

Mikrobiális eredetű szájüregi nyálkahártya elváltozások  
sztomato-onkológiai jelentősége és megelőzésük  
szempontjai

Doktori tézisek

**Dr. Mensch Károly Frigyes**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezetők: Dr. Dobó Nagy Csaba, Ph.D., egyetemi tanár,  
Dr. Nagy Gábor†, Ph.D., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Károlyházy Katalin, Ph.D., egyetemi adjunktus,  
Dr. Kiss István, DSc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Rozgonyi Ferenc, DSc., egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Kispélyi Barbara, Ph.D., egyetemi docens  
Dr. Varga István, Ph.D., egyetemi docens

Budapest

2019

## 1.Bevezetés

Az emberi szájüregben vírusok, baktériumok, archeák, gombák és protozoonok milliárdjai élnek együtt, ezt a társulást orális mikrobiomnak nevezzük. Ebben az egyedi ökoszisztémában előforduló mikroorganizmusok túlnyomó részt ártalmatlanok, némelyik kifejezetten hasznos és fontos az emberi szervezet szempontjából. Ugyanakkor bizonyos kórokozók a szájüregi kemény és lágy szövetek megbetegedését okozhatják. A leggyakoribb szájüregi mikrobiális eredetű megbetegedés a fogszuvasodás, illetve a fogágybetegség, melyek népbetegségnek tekinthetők. Ezen kívül előfordulhatnak lágyrész fertőzések, gyulladások, bizonyos kórokozók pedig szájüregi benignus vagy malignus daganatok kialakulásában is szerepet játszanak. Ezen kórokozók tanulmányozása, az általuk okozott megbetegedések megelőzése és kezelése kiemelkedően fontos, hiszen a szájüregi daganatok száma világszerte és Magyarországon is emelkedő tendenciát mutat; hazánk Európában incidencia és mortalitás tekintetében első helyen áll, a világstatisztika alapján pedig incidencia tekintetében a harmadik, mortalitás tekintetében a negyedik 2018-ban. A szájüregi daganatok etiológiájukat tekintve multikauzálisak, vannak klasszikus, primer etiológiai tényezők, úgymint a dohányzás, a mértéktelen alkoholfogyasztás, illetve kokarcinogén tényezők, melyek csupán fokozott kockázatot jelentenek szájüregi daganatok kialakulására. A különböző kampányoknak köszönhetően a dohányosok száma világszerte csökkenő tendenciát mutat, a szájüregi daganatok száma viszont

stagnál, vagy kismértékben emelkedik. Ennek a diszkrepanciának a háttérében egyéb etiológiai faktorok játszhatnak szerepet, mint például a mikrobiológiai ágensek karcinogén hatása.

A humán papillomavírus (HPV) fertőzés a világon a leggyakoribb szexuális úton terjedő infekció, évente mintegy hatmillió új esetet regisztrálnak világszerte. A vírus transzmissziójához szükséges mechanikai kontaktus, következményesen mikrosérülés. Terjedésének leggyakoribb formája a szexuális átvitel, mely következtében a fertőzés érintheti a genitáliák, az anus és szájüreg nyálkahártyáját, illetve környező bőrfelületet, ujjak bőrét. A HPV onkogén genotípusai, mint például HPV16, 18 a méhnyakrákos esetek 99%-ért felelősek. A megváltozott szexuális szokások következtében a HPV a szájüregbe is képes bejutni, ott tranziens vagy perzisztens fertőzést okozva, mely benignus vagy malignus daganatok kialakulásához vezethet. A HPV16 genotípus orális előfordulása a szájüregi daganatok tekintetében tizenháromszoros rizikótényezőnek tekintendő. A méhnyakrák megelőzésében a HPV szűrésnek kitüntetett szerepe van, eredményesen csökkenti a betegség incidenciáját és mortalitását. A HPV pozitív etiológiájú szájüregi daganatok egyre magasabb előfordulási aránya megkívánja a szájüregi HPV szűrést. A gynecológiában kialakulthoz hasonló mintavételi protokoll a stomatológiában még nem fejlődött ki, egységes álláspont nincs, bár a kutatások ez irányban rendkívül dinamikusak. Egy egységes standardizált szűrési protokoll jelentős preventív eszköze lehet a szájüregi HPV fertőzések, ezáltal a HPV-etiológiájú szájüregi rosszindulatú daganatok prevenciójának.

A HPV-t követően a legtöbb mikrobiális ágens és szájüregi rák összefüggéseit kutató vizsgálat a *Candida* törzsek karcinogén szerepével foglalkozott, foglalkozik. A szájüregi candidiasis a szájnyálkahártya gyakori opportunistá fertőzése, amit számos *Candida* faj túlnövése okoz, a leggyakoribb a *C. albicans*. A candidával összefüggő fogsor-stomatitis az orális candidiasis leggyakoribb előfordulási formája. Ez a forma krónikus, atrófiás jellegű, gyulladás, erythema, ödéma jellemzi, a fogsorviselők 65%-nál előfordul. Az elváltozás kialakulásához szükséges kuczstényezők a nem megfelelően illeszkedő lemezes fogpótlás, elégtelen szájhigiénia és fogsortisztítás, *Candida* kolonizáció. A fogsor-stomatitis terápiáját tekintve kiemelkedő jelentőségű a megfelelő szájhigiénia, a fogak és/vagy fogsor mechanikai tisztítása. A páciensek erőfeszítéseit hátráltathatja csökkent manualitásuk (például súlyos műtétek, stroke után vagy arthritis következtében), így indokoltá válik antiszeptikumok és/vagy más kémiai ágensek kiegészítő használata. Máig a klórhexidin diglukonátot (CHX) tartják az orális biofilm elleni küzdelemben a legfontosabb antiszeptikumnak. A közelmúltban jelentek meg lokálisan alkalmazható lassú hatóanyag leadású lakkok (sustained-release varnish, SRV) és gélek, amelyek segítségével eliminálhatók a kariogén és parodontopatogén baktériumok, azonban antifungális hatásukat nem elemezték részletesen. A *Candida* karcinogenezisben játszott szerepe nem teljesen tisztázott, azonban több ponton alátámasztottnak látszik. Kimutatták, hogy *in vitro* körülmények között a *C. albicans* karcinogén nitrozamin szintézisére képes illetve katalizálja az alkohol acetaldehiddé átalakulását, mely

toxikus, mutagén. További kóroki tényező lehet, hogy a krónikus *Candida* fertőzés krónikus gyulladással reakciókat indít be, mely szintén közrejátszik a karcinogenezisben. Kimutatott továbbá, hogy amennyiben *Candida* etiológiájú a leukoplakia, annak malignizációs hajlama fokozott a nem *Candida* etiológiájú leukoplakiához képest. Több szerző vizsgálata szerint a fogsor felszínén kialakult *Candida* biofilm rezervoár a szájüregi HPV számára és a mikrotraumák, gyulladás következtében a szájüregi HPV etiológiájú benignus vagy malignus daganatok kialakulásának is fokozott a kockázata.

A *Candida* fertőzés megelőzése és kezelése fogsort viselő páciensek esetében egy potenciális karcinogén rizikótényező eliminálásának lehet hatékony eszköze, hozzájárulva ezen betegcsoport szájüregi rák prevenciójához.

## **2.Célkitűzések**

A bevezetőben ismertetett drámai sztomato-onkológiai epidemiológiai helyzet, illetve a klasszikustól eltérő etiológiai tényezők előtérbe kerülése inspirált kutatómunkám célkitűzései során. Nevezetesen a stomato-onkológiai szempontból leggyakoribb és legjelentősebb mikrobiológiai ágensek (HPV és *Candida*), mint potenciális etiológiai tényezők prevenciójának vizsgálata volt a fő csapásirány. Ezen megfontolásból célkitűzéseim a következők voltak:

1. A szájüreg reprezentatív területeiről vett kefebiopsziás mintavételi eljárás alkalmasságának vizsgálata szájüregi HPV szűrésre
2. A szájüreg reprezentatív területeiről HPV szűrés céljára alkalmazott kefebiopsziás módszer hatékonyságának a vizsgálata a legfrissebb meta-analitikus adatok függvényében
3. Genitálisan tumormentes HPV fertőzött nő páciensek és partnereik szájüregi HPV fertőzöttségének vizsgálata
4. Genitális HPV keresztfertőzés nemi függőségének vizsgálata
5. A klórhexidin+timol tartalmú lakk hatásának vizsgálata *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* és *Candida glabrata* biofilmek változására
6. A klórhexidin+timol tartalmú lakk hatásának vizsgálata *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* és *Candida glabrata* biofilm kialakulására.

### **3.Anyag, módszer**

#### **3.1.Genitális és orális HPV fertőzöttség közötti összefüggések vizsgálata**

A feldolgozott beteganyag budapesti, önként jelentkező páciensek közül került kiválogatásra. A rutin nőgyógyászati méhnyakrák-szűrésre jelentkező pácienseknél klinikai és cytológiai vizsgálat és HPV szűrés történt. A páciensek ezt követően igényelték a szájüregi rák- és HPV szűrést, illetve amennyiben volt aktuális partnerük, azok genitális (glans penis, corona

glandis, külső urethralis meatus), orális rák- és HPV szűrését. Nők esetében a klinikai és hisztológiai vizsgálat során nőgyógyászati rosszindulatú daganattal rendelkező páciensek, a korábban kemo- vagy sugárkezelésben részesültek, az immunszupprimált betegek, az aspecifikus immunerősítő kezelésben részesültek (Inosine Pranobex) vagy HPV vakcinázottak vizsgálati eredményei nem kerültek feldolgozásra. Hasonlóan, férfiak esetében genitális rosszindulatú daganat, korábbi kemo- és sugárterápia, immunszupprimált állapot, aspecifikus immunerősítő kezelés (Inosine Pranobex), illetve HPV vakcináció esetén a vizsgálati eredményeket nem analizáltuk. Összesen 34 pár és 14 nem párcapcsolatban élő nőbeteg vizsgálati eredményét dolgoztuk fel. Párok esetében a nők átlagéletkora 30,3 év (19-60 év), a férfiak átlagéletkora 35,7 év (21-66 év), a nem párcapcsolatban élő hölgyek esetében az átlag életkor 28,9 év (22-40 év) volt. A páciensek a HPV oro-genitalis transzmisszió lehetőségéről, valamint a vizsgálat menetéről tájékoztatásban részesültek és a tájékoztatás után beleegyező nyilatkozatot írtak alá (Etikai engedély: SE RKEB: 131/2018). A genitális vizsgálatot és mintavételt minden esetben ugyanazon vizsgáló orvos végezte, ahogy a szájüregi rákszűrést és HPV mintavételt is.

A szájüregi vizsgálat során szabad szemmel történő stomato-onkológiai szűrés történt, amelyet kefebiopsziás mintavétel követett a szájüreg reprezentatív területeiről a következő sorrendben: jobb oldali orca, felső ajak, felső buccalis íny, bal orca, alsó ajak, alsó buccalis íny, kemény szájpad, nyelvhát, nyelvoldalal, nyelvcsúcs, nyelv alsó felszíne, szájfenék, alsó linguális íny, nyelvgyök dorsalis és oldalsó részei, lágyszájpad,

garatívék; a citológiai kefével gyűjtött exfoliált sejteket 1 mL PBS (phosphate buffered saline) transzport közegbe helyeztük, majd a mintavételt követően a mintákat a feldolgozásig -20°C-on tároltuk. A genitális és orális minták gyűjtése, éppúgy, mint a partnerek esetében a mintavétel lehetőség szerint azonos időpontban, de maximum 1 hét különbséggel történt.

A klinikai mintákban a HPV-specifikus szekvenciák kimutatása a Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai Intézetében történt. Az exfoliált sejtek előkészítése a nukleinsav izoláláshoz a következőképpen zajlott: az 1 mL sejtszuszpenziót 500 g-n, 5 percig szobahőmérsékleten centrifugáltuk, majd a sejtüledéket 200 µL PBS oldatban szuszpendáltuk. A DNS izolálása inuPrep Viral RNA/DNA kit (Analytik Jena, Jéna, Németország) segítségével történt, a gyártó ajánlása alapján.

Az izolált DNS minőségét a humán  $\beta$ -globin génre specifikus polimeráz láncreakció (polymerase chain reaction, PCR) segítségével ellenőriztük. A HPV-specifikus szekvenciákat a nyálkahártyákat fertőző HPV genotípusok kimutatására alkalmas, azok konzervatív L1 génjére specifikus MY/GP konszenzus nested PCR segítségével detektáltuk. A HPV genotípusok meghatározása a MY PCR termékek restrikciós fragmenthossz polimorfizmus (restriction fragment length polymorphism, RFLP) analízisével vagy a GP amplimerek szekvenálásával (Macrogen, Amsterdam, Hollandia) történt. Kevert fertőzés gyanúja esetén, amennyiben a minta az MY PCR során pozitívnak bizonyult, a genotípusok azonosítását a GenoFlow HPV



array test kit (DiagCor, Kowloon Bay, Hong Kong) segítségével a gyártó ajánlást követve végeztük. A HPV6, HPV11, HPV16, HPV18, HPV31 és HPV33 genotípusok esetében genotípus meghatározás eredményét típus-specifikus PCR-ekkel is megerősítettük. Néhány esetben – a vírus alacsony kópiaszáma miatt – a HPV genotípus meghatározása nem járt sikerrel, ekkor a mintákat HPV gyengén pozitív, genotípus nem meghatározható (NA) kategóriába soroltuk.

### **3.2.Klórhexidin+timol-hatóanyagú lakk különböző Candida biofilmekre gyakorolt hatásának vizsgálata (terápiás hatásosság vizsgálata)**

A Cervitec Plus<sup>®</sup> lakk terápiás hatásosságának vizsgálatához *Candida* fajokat tenyésztettünk 48 órán át egy 24 lyukú tenyészedényben. Mindegyik lyukban egy 6 mm átmérőjű, 1 mm vastag akrilát korong volt 0,5 mL Sabouraud médiumban 8% glükóz jelenléte mellett. A *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* és *C. glabrata* fajok egy-egy izolátumát vizsgáltuk. Az izolátumok a Semmelweis Egyetem Klinikai Mikrobiológiai Laboratóriumának mintáiból származtak és korábbi vizsgálatokban biofilmképzőnek bizonyultak. A 48 órányi inkubációt követően 37°C-on az akrilát korongokat steril fiziológiás sóoldattal lemostuk és Corsodyl<sup>®</sup> (0,2 % klórhexidin) oldatot valamint Cervitec Plus<sup>®</sup> (1% klórhexidin + 1% timol) lakkot vittük fel a biofilmmel borított korongokra (egyenként 5 percig). Nystatint (3%-os szuszpenzió) használtunk pozitív kontrollként és steril fiziológiás sóoldatot negatív kontrollként. A kezelést követően mértük a biofilmek

metabolikus aktivitását a 2,3-bis (2-methoxy-4- nitro-5-sulfophenyl)-5-[(phenylamino) carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide (XTT) próbával. Az XTT teszt a sejtek életképességét vizsgálja tetrazolium kolorimetriás eljárással. A sejt metabolikus működése során az XTT-t vízdékony színes formazánra bontja, ami könnyen mérhető a celluláris felülűszóban, így a gyógyszerre való érzékenység mérhető a biofilm elpusztítása nélkül. Másrészt ez a módszer lehetővé teszi az ép biofilm vizsgálatát is. Vizsgálatunkban 100 µL 0,5 mg/mL XTT-t adtunk minden a korongot tartalmazó lyukhoz és mértük az optikai denzitást (OD) 450 nm-en 3 órányi 37°C-os inkubációt követően. Minden mérést háromszor végeztünk el. A vizsgálatot a Semmelweis Egyetem Klinikai Mikrobiológiai Laboratóriumában végeztük.

### **3.3 Klórhexidin+timol hatóanyagú lakk különböző Candida biofilmek kialakulására gyakorolt hatásának vizsgálata (prevenációs hatásosság vizsgálata)**

Az antifungális szerek preventív hatásának értékelésére az akrilát korongokat először a termékekkel kezeltük, majd inkubáltuk *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* és *C. glabrata* oldatokban 1 órán át 37°C-on. Egy óra elteltével a korongokat fiziológiás sóoldattal lemostuk, hogy eltávolítsuk a nem letapadt gombasejteket. Ezt követően 8% glükózt tartalmazó 0,5 mL Sabouraud médiumban inkubáltuk a korongokat. 48 óra után a korongokat lemostuk és a biofilm metabolikus aktivitását mértük az XTT módszerrel, az optikai denzitást (OD) 450 nm-en regisztráltuk. Minden egyes minta OD értékét összevetettük a negatív kontroll OD

értékével (fiziológias sóoldat), hogy meghatározzuk az élő sejtek számának százalékos csökkenését a terápiás és preventív mintákban. . A vizsgálatot a Semmelweis Egyetem Klinikai Mikrobiológiai Laboratóriumában végeztük.

Az XTT próba kalibrálására bizonyos *Candida* fajok (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* és *C. glabrata*) azonos egyedszámának metabolikus aktivitását mértük Kuhn szerint: vizsgálatunkban a különböző *Candida* fajok esetében nem találtunk jelentős eltérést.

### **3.4 Statisztikai analízis**

Eredményeink statisztikai értékeléséhez az IBM SPSS 23 szoftvert (IBM Corporation, Armonk, New York, Egyesült Államok) használtuk. A genitális és orális HPV fertőzöttség összefüggéseinek vizsgálatokor a statisztikai számítások során gyakoriságtáblázatokkal szemléltettük a genitális és orális HPV érintettséget mind a nőknél, mind a férfiaknál, valamint a párok esetében elemeztük a partnerek HPV infekciójának előfordulását is. Az egyes csoportok arányait khi négyzet, illetve Fischer egzakt teszttel hasonlítottuk össze. A táblázatokban a 95%-os szignifikancia szint mellett kapott szignifikáns eltéréseket \* jelzi. A HPV fertőzöttség nem és lokalizáció szerinti csoportosítása során a genotípus megoszlás és eloszlások összehasonlításához Bonferroni korrekciót alkalmaztunk. Szignifikancia szint:  $p < 0,05$ . Az *in vitro* vizsgálat során a *Candida* fajok metabolikus aktivitását az optikai denzitás százalékos csökkenésének átlaga és standard deviatioja (SD) jellemezte. A különböző oldatok hatásossága közötti különbségek meghatározására Kruskal-Wallis és Tukey post hoc tesztek alkalmaztunk minden egyes *Candida*

fajra és a statisztikai szignifikancia határát  $p < 0,05$ -nél húztuk meg.

## **4. Eredmények**

### **4.1.A genitális és orális HPV fertőzöttség közötti összefüggések vizsgálatának eredményei**

A 82 páciens sztomato-onkológiai szűrése során egy esetben sem volt precancerosisnak, malignus lézióknak imponáló elváltozás.

Összesen 34 pár genitális és orális HPV szűrése történt, ez 136 mintát jelent. Ezen kívül 14 nem párkapcsolatban élő nő páciens orális és genitális HPV szűrésére került sor. Ez további 28 mintát jelent, tehát összesen 164 minta került tipizálásra. Ezek közül 76 esetben mutattunk ki HPV DNS-t (46,30%). A párral vizsgálatra jelentkező hölgyek közül a genitális mintákból 28 esetben volt HPV DNS kimutatható (82,40%), a nem párkapcsolatban élő hölgyek közül a genitális minták tipizálásakor 10 esetben volt HPV DNS pozitívitás (71,40%), így az összes női genitális minták közül tehát 79,20%-ban volt HPV DNS kimutatható. A vizsgált 34 férfi páciens genitális szűrése során 50%-ban (17/34) volt kimutatható HPV DNS. A genitális HPV fertőzöttség nemek szerinti megoszlása szignifikánsan különbözik (79,2% vs. 50%,  $p=0,006$ ) egymástól.

Az orális minták tekintetében összesen 21 esetben volt kimutatható HPV DNS (25,60%), a párral vizsgált hölgyek közül 9 esetben (26,50%), az egyedülálló hölgyek körében 2 esetben (14,30%), így az összes

nőpáciens esetében 11 esetben (22,90%), illetve a férfi páciensek közül 10 esetben (29,40%). A genitális HPV fertőzöttség nők és férfiak esetében is magasabb arányban volt kimutatható, mint az orális fertőzöttség, mely különbség nők esetében statisztikailag szignifikáns (79,2% vs. 22,9%,  $p < 0,001$ ), férfiak esetében azonban nem (50% vs. 29,4%,  $p = 0,08$ ).

Megfigyelhető, hogy a vizsgáltban szereplő genitálisan HPV fertőzött nők és férfiak esetében gyakoribb ugyanazon személy szájüregi HPV fertőzése, mint genitális HPV negativitás esetén. Ez férfiak tekintetében 35,50% vs. 23,50% ( $p = 0,567$ ), nők vonatkozásában pedig 32,14% vs. 0% ( $p = 0,162$ ).

Az orogenitális transzmissziót vizsgálva megfigyelhetjük, hogy a genitálisan HPV fertőzött férfiak partnerei magasabb arányban HPV fertőzöttek orálisan, mint a genitálisan HPV negatív férfiak partnerei (35,30% vs. 17,60%,  $p = 0,438$ ). Nők esetében azonban – meglepő módon – a genitálisan HPV negatív nő páciensek partnerei magasabb arányban voltak orálisan HPV fertőzöttek, mint a genitálisan HPV pozitív nőbetegek partnerei (50% vs. 25%,  $p = 0,328$ ). Jóllehet, ezen különbségek férfiak és nők esetében sem szignifikánsak.

A genitális transzmisszió vizsgálatokor azonban sem a HPV pozitív vs. negatív nők (50% vs. 50%) sem a HPV pozitív vs. negatív férfiak (82,40% vs. 82,40%) esetén nem volt eltérés a partner genitális HPV fertőzésének tekintetében.

Különbség mutatkozik azonban a genitálisan HPV fertőzött férfi és nőbetegek között a partner HPV fertőzöttségét tekintve: a partner genitális fertőzöttsége férfiaknál 82,4% (nőpartnereik genitális HPV fertőzöttsége), nőknél ez 50% (férfipartnerek genitális HPV fertőzöttsége), mely különbség statisztikailag szignifikáns ( $p=0,023$ ). Az orális minták esetében ugyanígy megállapítható, hogy a genitálisan HPV fertőzött férfiak nő partnerei magasabb arányban HPV fertőzöttek a szájüregben, mint a genitálisan fertőzött nőbetegek férfi partnerei, a különbség azonban nem volt szignifikáns (35,30% vs. 25%,  $p=0,461$ ).

A 76 HPV DNS pozitív minta a következőképpen alakult: 5 minta esetében LR HPV-t azonosítottunk (HPV11, 53, 57, 61, 81 genotípusok), összesen 27 esetben találtunk HPV HR monoinfekciót, mely közül 15 esetben HPV16 genotípust azonosítottuk, három esetben HPV56-t, szintén három esetben volt HPV66 azonosítható, a többi hat HR törzs a HPV18, 31, 33, 45, 51, 58 volt. Négy esetben volt kimutatható koinfekció, nevezetesen HPV16/6, 45/68, 16/51, 31/39/45, melyek mindegyike tartalmaz HR genotípust. Negyven minta HPV nem azonosítható (HPV NA) eredményt mutatott.

A genotípusok vizsgálatát tekintve a 38 genitálisan HPV fertőzött nőbeteg közül 23 esetben volt HR HPV kimutatható (60,50%), ebből 10 esetben volt azonosítható HPV16 DNS (44%), az azonosított genotípusok közül ez volt a leggyakoribb. A genitálisan HPV DNS pozitív férfiak esetében a genitális minták közül négy esetben volt kimutatható HR HPV DNS, (23%), ezek közül három esetben volt HPV16. A 21 orális HPV pozitív

minták közül összesen négy (5,25%) esetben volt kimutatható HR HPV, ezek mindegyike HPV16, nem szerinti megoszlásban két esetben nőknél és két esetben férfiaknál. LR HPV DNS csak a genitális mintákból volt kimutatható, összesen öt esetben, négy nőnél (10,5%) és egy férfinél (5,9%). A 76 HPV DNS pozitív minta közül 40 esetben (52%) a genotípus nem volt azonosítható (HPV NA), legkisebb arányban (29%) a női genitális minták közül (n=11), a legnagyobb arányban (81,8%) a női orális minták esetében (n=9).

#### **4.2. A klórhexidin+timol tartalmú lakk *in vitro* terápiás és preventív hatásosság vizsgálatának eredményei:**

Az egyes *Candida* fajok optikai denzitásának százalékos csökkenése a biofilmben a terápiás hatás vizsgálatokor a következő képpen alakult: az oldatok hatásossága 49% fölötti volt, kivéve Cervitec Plus<sup>®</sup> és *C. glabrata* esetét ahol az OD csökkenése csak 13% volt. Az összes vizsgált *Candida* faj esetében a Corsodyl<sup>®</sup> érte el a legnagyobb mértékű OD csökkenést, ami 95,24% és 97,54% között volt. A *C. albicans* és *C. parapsilosis* esetében a Corsodyl<sup>®</sup> után következett a Cervitec Plus<sup>®</sup> és a Nystatin. Ezen fajok esetében szignifikáns különbséget találtunk a Corsodyl<sup>®</sup> és a Nystatin hatásossága között ( $p \leq 0.01$ ). A Cervitec Plus<sup>®</sup> hatása kissé jobb volt, mint a Nystatiné *C. albicans* és *C. parapsilosis* (ez esetben kifejezettebb hatásosság látszott) esetében egyaránt, de a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns, ahogy a hatásosabb Corsodyl<sup>®</sup>-al történt összehasonlítás esetében sem. A *C. tropicalis* és *C. glabrata* tekintetében a Corsodyl<sup>®</sup> hatásossága szignifikánsan magasabb volt, mint a Cervitec Plus<sup>®</sup>-é, de a különbség nem volt

szignifikáns a Nystatin és Cervitec Plus<sup>®</sup> között. A *C. tropicalis* és *C. glabrata* esetében a Corsodyl<sup>®</sup>-t követte a Nystatin és a Cervitec Plus<sup>®</sup>; a Corsodyl<sup>®</sup> és a Cervitec Plus<sup>®</sup> között statisztikailag szignifikáns volt a különbség ( $p \leq 0.05$ ).

Az egyes *Candida* fajok sejtszámának csökkenése a biofilmben a preventív hatás vizsgálata során az alábbiak szerint alakult: mindegyik esetben az OD csökkenése meghaladta az 55%-ot. Minden vizsgált *Candida* faj esetében a Nystatin volt a leghatásosabb preventív szer, amit a Cervitec Plus<sup>®</sup> és a Corsodyl<sup>®</sup> követett. A Nystatin esetében az átlagos OD csökkenés 97,13% és 98,29% között volt, ami hasonló volt a Cervitec Plus<sup>®</sup>-szal elért OD csökkenéshez, ez 89,53 % és 96,01 %-nak adódott. Az összes *Candida* csoportban szignifikánsan magasabb volt az OD csökkenés Nystatin használatakor, mint Corsodyl<sup>®</sup> esetén ( $p \leq 0.05$ ). A Cervitec Plus<sup>®</sup> közel azonos értékeket mutatott, mint a Nystatin, a különbségek nem voltak statisztikailag szignifikánsak.

## 5.Következtetések

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a rutinszerűen végzendő stomatoonkológiai szűrés a kefebiopsziás mintavételi eljárással kiegészítve, a PCR technika alkalmazásával egy nem-invazív, fájdalommentes eljárás, mely alkalmas a szájüregi HPV DNS kimutatására, illetve azonosítására. Ennek klinikai haszna egyrészt a genitálisan HPV fertőzött páciensek és partnereik, mint rizikópáciensek szájüregi HPV szűrése, továbbá a már szexuálisan aktív páciensek HPV



prevenációjának szempontjából is kiemelkedő jelentőségű HPV vakcinációt megelőző HPV szűrése.

A szájüreg reprezentatív területeiről vett kefebiopsziás módszer, melyet vizsgálatunkban alkalmaztunk, kimagasló szájüregi HPV prevalencia és HPV16 prevalencia értéket eredményezett a 2017-es és 2018-as meta-analitikus vizsgálatokhoz képest. A saját vizsgálatunkban kapott magasabb orális HPV prevalencia megerősíti a szájüregi HPV szűrés létjogosultságát, az alkalmazott technika előrelépést jelenthet a szájüregi HPV szűrés standardizálásában.

A HPV genitális és orális fertőzöttség összefüggéseinek vizsgálata során azt találtuk, hogy tumormentes genitális HPV fertőzöttség mindkét nem esetében emelkedett kockázatot jelent ugyanazon személy szájüregi HPV fertőzöttségére. A klinikumban ennek megfelelően a rutinszerű nőgyógyászati vizsgálaton HPV pozitív nőbetegek szájüregi HPV szűrése is javallott, különös tekintettel HPV16 és HPV18 fertőzöttség esetén.

Továbbá vizsgálataink rámutattak, hogy a genitálisan HPV pozitív férfiak partnerei nagyobb valószínűséggel fertőzöttek genitálisan és orálisan is, mint a HPV genitálisan pozitív nők partnerei. Ennek klinikai jelentősége, hogy a férfiak esetében a genitális HPV fertőzöttség nagyon ritkán okoz elváltozást, úgynevezett néma hordozók. A férfiak rutinszerű genitális HPV szűrése ennél fogva potenciálisan a nők genitális és orális HPV fertőzés megelőzésének jelentős eszközének tekinthető. Ennek az eredménynek az interdiszciplináris kommunikációban is jelentős szerepe van.

Kutatásunk másik irányvonalának eredményeként megállapítottuk, hogy a CHX+timol tartalmú lakk, a Cervitec Plus<sup>®</sup> standardizált akrilát felszínen létrehozott *Candida albicans*, *C. tropicalis* és *C. parapsilosis* biofilm csökkenést eredményezett *in vitro*. Klinikailag ez az eredmény a Cervitec Plus<sup>®</sup> az igen gyakori *Candida* okozta fogsor-stomatitis terápiás alkalmazásának lehetőségét vetíti előre.

Ugyanezen készítmény standardizált akrilát felszínen alkalmazva a kezelt felszíneken létrehozott *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* biofilmek csökkenését eredményezte 48 óra elteltével, *in vitro*. Ennek klinikai jelentősége a fogsor-stomatitis prevenciójában rejlik, nevezetesen a Cervitec Plus<sup>®</sup> lakk megakadályozhatja a mechanikailag megtisztított fogsor, vagy új fogsor *Candida* fertőzését. A Nystatin kellemetlen mellékhatásai miatt (pl. szájüregi irritáció, hasmenés, hányinger, hányás, bőrfelenségek, allergia), a Cervitec Plus<sup>®</sup> alternatív preventív szernek tekinthető a vizsgált *Candida* fajokkal szemben és áttételesen szerepe lehet a szájüregi laphámrák megelőzésében az akrilát fogpótlást viselő betegek körében.

### **Új tudományos megállapítások:**

A szájüreg reprezentatív területeiről vett kefebiopsziás mintavételi eljárás az alkalmazott PCR technika használatával alkalmas a szájüregi HPV szűrésre

A szájüreg reprezentatív területeiről vett kefebiopsziás mintavételi eljárás és az alkalmazott PCR technika használata a legfrissebb metaanalitikus vizsgálatokban

közölt össz HPV és HPV 16 prevalencia tekintetében is magasabb arányban mutattunk ki szájüregi HPV DNS-t.

Genitálisan tumormentes páciensek esetén a genitális HPV fertőzöttség fokozott kockázatot jelent szájüregi HPV fertőzésre.

A genitálisan HPV fertőzött férfiak partnerei nagyobb kockázatnak vannak kitéve genitális és orális HPV fertőződésnek, mint a genitálisan HPV pozitív nők partnerei.

Az elnyújtott CHX+timol hatóanyag leadású Cervitec Plus® lakk in vitro alkalmas az akrilát felszíven kialakuló *Candida* biofilm megelőzésében és eliminálásában egyaránt, javasolható a fogsor-stomatitis megelőzésében, kezelésében egyaránt.

## 5. Saját publikációk jegyzéke

*A disszertációhoz kapcsolódó közlemények:*

Mensch K, Pongracz J, Nagy A, Kristof K, Bechir A, Pacurar M, Nagy G. (2017) Preventive and Therapeutic Effects of Chlorhexidine Containing Varnish on Candida Biofilm. Revista De Chimie, 68: 2808-2811. **IF: 1,412**

Mensch K, Szarka K, Mensch H, Dobai A, Magyar Z, Pacurar M, Vartolomei AC, Manuc D, Nagy CD. (2018) PCR Technique Assisting the Early Diagnosis of Human Papillomavirus A retrospective clinical study. Revista De Chimie, 69: 2781-2787. **IF: 1,412**

*A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények*

Mensch K, Simonffy L, Dombi C, Szabo BT, Varga J, Juhasz A, Dobo-Nagy C. (2017) Endodontic and microsurgical treatments of maxillary lateral incisor dens invaginatus in combination with cone-beam-computed tomography fusion imaging. *Oral Radiology*, 33: 147-152. **IF:0,466**

Mensch K, Nagy G, Nagy A, Brody A. (2019) [Characteristics, diagnosis and treatment of the most common bacterial diseases of the oral cavity]. *Orv Hetil*, 160: 739-746.

Mensch K, Németh Z, Nagy G. (2013) Up-to-date possibilities of stomato-oncological screening: importance of oral cancer and oral premalignant lesions. [A sztomato-onkológiai diagnosztika legújabb lehetőségei : a szájüregi daganatok és a rákmegelőző állapotok jelentősége]. *Nőgyógyászati és Szülészeti Továbbképző Szemle*, 15: 144-150.