenlétét (15 beteg, 79%). A III. stádiumba 13 beteg tartozott, közülük tenyésztéssel 9 beteg mintája volt pozitív (69,2%), míg a PCR módszerrel plusz 3 esetben (összesen 12 beteg: 92,3%) tudtuk kimutatni *Actinomyces* törzs jelenlétét.

A **kontroll-csoportba** tartozó hat (17,1%), tenyésztéssel *Actinomyces* pozitív minta esetében négy esetben egy, két esetben két különböző *Actinomyces* sp.-be tartozó törzs tenyésztett, a törzsek csíraszama 10^4 - 10^5 CFU/mg között változott, ezek mindegyike a PCR módszerrel is pozitív volt. A 29 (82,9%) tenyésztéssel negatív mintából PCR módszerrel az *Actinomyces* genus jelenlétét 7 esetben (24,1%) tudtuk kimutatni, így az összes kontroll páciens mintái esetén a kimutatási arány 37,1% volt. (4. táblázat) A PCR-pozitivitás különbsége szignifikáns volt a MRONJ minták és a kontroll minták között (82,9% vs. 37,1%; $p < 0,001$).

5.3.3. Szekvencia analízis eredményei

Vizsgálatunk részeként a hagyományos tenyésztés eredményeinek megismerése előtt véletlenszerűen kiválasztottunk 5-5 betegmintát (a kontrolloktól K1-K5-el, a MRONJ betegektől a T1-T5-el jelölve). Ezekből 16S rRNS gén szekvenálást végezték el a minták mikrobiomja közötti lehetséges különbségeket analizálva. A 16S rRNS PCR termékek átlagos mérete 654 bp volt. Sem a DNS izolálás, sem a 16S rRNS PCR nem eredményezett mérhető mennyiségű DNS-t a minták egyidejűleg feldolgozott transzportpuffereiből, mint a negatív kontrollokból. Összesen 2,88 millió érvényes szekvenciát kaptunk, ami 2,1 millió jó minőségű leolvasást eredményezett; a leolvasások mediánszáma egy mintán belül 212 000 volt.

A bakteriális 16S rRNS gén szekvenálás eredményei során a csontmintáknak megfelelő Chao1 alfa diverzitási eredmények összehasonlításakor a kontroll és a MRONJ betegek között nem találtunk szignifikáns különbséget ($p > 0,05$). Továbbá a Bray–Curtis PCoA béta diverzitási eredményeinek összehasonlítása során a kontroll és a MRONJ minták között nem figyeltünk meg

szignifikáns különbséget ($p>0,05$). Az 5 beteg és 5 kontroll esetében a szekvenálásra küldött mintákat „random”, még a tenyésztési eredmények ismerete előtt válogattuk ki, egyszerre küldtük el a vizsgálatra. A kontrollok esetében jóval kevesebb baktériumfaj volt jelen a csontmintákban, mint a MRONJ-ban szenvedő betegek között. A kontrollminták közül a *Streptococcus* sp. (K2 és K5 mintákban) és a *Veillonella* sp. (K1, K3 és K4) dominanciáját figyeltük meg, míg a baktériumok abundanciája lényegesen heterogénebb volt az MRONJ csontmintákban. A T5 minta kivételével, ahol az *Actinomyces* dominanciája volt megfigyelhető a csontmikrobiomban (relatív abundancia: 38,5%), a K (0–0,19%) és a T1–T4 (0,05–0,46%) minták között nem figyeltünk meg jelentős különbséget az *Actinomyces* relatív abundanciájával összefüggésben. A T5 minta egy III. stádiumú MRONJ-ban szenvedő beteg mintája volt, aki a prosztata carcinoma és a kapcsolódó csontmetasztázisok miatt hosszú távú antireszorptív kezelést kapott. Megjegyzendő, hogy a K1–K3 és a K5 olyan minták voltak, amelyek negatívak voltak az *Actinomyces*/ALO-kra mind a hagyományos tenyésztés, mind a PCR-alapú vizsgálatok esetében; ezzel szemben a T1, T2 és T5 minták mindkét módszerrel pozitívak voltak (2. táblázat).

Sorszám	<i>Actinomyces</i> tenyésztés	<i>Actinomyces</i> PCR	Szekvencia analízis <i>Actinomyces</i> %
K1	Negatív	-	0,05
K2	Negatív	-	0,0
K3	Negatív	-	0,19
K4	<i>Actinomyces oris</i> 10^5 CFU/g	+	0,05
K5	Negatív	-	0,01
B1	<i>Schalia odontolytica</i> 10^6 CFU/g	++	0,05
B2	<i>Actinomyces naeslundii</i> 10^6 CFU/g	++	0,2
B3	Negatív	++++	0,46
B4	Negatív	++	0,06
B5	<i>Schalia odontolytica</i> <i>Actinomyces oris</i>	++++	38,5

2. táblázat: A random kiválasztott 5-5 beteg és kontroll minták tenyésztésének, *Actinomyces*-specifikus PCR módszerrel történő kimutatásának és a génszekvenciaanalízis összehasonlítása

6. A BETEGEK UTÁNKÖVETÉSE: tapasztalatok, eredmények

6. 1. Nyomonkövetés, kontroll

A betegcsoportban az első kontroll a sebészi beavatkozást követően általában a 10. napon történt a varratszedés időpontjában, majd 1-2-3 hónap és fél éves intervallumban határoztuk meg a további kontroll időpontokat a panaszok függvényében. Több betegünk is, aki részt vett a vizsgálatban elérte már az 1 éves kontroll időtartamot is. Természetesen akut panaszok esetén mihamarabbi megjelenést javasoltunk a betegnek. A kontrollok alkalmával szükség esetén képalkotó vizsgálatot is végeztünk, ami OP, CBCT és konvencionális CT vizsgálatot, valamint SPECT CT vizsgálatot is jelent. 27 beteg esetén a sebészi terápiát követően 3 hónappal később 4 beteg (15%), míg a féléves kontroll alkalmával 6 beteg (22%) esetén volt látható recidíva. A recidívák 7 esetben (70%) maxilla 3 esetben (30%) maxilla területén alakultak ki. A recidívák 9 esetben (33%) denudált csontfelszín jelentettek legtöbbször fistula és/vagy pus ürüléssel társulva, ahol ismételt sebészi terápiát indikáltunk hospitalizáció és antibiotikum terápia mellett. Három (30%) esetben a korábbi ablakrezekció helyett partialis mandibularezekciót alkalmaztunk rekonstrukciós lemezes osteosynthesissel, egy esetben (10%) pedig a korábban felhelyezett rekonstrukciós lemezt a denudált csontfelszín és extraoralis fistula miatt eltávolítottuk. Két

esetben (20%) a mandibula területén ismételt alveolus korrekciót végeztünk, megfelelő antibiotikus terápia mellett. Egy esetben (10%) denudált csontfelszín nem volt látható, azonban submandibularis duzzanat alakult ki. Képalkotó diagnosztikával csontlézió nem igazolódott, azonban az abszcessus kiterjedése miatt narkózisban incisiót végeztünk és 3x1,2 intravénás amoxicillin+klavulánsav terápiát indítottunk az 1 hét hospitalizáció alatt. A maxilla területén 1 esetben (10%) a premolaris régióban a korábbi kontrollokhoz képest egy első premolaris és a szemfog mobillá vált, itt extrakciót végeztünk megfelelő antibiotikus védelemben és a posztexttrakciós területet PRF-el fedtük és suturával zártuk. További 1 esetben (10%) a maxilla területén szintén további alveolus korrekciót végeztünk PRF-et használva és suturával zártuk a területet. A maradék 1 (10%) a maxillát érintő recidíva esetében parciais maxillectomiát és Luc-Caldwell műtétet végeztünk. A kontrollok során több alkalommal említettek a betegek 0. stádiumra jellemző bizonytalan eredetű panaszokat, ezekben az esetekben képalkotó vizsgálatot indikáltunk, valamint per os antibiotikum terápiát indítottunk.

A vizsgálat kezdetéhez képest eltelt 1 évben 6 beteg (17%) exitált az alapbetegsége miatt. Legkorábban egy MRONJ 3. stádiumú nőbeteg, akit emlődaganat miatt gondoztak, 2 hónappal Klinikánkon történt első megjelenése után halt meg. Az általános állapota miatt, a lézió kiterjedése ellenére is a konzervatív terápiát választottuk. Az elhunyt betegek közül 1 beteg (17%) MRONJ 1. stádiumú, 2 beteg (33%) 2. stádiumú és 3 beteg (50%) 3. stádiumú volt, 3 beteg (50%) emlődaganat, 3 beteg (50%) pedig prosztatata daganat miatt kapott onkológiai kezelést. Az elhunytak közül 2 esetben (33%) alkalmaztunk primeren konzervatív terápiát, 4 esetben (67%) történt a MRONJ miatt sebészi terápia. A kontrollok alkalmával a betegek a megfelelő szájhigiéné fenntartásához szükséges oktatást megkapták.

7. MEGBESZÉLÉS

A biszfoszfonátok és más antireszorptív szerek alkalmazása során kialakuló állkapocsnekrózis (MRONJ), amely az állkapocs csontszövetének elhalásával jár, komoly, súlyos mellékhatása ezeknek a gyógyszereknek, ma már világszerte egyre több beteget érint. Az állapot összetett etiológiája és korlátozott terápiás lehetőségei miatt a klinikai ellátásban komoly kihívást jelent a kezelőorvos számára. Alapvető a betegség kialakulását elősegítő patofiziológiai és beteggel kapcsolatos tényezők alapos ismerete. A közelmúltban több tanulmány is foglalkozott az orális mikrobiom és a MRONJ közötti kapcsolat feltárásával és bár a modern genomi szekvenálási módszerek rengeteg új adatot szolgáltatottak a MRONJ léziók mikrobiális összetételéről; az egyes fajok szerepe a betegség kialakulásának folyamatában azonban továbbra is kérdéses. A MRONJ fő kockázati tényezői a fogeltávolítás, a sebészeti beavatkozások és a nagy dózisú biszfoszfonátok, azonban a szájüregi mikrobiom változása jelentős szerepet játszik a betegség progressziójában. Az orális mikrobiomnak, mindenképpen szerepe van a MRONJ kialakulásában és lefolyásában, ugyanis a MRONJ kialakulásának kockázatát jelentősen növeli a szájüregi fertőzések és gyulladások jelenléte. Az orális mikrobiom és a MRONJ kialakulása közötti kapcsolat több mechanizmuson keresztül valósul meg. Az orális mikrobiom egyensúlyának megbomlása a „védő” mikroorganizmusok fajgazdaságának, számának csökkenése, dysbiosisa, azaz az egészséges mikrobiális egyensúly megbomlása a patogén baktériumok elszaporodásához vezethet, amelyek gyulladást okoznak és hozzájárulhatnak a csontelhaláshoz. Az orális mikrobiom részt vesz a gazdaszervezet immunválaszának szabályozásában, így, ha a biszfoszfonátok hatására csökken az immunrendszer aktivitása, az

orális mikrobiom patogén tagjai könnyebben kolonizálhatják a szöveteket, ezzel hozzájárulva a MRONJ kialakulásához. Az immunszuppresszió és a csökkent véráramlás szintén fontos tényezők a csontelhalás szempontjából. A patogén orális baktériumok által termelt metabolitok, pld. egyes enzimek, így a proteázok, emellett a lipopoliszacharidok (LPS) lebontják a csontszövetet, stimulálják az osteoclastokat, amelyek csontreszorpciót okoznak, így hozzájárulhatnak a csontszövet károsodásához és a gyulladásos válasz fokozásához. Ez a folyamat különösen káros a biszfoszfonátokat kapó betegek esetében, mivel ezek a gyógyszerek az osteoclastok aktivitásának gátlására szolgálnak, az eredmény egy paradox helyzet, ahol a csont reszorpciója mégis fokozódik a mikrobiális hatások miatt. Az orális patogének gyulladásos mediátorokat is termelnek, pld. a citokinek és kemokinek, amelyek elősegítik a gyulladásos válasz kialakulását a szájüregben és az állkapocs csontszövetében. A patogén baktériumok toxinokat is termelhetnek, amelyek közvetlenül indukálják a sejtek apoptózisát, különösen az osteoblastokét és osteocytákét, ez az állkapocs csontszövetének elhalásához vezethet, ami a MRONJ egyik fő jellemzője. A gyulladásos mediátorok és a mikrobiális toxinok a vérerek károsodásához és a mikrocirkuláció csökkenéséhez vezethetnek a maxillában és a mandibulában. Ez a csökkent vérkeringés rontja a szövetek oxigén- és tápanyagellátását, ami egyrészt hozzájárul más, patogén anaerob baktériumok elszaporodásához, illetve hozzájárul a csontszövet elhalásához is.

A biszfoszfonátok és más antireszorptív szerek használata csökkentheti a gazdaszervezet immunválaszának hatékonyságát, a meggyengült immunválasz, csökkent védekezőképesség miatt a szervezet kevésbé képes küzdeni a fertőzésekkel szemben, ami még inkább megnöveli a MRONJ kialakulásának kockázatát. A mikrobiom tagjai biofilmet képezhetnek az állkapocs csontjain és a fogak felszínén, mely védelmet nyújt a baktériumok számára az antibiotikumokkal és az immunrendszerrel szemben, így a fertőzések krónikussá válhatnak és hozzájárulhatnak a csontelhalás fenntartásához. Ezek a biofilmbe rendeződött mikrobaközösségek élő- és élettelen felületekhez egyaránt kitapadnak, különbségeket mutatnak a szaporodási ütemben és a génexpresszióban a planktonikus, lebegő állapotukhoz képest. A biofilmek lehetővé teszik a mikroorganizmusok számára, hogy kapcsolatot létesítsenek egymással, a gazdaszervezettel, ellenálljanak a külső körülményeknek, az antibiotikumoknak és más környezeti kihívásoknak azáltal, hogy védőgátat képeznek maguk körül.

A kórképpel kapcsolatos demográfiai tényezők, beleértve az életkort és a nemet a kutatások alapján 50 és 70 év közötti egyéneknél fordul elő, enyhe túlsúlyban női betegeknél (Sedghizadeh PP. *et al.* 2013; AlRowis R. *et al.* 2022) Saját vizsgálataink is ugyanezt az eredményt erősítik meg, ahol a **betegek átlagéletkora 67 év volt**, a kisebb esetszám miatt mi **női predominanciát nem tapasztaltunk**. Ugyanezen közlemények és Ewald, F. és munkacsoportja által 2021-ben publikált tanulmány szerint a mandibulát gyakrabban érinti a MRONJ, mint a maxillát, melyet a **mi eredményeink is alátámasztottak**: 12 beteg (34,3%) esetében volt a maxilla-, 22 beteg (62,85%) esetében a mandibula-, egy beteg esetében mindkettő érintett volt (Ewald F. *et al.* 2021). Ezek a kutatások is azt sugallják, hogy a MRONJ többtényezős etiológiával rendelkezik, amelyben a mind a gyógyszer típusa, mind az adagolás módja, a beteg demográfiai jellemzői és a szájüreg lokális érintettsége, a mikrobiom változása egyaránt szerepet játszanak a betegség kialakulásában és progressziójában, amely **multifaktoriális etiológiát a saját kutatásaink is alátámasztanak**. A MRONJ kialakulásának legkockázatosabb időszaka az alkalmazott terápia 2. és 3. éve közé tehető, a jelen vizsgálatban is a terápia kezdete és a primer szájüregi állcsontlézió között **betegeink esetében átlagosan 43 hónap telt el** (median 36 hónap). A MRONJ előfordulása összefüggést mutat az antireszorpciós gyógyszer dózisával, az alkalmazás időtartamával és annak típusával: az i.v. terápia időtartama befolyásolja leginkább a MRONJ kialakulását, a **saját vizsgálatunk során is ez volt jellemző**: a terápiájuk kezdetén a betegek

94%-a intravénás kezelést kapott, míg orális terápiában csak 2 beteg részesült, 26 (74%) esetben történt a kezelések ideje alatt az állcsontnekrózist okozó gyógyszercsoporton belüli váltás. Az irodalmi adatok alapján az indikáció, azaz, hogy a beteg malignus daganat vagy osteoporosis esetleg osteopenia, vagy egyéb más miatt kapja az elrendelt terápiát szintén befolyásolja a MRONJ kialakulását, **ezt igazolja a beteganyagunk is**, ahol a betegeink 94%-ának volt malignus eredetű alapbetegsége csontáttéttel. Jelentős szignifikáns különbséget találtunk a cukorbetegség arányában a beteg és kontrollcsoportban, a betegcsoportban jóval több cukorbeteg volt, ugyanacsak jelentős szignifikáns különbség volt a magas vérnyomásban szenvedők arányában a beteg és kontrollcsoportban.

Az egyes kutatások alapján az *Actinomyces* nemzetségbe tartozó baktériumtörzsek szerepe kiemelt, jelentős lehet a MRONJ kialakulásában és lefolyásában. Az orális mikrobiom és a MRONJ közötti kölcsönhatásról számos kutatócsoport végzett tanulmányokat. Marx RE. és munkatársai 2005-ben jelentettek meg közleményt a biszfoszfonátok és az MRONJ kialakulásának kapcsolatáról. Az általuk bemutatott 119 beteg comorbiditás, a klinikai csontexpozíció és a tünetek átlagos indukciós ideje között eltelt időtartam hasonló megoszlású volt az általunk megállapítottakkal. (Marx RE. *et al.* 2005) Rassmueller G. *et al.* (2006) azt is megállapították, hogy a MRONJ nagyon gyakran kapcsolódik az *Actinomyces* fajok jelenlétéhez: Ausztriában 111, 65 év feletti beteg necroticus csontmintájának szövettani értékelése alapján az *Actinomyces* spp. 111 betéből 99-nél (89%) volt látható a szövettani metszetekben. Bródy A. 2022-ben PhD disszertációjában 39 beteg mintáit vizsgálva csak 2-ben (5,13%) mutattak ki tenyésztéssel *Actinomyces* törzset és ez a két minta a szövettani kiértékelés során is pozitív lett. A 39 vizsgált mintából 2 minta volt negatív mind a mikrobiológiai, mind a hisztológiai vizsgálat alapján, a mikrobiológiai eredményeik összehasonlítása a háromféle festéssel végzett újbóli kiértékelésükkel magas specificitást és nagyon alacsony szenzitivitást eredményezett. Az általuk végzett rutin mikrobiológiai vizsgálat negatív prediktív értéke 0,054 volt. A két *Actinomyces* pozitív mintából még *Fusobacterium* sp., *Prevotella* sp., *Eikenella* sp. és *Enterobacterales* spp. is tenyészttek, a többi 35, csak szövettanilag pozitív mintából a mikrobiológiai tenyésztési eredmények is hasonló összetételt mutattak a társbaktériumok szempontjából. A MRONJ miatt műtött betegek esetében a megfelelő szövettani eljárások alkalmazásával (PAS, Gram és Grocott festés) a minták több, mint 94%-ában az *Actinomyces* jelenléte kimutatható volt (Bródy A. 2022). Hansen T. és munkatársai 2006-tól vizsgálatokat végeztek annak kiderítésére, hogy alábecsülték-e az *Actinomyces* spp. törzseinek szerepét a MRONJ -ban: 31 betegnél, akik mindegyike az MRONJ klinikai és radiológiai tüneteit mutatta, szövettani vizsgálatot végeztek az *Actinomyces* spp. jelenlétének kimutatására, emellett PCR módszert alkalmaztak az *Actinomyces*-specifikus 16S riboszomális RNS gén kimutatására. A 31 beteg közül 20-nál (61,5%) találtak szövettanilag típusos *Actinomyces* morfológiát és a PCR megerősítette az *A. israelii* törzsek jelenlétét. Ezek az eredmények megerősítik jelen vizsgálataink eredményét, ahol **mi a betegcsoportban 62,9%-ban** tudtuk kimutatni az actinomycesek jelenlétét hagyományos tenyésztéses módszerrel. Érdekes módon *Actinomyces* törzseket szinte kizárólag a necroticus csonthoz tapadva találtak. A szerzők azt találták, hogy ezek az organizmusok részt vesznek a krónikus, nem gyógyuló gyulladásos folyamatokban és az MRONJ-re jellemző gennyes váladékozásban. Otto S. és munkacsoportja kritikai áttekintést végzett 2010-ben, azzal a céllal, hogy összegyűjtse a legmegbízhatóbb bizonyítékokat a lokális fertőzés és a MRONJ patogenezise közötti kapcsolatáról (Otto S. *et al.* 2010). A következő megállapításokat tették: a MRONJ kórfolyamata általában a fertőzött területek, vagy a megfelelő megelőző intézkedések hiányában végzett a dentoalveoláris műtétek fertőzött területeinek közelében kezdődik. A MRONJ betegek vizsgált szövetmintáinak a baktériumfajok általi fokozott kolonizációja, mint kiváltó esemény a lokális fertőzéssel való

valószínű kapcsolatra helyezi a hangsúlyt. A MRONJ ismert kockázati tényezői, mint például a rossz szájhigiéncia, dohányzás, szteroid bevitel, immunszuppresszió és diabetes mellitus, hozzájárultak a fertőzések magasabb kockázatához a vizsgált beteganyagban, mely következtetés **megegyezett az általunk tapasztaltakkal**. Ibrahim és munkatársai 2022-től az állkapcsok actinomycosisát vizsgálták az alapbetegségekre tekintettel: kimutatták, hogy az állkapocs actinomycosisával diagnosztizált összesen 45 betegből 43 (93,5%) szenvedett MRONJ-ben (58,7%) vagy IORN-ben (35,6%), három beteg (6,7%) nem részesült daganatellenes kezelésben. Az *Actinomyces* szövettani jelenléte és a csontdestrukció mértéke között minden esetben közvetlen kapcsolatot találtak. Specifikus PCR-t is végeztek, a módszerrel elemzett hét esetből hétben *A. israelii*-t mutattak ki. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az állkapcsok actinomycosisa szövődmény az MRONJ-ban vagy IORN-ben szenvedő betegeknél (Ibrahim N. *et al.* 2022).

Saját vizsgálataink is megerősítik azt a több tanulmányban is megállapított tényt, hogy a *Streptococcus* nemzetség orális mikrobiomban élő tagjai és az anaerob copatogének közül a fusobacteriumok az actinomycesekkel leggyakrabban társult organizmusok, és együttélve a biofilmben szinergikusan hatnak. Ezt támasztják alá azok a vizsgálatok, amelyek bemutatják, hogy a *F. nucleatum* által okozott fertőzések az egerek extrakciós üregeiben nagy dózisú BP-kezelést követően a sebek gyógyulásának késleltetését eredményezik, ami a csontok expozíciójához vezet.

Hasonlóan a saját vizsgálatainkhoz a tipikusan megtalálható baktérium nemzetségek közé tartoznak az *Actinomyces*, a *Fusobacterium* és a *Streptococcus* nemzetségek tagjai. Az egészséges szájüreg és a szisztémás csontállapotok közötti kapcsolat feltárása során a Novince és munkatársai vizsgálatai a szájüreg egyedi anatómiai, fiziológiai jellegzetességeire összpontosítottak: a különálló vérellátásra és speciális csontszerkezetre (Novince CM. *et al.* 2009). A modern, metagenomikus kutatások új eredményeket tártak fel a MRONJ mikrobiótában, ami a megváltozott mikrobiális diverzitás és a betegség progressziója közötti szoros kapcsolatra utal. Az újonnan megjelenő kutatások a mikrobiális kolonizáció szerepét bizonyítják, amely mind bakteriális, mind gombás eredetű lehet és az *Actinomyces* magas prevalenciája kritikus tényező a MRONJ kialakulásában. (Ezzel ellentétben a csontrendszer más régióinál a MRONJ incidenciája jelentősen alacsonyabb, ami felhívja a figyelmet az állcsontok egyedülálló érzékenységre (Boff RC. *et al.* 2019). Sedghizadeh PP. és munkatársai a multi-species mikrobiális biofilm elméletet igazolta az érintett csonton olyan betegeknél, akiknél az állkapocs oszteonekrózisában szenvedtek a biszfoszfónát terápia következtében. Négy aktív MRONJ-s beteg csontmintáin található biofilmet hagyományos hisztopatológiai módszerekkel és pásztázó elektronmikroszkóppal vizsgálták. A vizsgálatok során minden beteg csontmintái különböző baktérium törzseket és kisebb arányban gombákat tartalmazó biofilmeket képeztek, extracelluláris polimer mátrixba ágyazva. A biofilmekben a bakteriális morfortípusok száma **hasonlóan az általunk talált** eredményekkel 2 és 15 között változott és a *Fusobacterium*, *Bacillus*, *Actinomyces*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Selenomonas* és *Treponema* nemzetségből származó fajokat tartalmazott. Ko-aggregációt figyeltek meg a különböző fajok között a biofilmekben belül, ezért arra a következtetésre jutottak, hogy eredményeik a mikrobiális biofilmek kulcsszerepére utalhatnak a MRONJ betegségfolyamatában (Sedghizadeh, PP. *et al.* 2008). Cerrato és munkatársai 2021-ben egy retrospektív tanulmányt közöltek, melyben beszámoltak az *Actinomyces* prevalenciáról az antireszorptív és antiangiogén terápiát kapó MRONJ esetek között. 114 beteg adatait dolgozták fel, ebből 101 onkológiai betegnél igazolták a MRONJ-t, 83 mintában mutatták ki *Actinomyces* fertőzés jelenlétét szövettanilag (82,18%), amely a mi saját adatainkkal is megegyezett.

A kutatások kiemelik az orális mikrobiom és a MRONJ elváltozások közötti kétirányú kapcsolatot: a *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* és más szacharolitikus aktivitású törzsek anoxiás, savas mikrokörnyezetet hoznák létre, amit a fogászati fertőzések, az invazív eljárások és a BP hatása tovább fokozza (Kim HY. *et al.* 2024). A betegség patofiziológiájának másik jelentős összetevője a Gram-negatív baktériumok jelenléte, ezek jelentős hatással vannak a kórképre azáltal, hogy elősegítik az oszteoklasztok differenciálódását és aktivitását, ezenkívül a vérnyomáscsökkentő kezelés a baktériumok megnövekedett adhéziójához vezethet a csontfelületekhez, ami megváltoztathatja a helyi mikrobiomot, és olyan környezetet teremthet, amely elősegíti az oszteonekrózist. A MRONJ-ban szenvedő betegek mikrobiomjának részletes genomális analízise alapján a kapott bakteriális profilok egyértelmű jelentős különbségeket mutatnak a tipikus állcsontfertőzések, például fogszuvasodás és fogágybetegség esetén megfigyeltekhez képest (Kos M. and Luczak K. 2009, Allen MR. and Burr DB. 2009). A MRONJ léziók jóval több mikrobiális morfortípust mutatnak, sokkal diverzebbek, mint a nem biszfoszfonáttal összefüggő osteomyelitis (Mawardi H. *et al.* 2011).

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen kutatási eredményeink megerősítik azt a hipotézist, hogy a MRONJ etiológiája többtényezős, ahol a szájüregi mikrobiom igen jelentős szerepet játszik, de nem kizárólag oki, más tényezőkkel (immunválaszok és a BP-kezelés) is kölcsönhatásba lép, ami a MRONJ kialakulását eredményezi. Vizsgáltuk a MRONJ klinikai kockázati tényezőit, bemutattuk a kezelési lehetőségeket. Míg az ok-okozati patofiziológiai mechanizmusok ismeretlenek, a legújabb tanulmányok szignifikáns összefüggést találtak a mikrobiális kolonizáció és a MRONJ progressziója között. Ezzel egyetértésben saját beteganyagunkban is sikerült olyan kockázati tényezőket azonosítani, mint a traumák: foghúzás, a dentoalveoláris műtét (lásd három, külön ismertetett beteg), a DM, a dohányzás és alkohol fogyasztás, a magas vérnyomás-terápia és a betegek specifikus demográfiai adatai, amelyek hozzájárulnak a betegségre való hajlam jobb megértéséhez. A jelenleg alkalmazott kezelési stratégiák konzervatív és sebészeti módszereket foglalnak magukba és függenek a betegség stádiumától, egyre nagyobb hangsúlyt fektetve a mikrobiális dinamika és a dysbiosis megértésére a kezelés érdekében. A kutatásoknak a BP-k, az orális mikrobiota és az immunválasz közötti kölcsönhatás tisztázására kell összpontosítaniuk, hogy olyan célzott terápiákat dolgozzanak ki, amelyek a MRONJ-kialakulása kockázatának csökkentését és a prognosztika javulását eredményezik. szefoglalva, az orális mikrobiom egyensúlyának fenntartása kulcsfontosságú lehet a MRONJ megelőzésében és kezelésében.

Kutatásunk során célul tűztük ki, hogy a PTE ÁOK beteganyagában a terápiát kapó, gyógyszer okozta állcsontelhalásban szenvedő betegek anamnesztikus- és állapotfelmérő adatait: a betegcsoport átlagéletkorát, nemét, alapbetegségeit, predisponáló tényezőiket, a kapott terápiát, ennek alkalmazási módját, időtartamát elemezve összehasonlítsuk a nemzetközi adatokkal. Vizsgálataink során a kutatásba bevont 35 MRONJ beteg esetében a betegek átlagéletkora 67 év volt, ami hasonló volt a szakirodalmi adatokhoz, a kisebb esetszám miatt mi női predominanciát nem tapasztaltunk. A tanulmányok szerint a mandibulát gyakrabban érinti a MRONJ, mint a maxillát, melyet a mi eredményeink is alátámasztottak: 12 beteg (34,3%) esetében volt a maxilla, 2 beteg (62,85%) esetében a mandibula-, egy beteg esetében mindkettő érintett volt. Legkockázatosabb időszak a MRONJ kialakulása szempontjából az alkalmazott terápia 2.-3. éve közé tehető, saját adataink is ezt támasztották alá: a terápia kezdete és a primer szájüregi állcsontlézió között betegeink esetében átlagosan 43 hónap telt el. A MRONJ kialakulása, súlyosbodása, stádiumai összefüggést mutatnak az antireszorpciós gyógyszer dóziséval, az alkalmazás időtartamával és típusával: vizsgálatunk során is ez volt jellemző, a terápiájuk

kezdetén a betegek 94%-a intravénás kezelést kapott, míg orális terápiában csak 2 beteg részesült, míg 26 (74%) beteg esetében történt a kezelések ideje alatt az állcsontnekrozist okozó gyógyszer csoporton belüli váltás. Befolyásolja a MRONJ kialakulását az indikáció is, a beteg malignus daganat vagy osteoporosis esetleg osteopenia, vagy egyéb más miatt kapja a terápiát, ezt igazolja a beteganyagunk is, ahol a betegeink 94%-ának volt malignus eredetű alapbetegsége csonttáttétellel.

A betegek esetében a műtétrel eltávolított csontdarabokból kimutatható anaerob baktériumok, ezek közül is az *Actinomyces* fajok jelenlétét mind hagyományos, mind molekuláris diagnosztikai módszerrel igazoltuk. 12 napig tartó anaerob atmoszférában történő tenyésztéssel a betegek 65,7%-ában sikerült *Actinomyces* speciesbe tartozó baktériumtörzset izolálni, míg a tenyésztéssel és PCR-el a betegcsoport 82,9%-ában volt detektálható *Actinomyces*.

A MRONJ beteganyagban a kontrollcsoporthoz képest a szignifikánsan nagyobb arányban fordultak elő az egyes *Actinomyces* fajok, illetve ezek a fajok leggyakrabban az orális streptococcusokkal, a fusobacteriumokkal a veillonellákkal, prevotellákkal és a GPAC fajokkal fordultak elő együttesen. A kontrollcsoportban főként a streptococcusok a veillonellák a lactobacillusok fordultak elő. Vizsgáltuk, hogy van-e összefüggés a betegek klinikai státusza, a betegség rizikótényezői és a csont-biofilmből kimutatott mikrobiota összetétele között és úgy találtuk, hogy a betegség klinikai stádium szerinti besorolása és az *Actinomyces* törzsek kimutatása között jelentős egyezés mutatkozott, ahogy a stádiumok besorolása a betegség előrehaladásával és súlyosságával vátozott, úgy tudtuk egyre nagyobb arányban kimutatni az *Actinomyces* jelenlétét. Az I.-es stádiumba tartozó 3 beteg esetén tenyésztéssel egyiknél sem igazolódott az *Actinomyces* jelenléte (0%), míg a PCR-vel csak egy bizonyult negatívnak. A II.-es stádiumba tartozó 19 beteg mintáiból 14 esetben (73,7%) igazoltuk az *Actinomyces* jelenlétét tenyésztéssel, míg PCR-el plusz 1 betegnél tudtuk kimutatni az actinomycest (15 beteg, összesen 79%). A III. stádiumba 13 beteg tartozott, közülük tenyésztéssel 9 beteg mintája volt pozitív (69,2%), míg a PCR módszerrel plusz 3 esetben (összesen 12 beteg: 92,3%) tudtuk kimutatni az actinomycest. A betegcsoportban 24 beteg (68,5%) szenved magasvérnyomásban és hypertónia ellenes terápiát kap, ezen betegek mindegyikéből detektáltuk a actinomycest. Tizenegy beteg (31%) szenvedett DM-ben a felvételtkor, ezen betegek csontmintáiból minden esetben ki tudtuk mutatni tenyésztéssel is a különböző *Actinomyces* törzseket. A vizsgálatban a betegeknél 10 (28,5 %) esetben ez a két kórkép együttesen is fennállt, ezeknél a betegeknél is minden esetben tenyésztettek actinomycest.

A betegek hosszútávú (1 hónap, 3 hónap, 6 hónap, egyes betegek esetben már 1 év) nyomonkövetése során a kezelt betegek posztoperatív, konzervatív terápiáját követően megfigyeltük a kórkép lefolyását és az esetleges recidívák előfordulásának gyakoriságát. A sebészi terápiát követően 3 hónappal később 4 beteg (15%), a fél éves kontroll alkalmával 6 beteg (22%) esetén volt recidíva, melyek 7 betegnél madibula 3 betegnél a maxilla területén alakultak ki. Kilenc beteg esetben denudált csontfelszínt találtunk legtöbbször fistula képződéssel és/vagy pus ürüléssel társulva, ezeknél a betegeknél ismételt sebészi és antibiotikum terápiát indikáltunk. Egy beteg esetében submandibularis duzzanat alakult ki, de denudált csontfelszín nem volt látható. Képkalkotóval csontlézió nem igazolódott, azonban az abscessus kiterjedése miatt incisiót végeztünk és antibiotikum terápiát kapott a beteg. Egy másik betegnél a maxilla területén további alveolus korrekciót végeztünk PRF-et használva és suturával zártuk a területet, egy betegnél pedig a maxillát érintő recidíva miatt parialis maxillectomiát és Luc-Caldwell műtétet végeztünk. A kontrollok során a betegek több alkalommal említettek a 0. stádiumra jellemző nem-specifikus panaszokat. A vizsgálat óta eltelt 1 évben 6 beteg sajnos exitált az alapbetegsége miatt.

Az *Actinomyces* jelenléte és a MRONJ közötti összefüggésekkel kapcsolatos kutatások és emellett jelen vizsgálataink is rámutatnak arra, hogy az actinomycesek nagyobb arányban vannak jelen a MRONJ-ban szenvedő betegek érintett csontjaiban. Véleményünk szerint mindenképpen jelentős szerepük lehet a betegség kialakulásában, súlyosbodásában, progressziójában. Az *Actinomyces* törzsek fontos korai tagjai az orális biofilmnek, az ebből a kolonizációból kialakuló fertőzések krónikus gyulladást okoznak, amely hozzájárul az állkapocs csontszövetének elhalásához. Az *Actinomyces* fertőzések korai felismerése rendkívül fontos a MRONJ hatékony kezelése és megelőzése miatt. A jelenlegi terápiás megközelítések betegség-stádium-specifikusak, szükség lenne hatékonyabb kezelési stratégiákra. A MRONJ megelőzése és kezelése érdekében fontos az orális mikrobiom egészségének fenntartása és a szájhigiéne javítása.

9. ÚJ MEGFIGYELÉSEK

Jelen tanulmányunk az *Actinomyces* spp. szerepét kívánta igazolni a MRONJ kialakulásában és progressziójában. Vizsgáltuk az *Actinomyces* jelenlétét MRONJ-betegektől vett csontmintákban, klinikai és mikrobiológiai kontextusban, egészséges kontroll alanyokkal összehasonlítva, hagyományos tenyésztéses-alapú és molekuláris biológiai módszerekkel. Tudomásunk szerint Magyarországon ez az első hasonló, ilyen átfogó, MRONJ betegeknek megfelelő mikrobiológiai vizsgálat.

Vizsgálatunk részeként a **betegek** – a MRONJ kialakulásával összefüggő – **anamnesztikus adatait** is ismertettük:

A korcsoport megfelelt annak az életkornak, amikor az állapotot leggyakrabban észlelik, enyhe női dominanciáról is beszámoltak korábban, ami esetünkben nem igazolódtott be, bár ez a vizsgálat mintanagyságával magyarázható. A betegek túlnyomó többségét (94,0%) rosszindulatú daganatok érintették és a legtöbb betegnek valamilyen krónikus alapbetegsége is volt. Az életmódbeli tényezők nem különböztek lényegesen a MRONJ betegek és a kontroll alanyok között. Az MRONJ gyakrabban érinti az alsó állcsontot, ami szintén megegyezik tapasztalatainkkal. Az antireszorptív kezelés megkezdésétől eltelt medián idő és a MRONJ diagnóza között eltelt idő átlagosan 36 hónap volt, ami összhangban van a külföldi adatokkal, kiemeltük, hogy a tünetek leggyakrabban terápia második-harmadik évében jelentkeztek.

Vizsgálatunk számos **mikrobiológiai módszerrel** kimutatta, hogy az *Actinomyces* spp. gyakrabban fordul elő az antireszorptív gyógyszert kapó betegek nekrotikus csontszövetében, mint a nem érintett kontroll mintáiban, ami azt jelzi, hogy szerepet játszhatnak a MRONJ klinikai lefolyásában és prognózisában.

A kutatásba bevont populációban (35 MRONJ beteg és 35 egészséges kontroll) a csontminták hagyományos tenyésztéses módszerrel, anaerob atmoszférában legalább 12 napig végzett tenyésztése az *Actinomyces*/ALO-k esetében 65,8% vs. 17,1%, míg a PCR-alapú kimutatási arány 83,9% vs. 37,1% volt és MRONJ vs. kontroll mintából. A PCR alkalmazásával a baktérium jelenlétének kimutatását a MRONJ minták esetében további 25,9%-kal, a kontroll minták esetében 216,9%-kal növeltük, összehasonlítva a tenyésztésen alapuló módszerek egyedüli alkalmazásával.

Igazoltuk azt, hogy a **betegség stádiumának** is jelentős hatása volt, mivel az *Actinomyces*/ALO-k kimutatási aránya nőtt a MRONJ előrehaladottabb stádiumaiban.

Az *Actinomyces*/ALO-kat az orális **streptococcusokkal és *Fusobacterium* spp.**-vel együtt izoláltuk leggyakrabban, igazolva ezen mikroorganizmusok közötti szinergikus kölcsönhatásokat az orális biofilmben.

A modern metagenomikai kutatások olyan új eredményeket tártak fel a MRONJ mikrobiommal kapcsolatban, amelyek szoros összefüggésre utalnak a megváltozott mikrobiális diverzitás és a betegség progressziója között. Ezek alapján vizsgálatainkat kiegészítettük a 16S rRNS gén szekvenálásával a random kiválasztott csontmintákhoz. Bár ebben az összefüggésben eredményeink csak keresztmetszetek – és nem reprezentálják a teljes populációt –, fontos betekintést nyújtanak a MRONJ és az egészséges csontszövetek mikrobiomjába. Bár nem azonosítottak szignifikáns különbséget (az alfa és béta diverzitás mérései alapján), a reprezentált taxonok számában mutatkozó kontraszt egyértelműen azt mutatja, hogy a **MRONJ csontminták magasabb mikrobiális diverzitást mutattak taxonjaikban**, mint a kontrollok csontmintái. Tanulmányunk alátámasztja a mikrobiális kolonizáció és az *Actinomyces* magas prevalenciájának, mint a MRONJ kialakulásának kritikus tényezőjének szerepét.

Jelenlegi vizsgálatunk eredményei, a betegek kezelés utáni nyomonkövetésének klinikai tapasztalatai is azt mutatják, hogy a szájüregi mikrobiomban bekövetkezett változások – amelyek közül az *Actinomyces* és a rokon fajok a legjelentősebbek – kulcsszerepet játszanak az MRONJ kialakulásában, amelyek kétségtelenül kölcsönhatásban vannak más, additív tényezőkkel. Ezen az eredményeink megerősítik a MRONJ kialakulásának „fertőzési hipotézisét”, amely szerint a PP-kezelésnek köszönhetően az *Actinomyces* szövetekben történő megtelepedése következtében fellépő fertőzések krónikus gyulladásokhoz vezetnek, amely osteomyelitishez, majd az állkapocs csontszövetének elhalásához vezet.

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel és örök hálával tartozom **Zsoldiné Professzor Dr. Urbán Editnek**, aki kitartó és alázatos munkájával, segítőkész hozzáállásával, megkérdőjelezhetetlen szakmai tudásával és örök optimizmusával végig kísért ezen a hosszú úton. Sosem múló jókedve és energikussága mindig új lendületet ad a közös munkának.

Sosem múló hálával és köszönettel tartozom a **családomnak!** A **férjemnek** a türelméért, megingathatatlan szeretetért és kitartásáért, aki mindig elhitte, hogy előbb utóbb úgyis sikerül! A **szüleimnek**, akik gyerekkorom óta feltétel nélkül szeretnek és mellettem állnak, sosem hagynak cserben és mindig ott vannak nekem!

Köszönettel tartozom **Dr. Polgár Beátának** a PTE-KK- Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet adjunktusának, aki klinikai munkájával és előremutató gondolataival segítette a dolgozat megvalósítását. Továbbá köszönettel tartozom a **PTE-KK- Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet laborasszisztenseinek**, különös tekintettel **Csordás Eszeternek**, aki mindig örömmel fogadott és segített. Külön köszönet illeti **Prof. Dr. Szabó Dórát**, a SE-Orvosi Mikrobiológiai Intézetvezetőjét, aki a vizsgálatok elvégzéséhez kiemelt szakmai háttérrel biztosított. Szeretném megköszönni **Dr. Gajdács Máriónak**, a SZTE- Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszék adjunktusának a folyamatos támogatást, segítséget és motivációt, amit az értekezés elkészítése során nyújtott. Munkája, figyelmessége és mindig készséges hozzáállása nélkül sokkal nehezebb lett volna a folyamat! Végül, de nem utolsó sorban nagyon nagy köszönet illeti a PTE-KKMaxillofaciális Részleg összes dolgozóját, ahol minden kollégám valamilyen formában része lett ennek a dolgozatnak. Köszönöm a türelmüket és segítőkészségüket és támogatásukat! Továbbá köszönöm a PTE-KK- Fogászati és Szájsebészeti Klinika összes azon dolgozójának, akik biztattak és bátorítottak. Külön köszönet illeti azokat a barátaimat, akik kitartanak mellettem és őszintén velem örülnek

11. IRODALOMJEGYZÉK

- Allen MR, and Burr DB: The Pathogenesis of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: So Many Hypotheses, So Few Data. *J Oral Maxillofac Surg* 2009. 67 (Suppl. 5): 61–70.
- AlRowis R, Aldawood A, AlOtaibi M, Alnasser E, AlSaif I, Aljaber A. *et al*: Medication-Related Osteonekrózis of the Jaw (MRONJ): A Review of Pathophysiology, Risk Factors, Preventive Measures and Treatment Strategies. *Saudi Dent J* 2022. 34: 202–210.
- Amigues C, Fresse A, Roux CH, Gauthier S, Vieillard MH, Drici MD, *et al*: Zoledronate and steonecrosis of the jaw in osteoporosis: incidence and risk factors. Analysis of the French Pharmacovigilance Database. *Joint Bone Spine* 2023. 90(6):105599.
- Aspenberg P: Osteonecrosis of the Jaw: What Do Bisphosphonates Do? *Expert Opin Drug Saf* 2006. 5: 743-745.
- Bagan JA, Peydró J, Calvo M, Leopoldo Y, Jiménez L, Bagan L: Medication-related osteonecrosis of the jaw associated with bisphosphonates and denosumab in osteoporosis. *Oral Dis* 2016. 22(4): 24-329.
- Baker JL, Mark Welch JL, Kauffman KM, McLean JS, He X: The oral microbiome: diversity, biogeography and human health. *Nat Rev Microbiol* 2024. 22(2):89-104.
- Baron R, Ferrari S, Russell RG: Denosumab and bisphosphonates: different mechanisms of action and effects. *Bone* 2011. 1;48(4):677-692.
- Bi Y, Gao Y, Ehrichtiou D, Cao C, Kikuri T, Le A. *et al*: Bisphosphonates Cause Osteonecrosis of the Jaw-Like Disease in Mice. *Am J Pathol* 2010. 177: 280-290.
- Boff RC, Salum FG, Figueiredo MA, Cherubini K: Important Aspects Regarding the Role of Microorganisms in Bisphosphonate-Related Osteonecrosis s of the Jaws. *Arch Oral Biol* 2014. 59: 790-799.
- Bródy A: A gyógyszer okozta állcsont elhalás és a cemento-osseous diszplázia vizsgálata új szempontok alapján. PhD értekezés SE, 2023. DOI:10.14753/SE.2023.2790
- Bonacina R, Mariani U, Villa F, Villa A: Preventive strategies and clinical implications for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A review of 282 patients. *J Can Dent Assoc* 2011.77:b147.
- Boyanova L, Kolarov R, Mateva L, Markovska L, Mitov I: Actinomycosis: A Frequently Forgotten Disease. *Future Microbiol* 2015. (10)4:613-628.
- Brook I: Actinomycosis: Diagnosis And Management. *S Med J* 2008: 101(10):1019-1023.
- Campisi G, Mauceri R, Bertoldo F, Bettini G, Biasotto M, Colella G. *et al*: Medication-related osteonekrózis of jaws (MRONJ) prevention and diagnosis: Italian consensus update 2020. *Int J Environ Res Public Health* 2020. 17(16):E5998.
- Cerrato A, Zanette G, Boccuto M, Angelini A, Valente M, Bacci C: *Actinomyces* and MRONJ: A retrospective study and a literature review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2021. 122(5):499-504.
- Chang J, Hakam AE, McCauley LK: Current Understanding of the Pathophysiology of Osteonecrosis of the Jaw. *Curr Osteoporos Rep* 2018. 16:584-595.
- Clarke JM, Hurwitz HI: Ziv-aflibercept: binding to more than VEGF-A-does more matter? *Nat Rev Clin Oncol* 2013. 10(1):10-11.
- Coleman RE, McCloskey EV: Bisphosphonates in oncology. *Bone* 2011. 49(1):71-76.
- D'Amore F, Franchini R, Moneghini L, Lombardi N, Lodi G, Sardella A. *et al*: Actinomycosis of the Tongue: A Case Report and Review of Literature Antibiotics 2020. 9:124.
- Doran A, Kneist S, Verran J: Ecological control: *In Vitro* inhibition of anaerobic bacteria by oral streptococci. *Microb Ecol Health Dis* 2004. 16:23-27.

- Drake MT, Clarke BL, Khosla S: Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 2008. 83(9):1032-1045.
- Eastell R, Walsh JS, Watts NB, Siris E: Bisphosphonates for postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2011. 49(1):82-88.
- Ewald F, Wuesthoff F, Koehnke R, Friedrich RE, Gosau M, Smeets R. *et al*: Retrospective Analysis of Bacterial Colonization of Necrotic Bone and Antibiotic Resistance in 98 Patients with Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ). *Clin Oral Investig* 2021. 25:2801-2809.
- Faiman B, Pillai AL, Benghiac AG: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: historical, ethical, and legal issues associated with prescribing. *J Adv Pract Oncol* 2013. 4(1):25-35.
- Fedele S, Porter SR, D'Aiuto F, Aljohani S, Vescovi P, Manfredi M. *et al*: Nonexposed variant of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a case series. *Am J Med* 2010. 113(11):1060-1064.
- Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F: Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell* 2018. 9(5):488-500.
- Guarneri V, Miles D, Robert N, Diéras V, Glaspy J, Smith I, *et al*: Bevacizumab and osteonecrosis of the jaw: incidence and association with bisphosphonate therapy in three large prospective trials in advanced breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010.122(1):181-188.
- Hajeri S, Alturkistany Y: Medication-related osteonecrosis of the jaw after dental clearance: Prevalence in an oncology center. *Saudi Dent J* 2022. 34(6):479-484.
- Hansen T, Kunkel MD, Kirkpatrick CJ, Weber A: *Actinomyces* in infected osteoradionecrosis—Underestimated? *Hum Pathol* 2006. 37: 61-67.
- Hoefert S, Eufinger H: Sunitinib may raise the risk of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: presentation of three cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010. 110:463-469.
- Ibrahim N, Apandi NIM, Shuhardi SA, Ramli R: *Actinomyces* sp. Presence in the Bone Specimens of Patients with Osteonecrosis of the Jaw: The Histopathological Analysis and Clinical Implication. *Antibiotics* 2022. 11:1067.
- Jabbour Z, do Nascimento C, El-Hakim M, Henderson JE, de Albuquerque Junior RF: Bacterial Profile and Bone Healing in Rats Receiving Cancer Therapeutic Doses of Bisphosphonates and Corticosteroids: A Pilot Study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2016. 45: 1162-1169.
- Jakab L: Csontszövet: Újdonképződés és inflammatio. [Bone tissue: rebuilding and inflammation]. *Orv Hetil* 2014. 5;155(40):1575-1583.
- Jelin-Uhlig S, Weigel M, Ott B, Imirzalioglu C, Howaldt H-P, Böttger S, Hain T: Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw and Oral Microbiome: Clinical Risk Factors, Pathophysiology and Treatment Options. *International Journal of Molecular Sciences* 2024. 25(15):8053.
- Jordan HV, Kelly DM, Heeley JD: Enhancement of experimental actinomycosis in mice by *Eikenella corrodens*. *Infection and Immunity* 1984. 46(2):367-371.
- Kalyan S, Wang J, Quabius ES, Huck J, Wiltfang J, Baines JF. *et al*: Systemic Immunity Shapes the Oral Microbiome and Susceptibility to Bisphosphonate-Associated Osteonecrosis of the Jaw. *J Transl Med* 2015. 13:212.
- Kammerhofer G, Somogyi KS, Biczó Z, Végh D, Ujpál M, Vaszilkó MT. *et al*: A gyógyszer okozta állcsontnekrozis és a vércukorszint kapcsolata. *Orv Hetil* 2022. 163:599-605.
- Khan AA, Morrison A, Hanley DA, Felsenberg D, McCauley LK, O'Ryan F. *et al*: Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. *J Bone Miner Res* 2015. 30(1):3-23.

- Kim HY, Jung YS, Park W, Choi YJ, Kim JY: Can Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw Be Attributed to Specific Microorganisms through Oral Microbiota Analyses? A Preliminary Study. BMC Oral Health 2024. 24:160.
- Kos M. and Luczak K: Bisphosphonates Promote Jaw Osteonecrosis through Facilitating Bacterial Colonisation. Biosci. Hypotheses 2009. 2:34-36.
- Kos M: Incidence and risk predictors for osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. Arch Med Sci 2015. 25;11(2):319-324.
- Könönen E: Anaerobic Cocci and Anaerobic Gram-Positive Nonsporulating Bacilli. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 2-Volume Set, 9th Edition, 2020 ISBN Number: 9780323482554 Elsevier
- Könönen E; Wade WG: *Actinomyces* and Related Organisms in Human Infections. Clin. Microbiol Rev 2015. 28: 419-442.
- Kunchur R, Goss AN: The oral health status of patients on oral bisphosphonates for osteoporosis. Aust Dent J 2008. 53(4) 354-357.
- Kün-Darbois JD, Fauvel F: Medication-related Osteonecrosis and Osteoradinecrosis of the jaws: Update and current management. Morphologie 2021. 105(349):170-187.
- Limones A, Sáez-Alcaide LM, Díaz-Parreño SA, Helm A, Bornstein MM, Molinero-Mourelle P: Medication-related Osteonecrosis of the jaws (MRONJ) in cancer patients treated with denosumab vs. zoledronic acid: A systematic review and meta-analysis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2020. 1;25(3):e326-e336.
- Lodi G, Sardella A, Salis A, Demarosi F, Tarozzi M, Carrassi A: Tooth extraction in patients taking intravenous bisphosphonates: a preventive protocol and case series. J Oral Maxillofac Surg 2010. 68(1):107-110.
- Lončar Brzak B, Vučićević Boras V, Kotarac Knežević A, Sušić M, Seiwert S, Gabrić D: Idiopathic Exposed Bone Lesions of the Jaw. Dent J (Basel). 2019. 7(2):55.
- Lončar Brzak B, Horvat Aleksijević L, Vindiš E, Kordić I, Granić M, Vidović Juras D. *et al*: Osteonecrosis of the Jaw. Dent J (Basel). 2023 9:11(1):23.
- Malan J, Ettinger K, Naumann E, Beirne OR: The relationship of denosumab pharmacology and osteonecrosis of the jaws. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2012.114(6):671-6.
- Manzano-Moreno FJ, Illescas-Montes R, Melguizo-Rodriguez L, Costela-Ruiz VJ, García-Martínez O, Ruiz C. *et al*: Impact of bisphosphonates on the proliferation and gene expression of human fibroblasts. Int J Med Sci 2019. 21;16(12):1534-1540.
- Marx RE: Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg 2003. 61(9):1115-1117.
- Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis /osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. J Oral Maxillofac Surg 2005 Nov;63(11):1567-75.
- Mawardi H, Giro G, Kajiya M, Ohta K, Almazrooa S, Alshwaimi E. *et al*: A Role of Oral Bacteria in Bisphosphonate-Induced Osteonecrosis of the Jaw. J Dent Res 2011. 90: 1339-1345.
- Mawardi H, Enzinger P, McCleary N, Manon R, Villa A, Treister N, *et al*: Osteonecrosis of the jaw associated with zivafibercept. J Gastrointest Oncol 2016. 7(6):E81-E87. *Erratum in*: J Gastrointest Oncol 2017. 8(1):E31.
- Migliorati CA, Casiglia J, Epstein J, Jacobsen PL, Siegel MA, Woo S.-B: Managing the Care of Patients with BisphosphonateAssociated Osteonecrosis: An American Academy of Oral Medicine Position Paper. J Am Dent Assoc 2005. 136:1658-1668.
- Morita Y, Kashiwagi T, Takayama S, Nishimoto A, Imai T, Uzawa N: Is Bevacizumab a Direct Cause of Osteonecrosis of the Jaw like Bisphosphonate? AJBSR MS 2020. 9(1):71-72.

- Nicolatou-Galitis O, Papadopoulou E, Vardas E, Kouri M, Galiti D, Galitis E, *et al*: Alveolar bone histological necrosis observed prior to extractions in patients, who received bone-targeting agents. *Oral Dis* 2020. 26: 955-966.
- Novince CM, Ward BB, McCauley LK: Osteonecrosis of the Jaw: An Update and Review of Recommendations. *Cells Tissues Organs* 2009. 189:275-283.
- Oike A, Iwata S, Hirayama A, Ono Y, Nagasato Y, Kawabata Y, *et al*: Bisphosphonate affects the behavioral responses to HCl by disrupting farnesyl diphosphate synthase in mouse taste bud and tongue epithelial cells. *Sci Rep* 2022. 12:21246.
- Otto S, Hafner S, Mast G, Tischer T, Volkmer E, Schieker M. *et al*: Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: Is pH the Missing Part in the Pathogenesis Puzzle? *J Oral Maxillofac Surg* 2010. 68: 1158-1161.
- Owosho AA, Blanchard A, Levi L, Kadempour A, Rosenberg H, Yom SK, *et al*: Osteonecrosis of the jaw in patients treated with denosumab for metastatic tumors to the bone: A series of thirteen patients. *J Craniomaxillofac Surg* 2016. 44(3):265-270.
- Panya S, Fliefel R, Probst F, Tröltzsch M, Ehrenfeld M, Schubert S, *et al*: Role of microbiological culture and polymerase chain reaction (PCR) of *Actinomyces* in medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ). *J Craniomaxillofac Surg* 2017. 45: 357-363.
- Ramírez L, López-Pintor RM, Casañas E, Arriba L, Hernández G: New Non-Bisphosphonate Drugs that Produce Osteonecrosis of the Jaws. *Oral Health Prev Dent* 2015. 13:385-393.
- Reid IR, Hosking DJ: Bisphosphonates in Paget's disease. *Bone*. 2011. 49(1):89-94.
- Roato I, Mauceri R, Notaro V, Genova T, Fusco V, Mussano F: Immune Dysfunction in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Int J Mol Sci* 2023. 24:7948.
- Ruggiero SL, Dodson TB, Fantasia J, Goodday R, Aghaloo T, Mehrotra B, O'Ryan F: American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on medication-related osteonecrosis of the jaw-2014 update. *J Oral Maxillofac Surg* 2014. 72(10):1938-1956. Erratum in: *J Oral Maxillofac Surg* 2015. 73(7):1440. Erratum in: *J Oral Maxillofac Surg* 2015. 73(9):1879.
- Ruggiero SL, Dodson TB, Aghaloo T, Carlson ER, Ward BB, Kademani D: American Association of Oralcrosis of the Jaws-2022 Update. *J Oral Maxillofac Surg* 2022. 80(5):920-943.
- Russell RGG, Watts NB, Ebetino FH, Rogers MJ: Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int* 2008.19(6):733-759.
- Russmueller G, Seemann R, Weiss K, Stadler V, Speiss M, Perisanidis C. *et al*. The association of medication-related osteonecrosis of the jaw with *Actinomyces* spp. infection. *Sci Rep* 2016. 6: e31604.
- Sánchez López JD, Rodríguez Ruiz JA, Miguel PPT: Jaw Osteonecrosis related to cabozantinib. *Med Clin (Barc)*. 2021. 25;156(12):627-628.
- Sasaki, M.; Matsuura, T.; Katafuchi, M.; Tokutomi, K.; Sato, H. Higher Contents of Mineral and Collagen but Lower of Hydroxylysine of Collagen in Mandibular Bone Compared with Those of Humeral and Femoral Bones in Human. *J Hard Tissue Biol* 2010. 19:175-180.
- Sedghizadeh PP, Kumar SKS, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW: Identification of Microbial Biofilms in Osteonecrosis of the Jaws Secondary to Bisphosphonate Therapy. *J Oral Maxillofac Surg* 2008. 66: 767–775.
- Sedghizadeh, PP, Kumar SKS, Gorur A, Schaudinn C, Shuler CF, Costerton JW: Microbial Biofilms in Osteomyelitis of the Jaw and Osteonecrosis of the Jaw Secondary to Bisphosphonate Therapy. *J Am Dent Assoc* 2009. 140:1259-1265.

- Sedghizadeh PP, Jones AC, LaVallee C, Jelliffe RW, Le AD, Lee, P. *et al*: Population Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modeling for Assessing Risk of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013. 115:224-232.
- Sharma D, Hamlet SM, Petcu E Ivanovski E: The effect of bisphosphonates on the endothelial differentiation of mesenchymal stem cells. 2016. *Sci Rep* 6:20580.
- Smith R, Russell RG, Woods CG: Myositis ossificans progressiva. Clinical features of eight patients and their response to treatment. *J Bone Joint Surg* 1976. 58-B:48-57.
- Soares AL, Simon S, Gebrim LH, Nazário ACP, Lazaretti-Castro M: Prevalence and risk factors of medication-related osteonecrosis of the jaw in osteoporotic and breast cancer patients: A cross-sectional study. *Support Care Cancer* 2020. 28: 2265-2271.
- Soós B, Vajta L, Szalma J: Sunitinib and zoledronic acid induced osteonekrózis of the jaw. *Orv Hetil* 2015. 156:1865-1870.
- Street J, Bao M, de Guzman L, Bunting S, Peale FV, Ferrara N. *et al*: Vascular Endothelial Growth Factor Stimulates Bone Repair by Promoting Angiogenesis and Bone Turnover. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002. 99: 9656-9661.
- Studer G, Bredell M, Studer S, Huber G, Glanzmann C: Risk profile for osteoradionecrosis of the mandible in the IMRT era. *Strahlenther Onkol* 2016. 192(1):32-39.
- Taylor KH, Middlefell LS, Mizen KD: Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2010. 48(3):221-223.
- Tetradis S, Allen MR, Ruggiero SL: Pathophysiology of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-A Minireview. *JBMR Plus* 2023. 7: e10785.
- Tofé VI, Bagán L, Bagán JV: Osteonecrosis of the jaws associated with denosumab: Study of clinical and radiographic characteristics in a series of clinl cases. *J Clin Exp Dent* 2020. 1;12(7):e676-e681.
- Vereb T, Janovszky Á, Mucsi M, Piffkó J, Seres L: Aktualitások a gyógyszer okozta állcsontelhalás primer és szekunder prevenciójának stratégiájában az evidenciák és a nemzetközi ajánlások tükrében. *Orv Hetil* 2020. 161:214-223.
- Vincenzi B, Santini D, Dicuonzo G, Battistoni F, Gavasci M, La Cesa A. *et al*: Zoledronic Acid-Related Angiogenesis Modifications and Survival in Advanced Breast Cancer Patients. *J. Interferon Cytokine Res* 2005. Mar;25(3):144-151.
- Wei X, Pushalkar S, Estilo C, Wong C, Farooki A, Fornier M. *et al*.: Molecular Profiling of Oral Microbiota in Jawbone Samples of Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Oral Dis* 2012. 18:602-612.
- Xia T, Baumgartner JC: Occurrence of *Actinomyces* in infections of endodontic origin. *J Endod* 2003. 29(9):549-952.
- Zhao K, Li W, Kang C, Du L, Huang T, Zhang X. *et al*: Phylogenomics and Evolutionary Dynamics of the Family *Actinomycetaceae*. *Genome Biol Evol* 2014. 6:2625-2633.

PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

A dolgozathoz kapcsolódó „*in extenso*” közlemények:

1. **Kövé** Z, Bán Á, Gajdács M, Polgár B, Urbán E: Role of *Actinomyces* spp. and related organisms in the development of medication-related osteonekrózis of the jaw (MRONJ): Clinical evidence based on a case series. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2023 Dec 1;13(4):125-134. doi: 10.1556/1886.2023.00041. PMID: 38038751; PMCID: PMC10755666.

Impakt faktor 3,3 (2023) Q2

2. **Kövé** Zs, Johansen Nordskog V, Bán Á, Gajdács M, Urbán E: The role of *Actinomyces* spp. and related organisms in cervicofacial infections: Pathomechanism, diagnosis and therapeutic aspects. Anaerobe. 2023 Aug;82:102767. doi: 10.1016/j.anaerobe.2023.102767. Epub 2023 Jul 22. PMID: 37482285.

Impakt faktor 2,5 (2023) Q2

3. **Kövé** Zs, Gajdács M, Polgár B, Szabó D, Urbán E: The microbiological background of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw (MRONJ): Clinical evidence based on traditional culture and molecular biological detection methods. Antibiotics (Basel) 2025. 15;14(2):203. doi: 10.3390/antibiotics14020203.

Impakt faktor 4,3 (2023) Q1

A dolgozathoz kapcsolódó idézhető absztraktok:

Kövé Z, Polgár B, Urbán E: Examination of medical-related osteonekrózis of the jaws related microbiota of patients. 27th Congress of the European Association for Cranio Maxillo Facial Surgery EACMFS 16-20.th September 2024 Rome, ePoster, abstract.

Kövé Z, Polgár B, Szabó D., Urbán E: Microbiological background of medical-related osteonecrosis of the jaw bones. ESCMID Global, 2025, 11-15. April, Vienna, Austria