



**Semmelweis Egyetem**  
**Arc- Állcsont- Szájsebészeti- és**  
**Fogászati Klinika**  
**Igazgató: Dr. Németh Zsolt**



# **Csontgyógyulás és regeneráció biológiai alapjai**

**FOK V. 2017/2018 I.**

# Az előadás tematikája

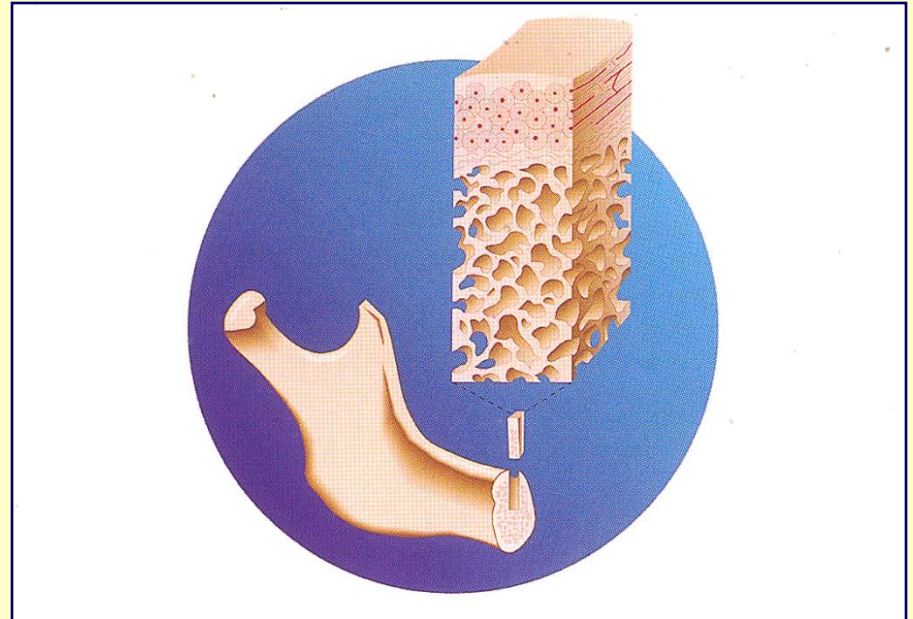
- **A csontszövet szerepe, képződése**
- **A csontképződés szabályozása**
  - **Hormonális szabályozás**
  - **Növekedési faktorok**
- **Csontújraképzés klinikai lehetőségei**
  - **Növekedési faktorok klinikai alkalmazása**
  - **PRP, PRF**
  - **Tissue engineering**
  - **Őssejtterápia**
  - **Génterápia**

# **A CSONTSZÖVET SZEREPE**

- **Kalcium és foszfát homeosztázis fenntartása**
- **Test szerkezeti vázát alkotja**
  - **Mechanikai stabilitás**
  - **Mozgás**
- **Csontvelőben haemopoesis**

# A CSONTSZÖVET MAKROSZKÓPOS SZERKEZETE

- **Kortikális csontállomány**
  - Tömör szerkezet
- **Szivacsos csontállomány**
  - Trabekuláris szerkezet  
*erővonalak mentén (trajectoriális rendszer)*
  - Csontvelő váza
- **Periosteum**
  - Külső fibrózus réteg
  - Csontfelszínnel érintkező sejtes réteg (cambium)
- **Endosteum**
  - Csont belső felszíneit borítja
  - Osteoblastokat, osteoclastokat tartalmaz



# A CSONTSZÖVET MIKROSZKÓPOS SZERKEZETE

- **A csontszövet elemei:**

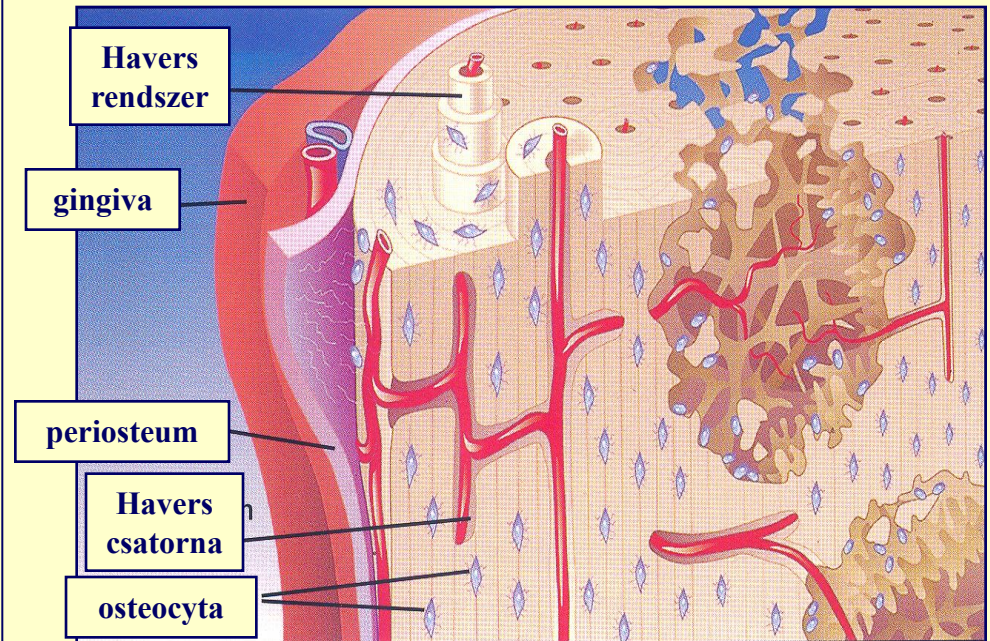
- **Sejtek:**

- **Osteoblast**
  - periosteális
  - endosteális
- **osteocyta**
- **osteoclast**

- **Extracelluláris matrix:**

- **kollagén**
- **hydroxyapatit**
- **proteoglikánok**
- **osteocalcin**
- **Osteonectin**

- **Osteon**



**szerves / szervesetlen**

**35% / 65%**

# A CSONTSEJTEK SZEREPE

- **Osteoblast**
  - ECM képzés (kollagén, osteocalcin, osteonectin, proteoglikán szekréció)
  - ECM mineralizációjának fokozása (hydroxyapatit képzés)
  - növekedési faktorok, citokinek szekréciója stimulus hatására (TGF $\beta$ , BMP, PDGF, TNF, IL-1, IGF)
  - osteoclast aktiváció
- **Osteocyta**
  - Osteoblastból képződik
  - Dendritikus nyúlványokkal kapcsolódnak egymáshoz és a periosteális sejtekhez
  - A mineralizálódott ECM-ben a Havers csatornák körül körkörösén helyezkednek el
- **Osteoclast**
  - H<sup>+</sup> iont szekretál  $\rightarrow$  pH $\downarrow$   $\rightarrow$  hydroxyapatit oldódás  $\rightarrow$  ECM degradáció
  - Hidrolitikus enzim szekréció  $\rightarrow$  ECM bontás

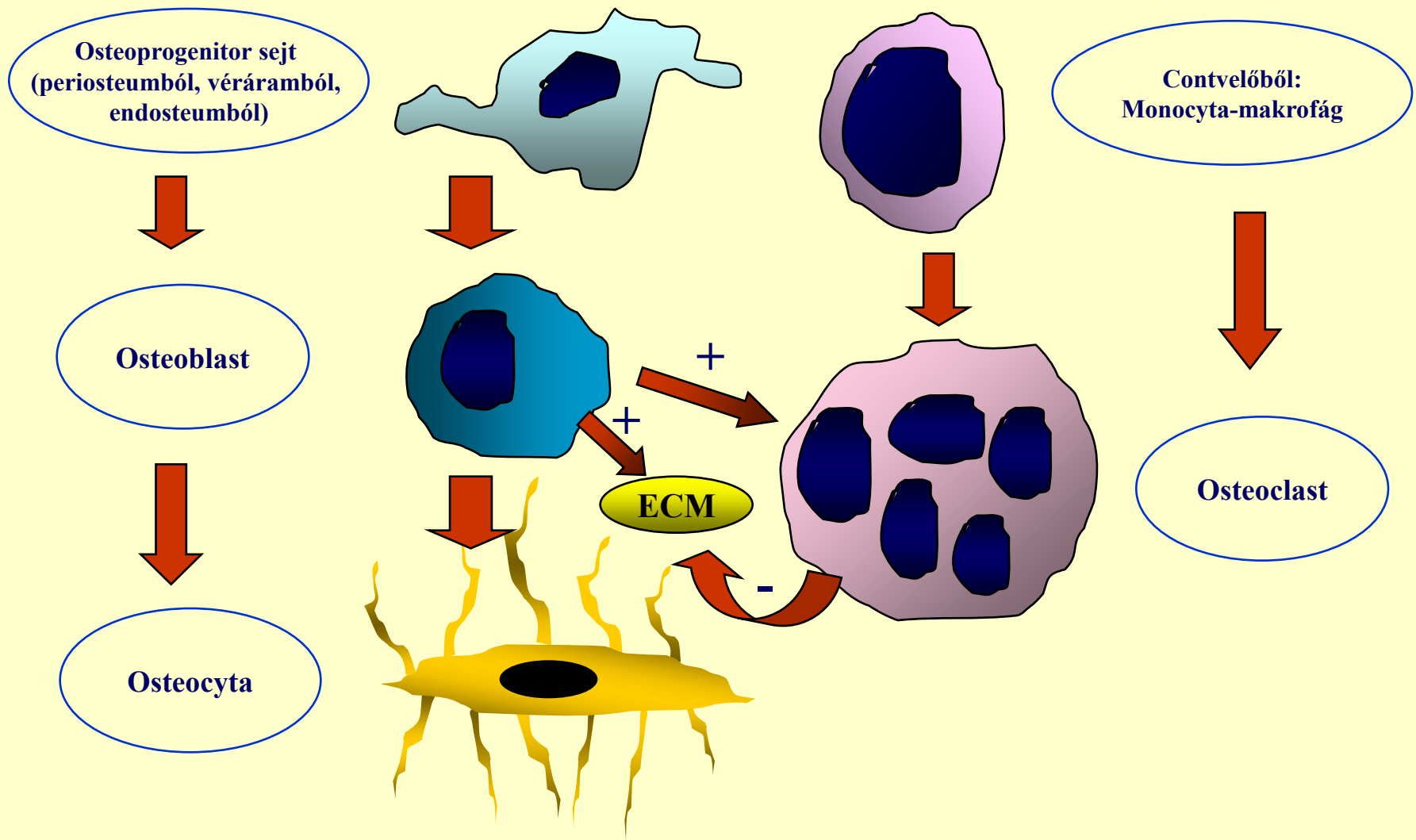
# A CSONTKÉPZŐDÉS TÍPUSAI

**CSONTKÉPZŐDÉS:** a csontozat kialakulása és esetleges regenerálódása

**CSONTNÖVEKEDÉS:** a testméret növekedésével (is) járó folyamatokat

- **Elsődleges (primer angiogen; Krompecher)**
- **Másodlagos**
  - **Desmogen** (kötőszövetes telep átcsontosodása, pl. koponyacsontok)
  - **Chondrogen** (porcsejtekből, pl. csöves csontok)
    - **Perichondrális** vagy **periostealis** (periosteum belső sejtes rétegének mesenchymális sejtjeiből)
    - **Enchondralis**

# A CSONTÚJRAKÉPZŐDÉS LÉPÉSEI SEJTSZINTEN





# A CSONTÚJRAKÉPZŐDÉS LÉPÉSEI SZÖVETI SZINTEN

- **I. fázisú csont**
  - Újraaképződés során először képződik
  - Nem organizált szerkezetű
  - Gyenge biomechanikai erő
  - ECM mineralizációja kisfokú
- **Kompozit csont**
  - Lamelláris szerkezet kialakulása
- **II. fázisú csont**
  - Nagy szilárdságú
  - Lamelláris szerkezetű

# A DIFFERENCIÁLT CSONTSZÖVET DINAMIKUS ÁLLANDÓSÁGÁT BIZTOSÍTÓ FOLYAMATOK

- **REMODELING**

- Az osteoclastok és osteoblastok egymáshoz kapcsolt, szekvenciális aktivitása során folyamatosan, egymás mellett történő csontleépülést és felépülést létrehozó folyamat, mely a csontállomány stady state állapotát biztosítja

- Normálisan a csontmennyiség és alak nem változik

- Autoregulációs hatások (paracrin-, autokrin faktorok) szabályozzák

- **MODELING**

- A növekedés befejeződése után a csont folyamatos alak és méretbeli változását biztosító folyamat

- Az osteoblastok és osteoclastok egymástól független aktivitása során külső erők hatására egyes helyeken csontfelszívódás történik, míg máshol csontfelépülés (pl. fogszabályozás)

- Endosseális implantátumok integrációja, csontpótlás során aktiválódik a modeling folyamata

- **Növekedési faktorok** szabályozása alatt áll

# BISZFOSZFONÁTOKRÓL a remodeling kapcsán

- Biszfoszfonátkötést (P-C-P) tartalmazó szintetikus vegyületcsoport.
- Csontanyagcserére hatnak, kalcium-foszfát kristályokhoz közvetlen kötődnek
- Osteoclastok aktivitását csökkentik (a clast nem tud csontfelülethez kötődni és reszorbeálni)
- Antiangiogén hatásúak (érújraképződés ↓)
- Osteoblastokból felszabaduló RANK Ligandok kötődését gátolják az osteoclastokhoz → osteoclast aktiváció ↓ → csontreszorpció ↓

## REMODELING GÁTLÁSA!

- Hatás: hypocalcaemia, csontmetastasis ↓, osteoporosis ↓
- Újabb: Demosumab (RANKL-hoz kötődő antitest)
- FOGÁSZATI-, SZÁJSEBÉSZETI MELLÉKHATÁSOK

**Bisphosphonate/medication related osteonecrosis of the jaws  
(BRONJ/MRONJ)**

# FIZIKAI ERŐK HATÁSA A CSONTKÉPZŐDÉSRE

- **Megfigyelés:**

**Erőhatások befolyásolják a csontképződés méretét és a képződő csont alakját**

- **Magyarázat:**

**Fizikai erőhatás → osteoblast aktivitás↑ → kalcifikáció↑**

**Csontkompresszó → komprimált területen negatív elektromos potenciál↑ → potenciálkülönbség alakul ki a komprimált és nem komprimált területek között**

**Negatív területeken osteoblast aktivitás↑ → osteoclast aktivitás↑**

# A CSONTKÉPZŐDÉS HORMONÁLIS SZABÁLYOZÁSA (SZISZTÉMÁS SZABÁLYOZÁS)

- **PARATHORMON (PTH)** **serum Ca<sup>2+</sup> szintet növeli**  
mellékpajzsmirigyben termelődik  
csontlebontást fokozza  
osteoblast aktiváción keresztül fokozza az osteoclast aktivációt  
fokozza a Ca<sup>2+</sup> visszaszívást a bélből és a vizeletből
- **KALCITROL (D<sub>3</sub> vitamin, 1,25 dihydroxi-kolekalciferol)** **serum Ca<sup>2+</sup> szintet növeli**  
vesében és májban termelődik  
csontlebontást fokozza  
osteoblast aktiváción keresztül fokozza az osteoclast aktivációt  
csontok mineralizációját fokozza
- **CALCITONIN** **serum Ca<sup>2+</sup> szintet csökkenti**  
pajzsmirigyben termelődik  
csontfelépülést fokozza  
osteoblast aktivációt csökkenti
- **ANDROGÉNEK, ÖSZTROGÉNEK** **csontfelépítés↑**
- **GLUKOKORTIKOIDOK** **csontfelépítés↓**
- **NÖVEKEDÉSI HORMON, TIROXIN** **csontfelépítés↑**

# **A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK (CITOKINEK) DEFINÍCIÓJA**

- Olyan kis molekulású fehérjék, melyek szerepet játszanak a különböző sejtek osztódásának-, növekedésének-, differenciálódásának valamint az extracelluláris mátrix képzésének szabályozásában**

# A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK KÉPZŐDÉSÉNEK HELYE

- **Vaszkuláris endothelsejtek**
- **Fibroblastok**
- **Osteoblastok**
- **Makrofágok**
- **Vér alakos elemei: thrombocyták  
vörösvérsejtek**

# **A CSONTKÉPZŐDÉSSEN SZEREPET JÁTSZÓ NÖVEKEDÉSI FAKTOROK**

- **Platelet Derived Growth Factor (PDGF-A és B)**
- **Transforming Growth Factor-beta (TGF- $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ )**
- **Bone Morphogenic Proteins (BMPs)**
- **Interleukinok (IL)**
- **Fibroblast Growth Factor (FGF)**
- **Epidermal Growth Factor (EGF)**
- **Insulin-like Growth Factor (IGF)**
- **Growth Hormon (GH)**
- **Angiotensin**
- **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)**



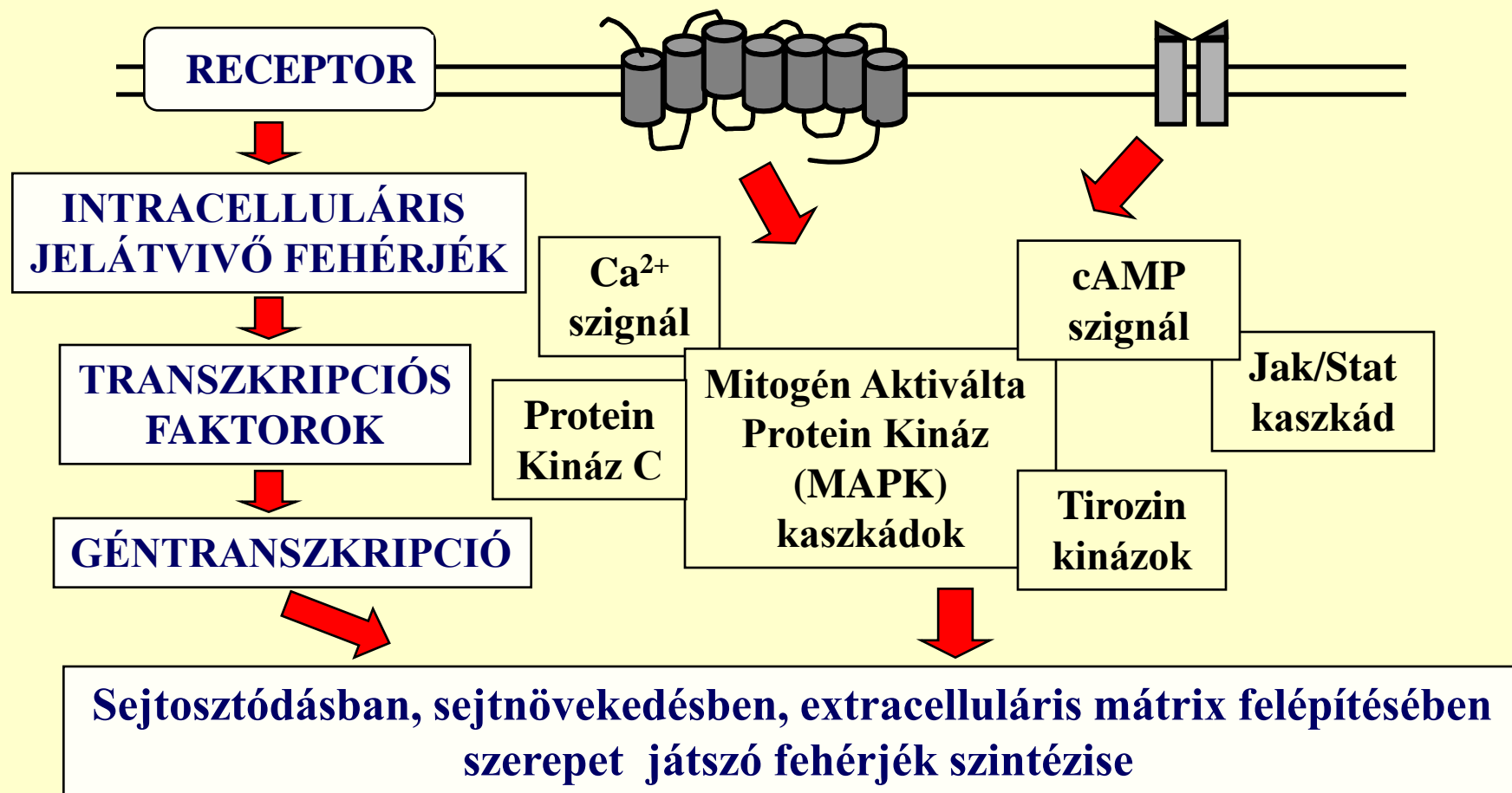
# A CSONTNÖVEKEDÉSBEN SZEREPET JÁTSZÓ EGYÉB FAKTOROK

- **Fibrin**
- **Extracelluláris Mátrix fehérjék (ECM)**
- **Sejt adhéziós molekulák (pl. fibronectin, vitronectin)**
- **Integrinek**

# A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK HATÁSAI

- **Érűjraképződés fokozása**
- **Osteoblast aktiváció**
- **Chondroblast aktiváció**
- **Fibroblast aktiváció**
- **Mesenchymális őssejt aktiváció**
- **Extracelluláris matrix képződés fokozása**
- **Chemotaxis (immunrendszer aktiváció)**
- **Vérképzés fokozása**

# A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK CELLULÁRIS HATÁSMECHANIZMUSAI



# A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK FELHASZNÁLÁSA A KLINIKAI GYAKORLATBAN

- **Szájsebészet**
  - csontpótlás (sinus elevatio, onlay plasztika, ciszta feltöltés, bőr-, nyálkahártyaseb gyógyulás fokozása)
  - disztrakciós állcsontnyújtás hatékonyságának elősegítése
  - Necrotikus területek regenerációja
- **Paradontológia**
  - Periodontális sebészet
- **Ortopédia, traumatológia**
  - csonttörések gyógyulásának fokozása
  - disztrakciós csövescsont-nyújtás hatékonyságának fokozása

# A NÖVEKEDÉSI FAKTOROK „ELŐÁLLÍTÁSÁNAK” LEHETŐSÉGEI

- **Platelet Rich Plasma (PRP)**
- **Platelet Rich Fibrin (PRF)**
  - Előnyeik:
    - olcsó
    - autológ
    - minden, a sebgyógyulásban szerepet játszó növekedési faktort tartalmaz
  - Hátrányaik:
    - hatása nehezen kontrollálható
    - technikai nehézségek
    - fertőzés veszély
- **Géntechológia (rekombináns technika)**
  - Előnye:
    - az egyes faktorok szeparált, tiszta előállítási lehetősége
  - Hátránya:
    - drága
    - a növekedési faktorok egymással való kölcsönhatása hiányzik
- **Humán, állati szövetekből tisztítással (pl. Emdogain)**

# A „PRP” –RŐL ÁLTALÁBAN

- **PRP = AUTOLÓG THROMBOCYTA  
GAZDAG PLAZMA**
- **Alkalmazásának célja:**
  - **Thrombocyta koncentrátum előállítás  
(hematológiai felhasználás)**
  - **lág- és csontszövet regeneráció fokozása**
  - **szöveti ragasztók hatékonyságának fokozása  
(vérzéscsillapítás)**
  - **graft anyagok internalizációjának elősegítése**

# **A „PRP” ALKALMAZÁSÁNAK ELMÉLETI HÁTTERE**

- **A thrombocyták  $\alpha$  és denz granulumaiból aktivációt követően lokálisan különböző növekedési faktorok szabadulnak fel**
- **A koncentráltan jelenlévő növekedési faktorok hatásai révén a PRP fokozza a regenerációs folyamatok elindulását (első 48 óra)**

# **A „PRP” ELŐÁLLÍTÁSÁNAK MÓDSZEREI**

- **PLAZMAFEREZIS**
- **VERZATIL CENTRIFUGÁLÁSOS MÓDSZER**  
(pumpával és szeparációs eszközökkel kiegészítve)
- **DUPLA CENTRIFUGÁLÁSOS MÓDSZER**
  - **Nyitott- és zárt rendszerek**
  - **Manuális és automatizált rendszerek**



# **A „PRP” FELHASZNÁLÁSÁNAK LEHETSÉGES MÓDJAI**

- **Gél (membrán) formában thrombin + Ca<sup>2+</sup>  
vagy speciális fibrinháló hozzáadással  
(=PRP-gél)**
- **PRF felhasználása is ebben a formában**
- **Plazma koncentrátum formában (PRP)**

# A „PRP” ELŐÁLLÍTÁSÁNAK ELVE DUPLA CENTRIFUGÁLÁSOS MÓDSZERREL



# A „PRP” DUPLA CENTRIFUGÁLÁSOS MÓDSZERREL TÖRTÉNŐ ELŐÁLLÍTÁSÁHOZ SZÜKSÉGES ESZKÖZÖK



# A „PRP” ELŐÁLLÍTÁSÁNAK ELVE VERZATIL CENTRIFUGÁLÁSOS MÓDSZERREL



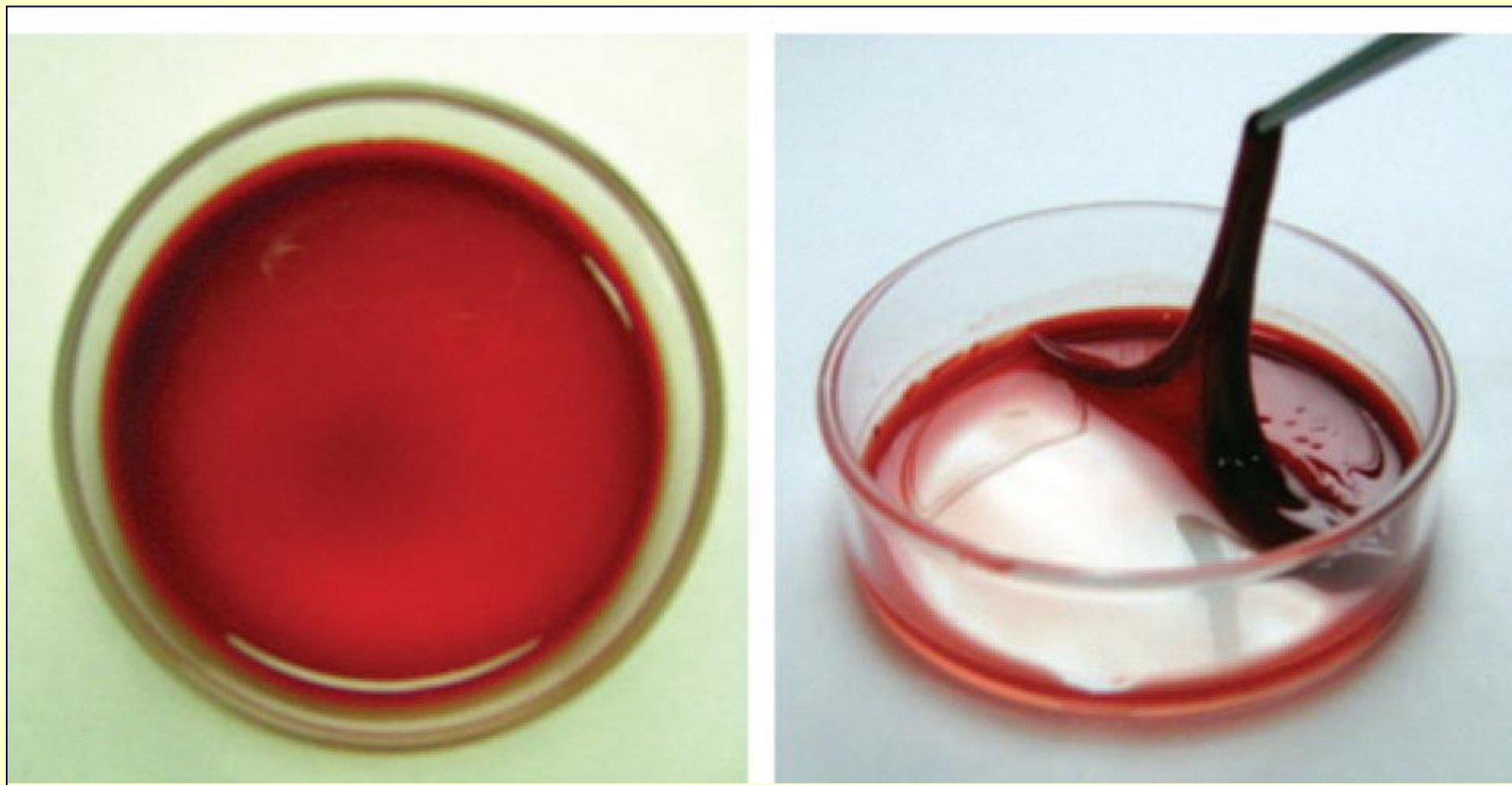
thrombocytában  
szegény plazma

thrombocytá  
pellet

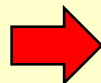
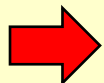
sejtdús réteg



# A FELHASZNÁLÁSRA KERÜLŐ „PRP” ÉS „PRP-GÉL”



# PRF ELŐÁLLÍTÁSA ÉS FELHASZNÁLÁSA



# LEHETSÉGES HIBAFORRÁSOK

- **Nem megfelelő szeparációs technika**
  - centrifugálás fordulatszámának és idejének rossz meghatározása (megfelelő rotor!)
- **Nem megfelelő folyadékrétegek felszívása és alkalmazása**
- **Sterilitás szabályainak figyelmen kívül hagyása**

# AJÁNLOTT IRODALOM

**Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C, Sader R, Kirkpatrick C, Choukroun J. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells.**

*J Oral Implantol. 2014 Dec;40(6):679-89..*

**Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review.**

**Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J.**

*Tissue Eng Part B Rev. 2017 Feb;23(1):83-99.*

**Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review.**

**Naik B, Karunakar P, Jayadev M, Marshal VR.**

*J Conserv Dent. 2013 Jul;16(4):284-93.*



# ÖSSZEFOGLALÁS I.

- **A módszerrel a normál plazma thrombocyta koncentrációhoz viszonyítva közel 4-12x-es thrombocyta koncentrációt lehet elérni (Cél:>1,000,000/ìl)**
- **A szövettani, hisztomorfometriai, radiológiai vizsgálatok szerint PRP-vel kombinált csontpótlás esetén a csontosodás üteme 50-70%-al nagyobb a PRP nélküli csontpótláshoz képest az első 6 hónapban**

# ÖSSZEFOGLALÁS II.

- **A PRP/PRF előállításának egyszerűsített módszere lehetővé teszi alkalmazásának széleskörben való elterjedését**
- **A PRP/PRF alkalmazása gyorsítja a csontpótló műtétek gyógyulási idejét, fokozza az újonnan képződő csont mennyiségét**
- **A PRP/PRF szájsebészeti alkalmazása javítja az állcsontatrófiák illetve defektusok csontpótlással történő kezelésének gyógyulási kilátásait**

# „TISSUE ENGINEERING”

## Definíció:

Minden biológiai mediátor vagy bioanyag felhasználásával történő beavatkozás, melynek célja a test szöveteinek regenerációja.

## Célja:

Az embriogenezis során kialakult eredeti biológiai állapotok visszaállítása, hegyszövettel történő regeneráció helyett eredeti fiziológiai tulajdonságokkal rendelkező, új szövet képzése.

## Típusai:

- in vitro: szövetregeneráció folyamata laboratóriumi körülmények között történik (pl. laboratóriumi csontképzés)
- in vivo: szövetregeneráció folyamata direkt módon a betegben (pl. felszívódó bioanyagok alkalmazása).

## Az eljárás alapja:

Identikus sejtek vagy identikus sejtekkel bevont vagy sejt nélküli porózus anyag implantációja a defektus helyére a szöveti regeneráció elősegítése céljából.

# A CSONTREGENERÁCIÓHOZ HASZNÁLT MÁTRIXANYAGOK/CSONTPÓTLÓANYAGOK BIOLÓGIAI TULAJDONSÁGAI

Tulajdonságok	Autológ csont	Autológ csontvelő aspiratum	Kezelt allogén csont	Szintetikus csontpótló
<b>Oszteokonduktív hatás</b>	+++	-	+	+
<b>Oszteoinduktív hatás</b>	++	+	+/-	+/-
<b>Oszteoprogenítor sejt tartalom</b>	+++	++	-	-
<b>Biomechanikai tulajdonságok</b>	Azonos a pótlás környezetéhez	Eltérő a pótlás környezetétől	Hasonló a pótlás környezetéhez	Eltérő lehet a pótlás Környezetétől
<b>Immunogenitás</b>	-	-	+	+
<b>Fertőzés átvitel veszélye</b>	-	-	+/-	-
<b>Donorhely károsodásának veszélye</b>	++	+	-	-
<b>Felszívódás várható mértéke</b>	++	-	+	+

+++ : jelentős mértékű;    ++ : közepes mértékű;    + : kismértékű;    +/- : lehetséges hatás;  
- : nincs hatás

# IRÁNYVONALAK A JÖVŐBEN

- **Olyan összetett mátrixanyagok („kompozit graftok”) előállítása, melyek rendelkeznek a sikeres csontpótláshoz szükséges tulajdonsággal:**
  - **oszteogenikus sejteket hordoznak a felszínükön  
(ŐSSEJTTERÁPIA?!)**
  - **aktivációjukat követően bioaktív anyagok szabadulnak fel belőlük**
  - **a csontképződéshez szükséges három dimenziós, oszteokonduktív tulajdonságokkal rendelkező struktúra fenntartására alkalmasak**
  - **mechanikai tulajdonságai megfelel a környező szövetekének**
  - **biokompatibilisak**
  - **az új csont képződése során fokozatosan felszívódnak**

# ŐSSEJTTERÁPIA

- **Őssejt forrásai:**
  - **Autogén**
    - csontvelőből – biopszia
    - vérből – plazmaferezis
    - saját köldökzsinór (elméletileg)
    - Periosteumból, fogpulpából, zsírból
  - **Allogén**
    - Embrionális szövetekből (etikai immunológiai, onkológiai problémák)
- **Alkalmazás módjai**
  - lokális
  - szisztémás

# ŐSSEJTTERÁPIA SZEREPE A CSONTPÓTLÁSBAN

## Cél:

Csontpótló eljárások hatékonyságának fokozása, a gyógyulási idő csökkentése, a klinikai alkalmazás egyszerűsítése.

## Felhasználás módja:

### 1) Nyitott sejtenyésztéses módszer

Az őssejtek ránövesztése valamilyen matrix anyagra (csontpótló anyagok, saját csont, titán, polilaktát, kollagén szivacs stb.), melyet a csonthiány helyére ültetnek.

### 2) Zárt módszer

Vérből vagy csontvelőből zárt módszerrel (plazmaferézis) nyert nagy mennyiségű saját őssejt felhasználása a csonthiány régiójában:

- kisebb defektus, parodontalis alkalmazás esetén lokálisan
- nagyobb defektusok esetén matrix anyag felültén

Az eredmények biztatóak, az eljárások viszont idő- és pénzigényesek, a sejtenyésztési módszerek miatt bizonytalanok.

# GÉNTERÁPIA

- **A génterápia fogalma**

- **Funkcionális gén bejuttatása a gazdasejtekbe**

- Hibásan működő metabolikus folyamatok, örökletes genetikus abnormalitások kompenzálása céljából,
    - Új funkciójú sejtek létrehozása érdekében (pl. növekedési faktort termelő sejt vagy daganatos sejteket likvidáló sejtek).

- **A génterápiák osztályozása**

- 1) szomatikus sejt génterápiának***

- non-reproduktív sejtekbe (pl. ideg-, izom-, bőr-, tüdő-, vérsejtek) történik a kívánt gén bejuttatása

- 2) csírasejt génterápiának***

- reproduktív sejtekbe (pl. csírasejtek) juttatnak gént



# GÉNTERÁPIA SZEREPE A CSONTPÓTLÁSBAN

## Felhasználás módja:

- Csontújraképződés aktiválásában szerepet játszó fehérjéket (pl. BMP, PDGF, IGF, FGF) termelő módosított autológ sejtek beültetése
- Vektorhoz kötött gén csontdefektus területére történő bejuttatása
- Génkezelt sejteket illetve a vektorhoz kötött gént megfelelő mátrixanyagra (GAM = gene activated matrix methodika) növesztve illetve juttatva (kollagén, autológ csont, allogén csont, polilaktát, stb.) a defektus helyére juttatni
- A génterápia biztonságos és hatékony alkalmazása a szövetpótlás/csontpótlás területén már a közeljövőben várható és forradalmasíthatja a csontveszteséggel járó kórképek kezelését

# AJÁNLOTT IRODALOM

Fang D, Roskies M, Abdallah MN, Bakkar M, Jordan J, Lin LC, Tamimi F, Tran SD. Three-Dimensional Printed Scaffolds with Multipotent Mesenchymal Stromal Cells for Rabbit Mandibular Reconstruction and Engineering. *Methods Mol Biol.* 2017;1553:273-291..

Lombard T, Neirinckx V, Rogister B, Gilon Y, Wislet S. Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: New Insights into Molecular Mechanisms and Cellular Therapeutic Approaches. *Stem Cells Int.* 2016;2016:8768162. Review.

Role of Platelet rich fibrin in wound healing: A critical review.  
Naik B, Karunakar P, Jayadev M, Marshal VR.  
*J Conserv Dent.* 2013 Jul;16(4):284-93.

Liu X, Li Q, Wang F, Wang Z. Maxillary sinus floor augmentation and dental implant placement using dentin matrix protein-1 gene-modified bone marrow stromal cells mixed with deproteinized bovine bone: A comparative study in beagles.  
*Arch Oral Biol.* 2016 Apr;64:102-8.

**KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!**