# A BoneAlbumin feltöltés csökkenti a donor-területi panaszokat patella-ínnal végzett elülső keresztszalag rekonstrukciót követően

Doktori értekezés

**Dr. Schandl Károly**

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Lacza Zsombor, DSc., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Antal Imre, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Flóris István, Ph.D., főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szőke György, DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Bejek Zoltán, Ph.D., egyetemi adjunktus
Dr. Kádas István, Ph.D., főorvos

Budapest
2018

## Tartalomjegyzék


**1. Bevezetés ..... 5**

*1.1. Patella-ín és hamstring autograftok összehasonlítása ..... 6*

*1.2. Donor-területi panaszok ..... 7*

**1.2.1. Mozgásbeszűkülés ..... 9**

**1.2.2. Izomerő csökkenés ..... 10**

**1.2.3. Intraoperatív idegsérülés ..... 10**

**1.2.4. Lokális diszkomfort a donor-területen ..... 11**

*1.3. Donor-terület vizsgálata objektív módszerekkel ..... 11*

**1.3.1. Mágneses rezonancia vizsgálat ..... 12**

**1.3.2. Ultrahang vizsgálat ..... 14**

**1.3.3. Szövettani vizsgálat ..... 16**

**1.3.4. A csontos donor-területek regenerációjának vizsgálata ..... 17**

*1.4. A donor-területi fájdalom csökkentését célzó technikák ..... 17*

**1.4.1. Ellenoldali graft ..... 17**

**1.4.2. Minimál invazív graftvételi technika ..... 18**

**1.4.3. Haránt irányú metszésvezetés ..... 19**

**1.4.4. A patella-ín varrata ..... 20**

**1.4.5. Patella-ín allograft beültetés ..... 20**

**1.4.6. A donor-terület feltöltése ..... 21**

**1.4.7. Csontpótló eljárások ..... 23**

*1.5. Az albumin szerepe a regeneratív medicinában ..... 29*

**1.5.1. Az albumin, mint aktív molekula a csontregenerációban ..... 30**

**1.5.2. Az albumin hatásai az őssejtfunkcióra – *in vitro* körülmények között ..... 31**

**1.5.2. Korábbi in vivo eredmények és tapasztalatok az albumin bevonatú csontpótlókkal ..... 34**

**2. Célkitűzések ..... 45**

**3. Módszerek ..... 46**

*3.1. A vizsgálat leírása ..... 46*

*3.2. Vizsgálati csoportok ..... 46*

*3.3. BoneAlbumin - szérum albuminnal bevont liofilizált csontőrlemény ..... 47*

*3.4. Sebészi protokoll ..... 47*

*3.5. Rehabilitációs protokoll ..... 49*

*3.5. A betegek utánkövetése ..... 50*

**3.5.1. Nemzetközi pontrendszerek és Vizuál Analóg Skála ..... 50**

**3.5.2. Számítógépes tomográfia (CT) ..... 50**

*3.6. Statisztikai módszerek ..... 51*

**4. Eredmények ..... 52**

*4.1. Beteganyag ..... 52*

*4.2. Morbiditás és tapasztalatok a BoneAlbuminnal ..... 52*

*4.2. Nemzetközi pontrendszerek és Vizuál analóg skála ..... 52*

*4.3. Számítógépes tomográfia (CT) ..... 56*

**5. Megbeszélés** ..... **61**
**6. Következtetések** ..... **69**
**7. Összefoglalás** ..... **70**
**8. Summary** ..... **71**
**9. Irodalomjegyzék** ..... **72**
**10. Saját publikációk jegyzéke** ..... **86**
**11. Köszönetnyilvánítás** ..... **87**

**Rövidítések jegyzéke**

| | |
|---|---|
| ALP | Alkalikus foszfatáz |
| BMP | Csont morfogén protein (Bone morphogenic protein) |
| BMSC | Csontvelő eredetű őssejt (Bone marrow derived stem cell) |
| BPTB | Csont-patella ín-csont (Bone-patellar tendon-bone) |
| B-TCP | Béta-tricalcium-foszfát |
| CT | Computeres tomográfia |
| DBM | Demineralizált csont mátrix (Demineralized bone matrix) |
| DNS | Dezoxiribonukleinsav |
| Et OH | Etilén hidroxid |
| HT | Hamstring ínak |
| HU | Hounsfield egység |
| IGF | Inzulinszerű növekedési faktor (Insulin like growth factor) |
| IKDC | The International Knee Documentation Committee |
| IL | Interleukin |
| LCA | Elülső keresztszalag |
| MAP-kináz | Mitogén aktiválta protein kináz |
| MRI | Mágneses rezonancia vizsgálat |
| N | Newton |
| PAK | Protézis-allograft komplex |
| PRGF | Növekedési faktorban gazdag plazma (Plasma rich in growth factors) |
| PRP | Vérlemezkében gazdag plazma (Platelet rich plasma) |
| ROI | Vizsgálati terület (Region of interest) |
| ROM | Mozgástartomány (Range of motion) |
| SPECT/CT | Foton emissziós computeres tomográfia/ hagyományos computeres tomográfia |
| TGF | Transzformáló növekedési faktor (Transformation growth factor) |
| UH | Ultrahang |
| VAS | Vizuális analóg skála |
| VEGF | Ér endothel növekedési faktor |
| VISA | Victorian Institute of Sport Assessment |
| μCT | Mikro computeres tomográfia |

## 1. Bevezetés

Az utóbbi évtizedekben egyre fontosabb szerepet tölt be életünkben az egészséges életmód és a sport. Ennek köszönhetően a szabadidős tevékenységgel kapcsolatos sérülések is megsokszorozódtak. A sportsérülések 32,6%-a érinti a térdízületet és az összes térdsérülés mintegy 20-25%-a következik be valamilyen sporttevékenység kapcsán [1-3]. Napjainkra az Amerikai Egyesült Államokban évente átlagosan 100000 elülső keresztszalag sérülést regisztrálnak [4]. Az elülső keresztszalag pótlása az egyik leggyakrabban elvégzett műtéti beavatkozás a mozgásszervi sebészetben. Korábban úgy tartották, hogy az elülső keresztszalag szakadása egyben a „térd végének a kezdetét jelenti" [5]. Ma már szerencsére ez nem ilyen egyértelmű. Napjainkra birtokunkba kerültek olyan technikák, melyekkel még az elülső keresztszalag teljes szakadása esetén is a térd sérülés előtti stabilitása és funkciója közel 100%-osan helyreállítható.

Sporttal kapcsolatos térdelváltozások közül az ízület külső és belső szalagrendszerét érintő sérülések okozzák a legjelentősebb problémát, mivel ezek a struktúrák felelősek az ízület stabilitásáért. Súlyosabb formái a hétköznapi aktivitás csökkentésére kényszerítik a beteget, hosszú távon az ízület irreverzibilis degeneratív károsodásához vezetnek.

A térd szalagrendszerének sérülése komoly kihívást jelent mind a sportoló, mind a sportsebész számára, amit tükröz a témával foglalkozó széleskörű nemzetközi irodalom, amely magába foglalja az alapkutatás, diagnosztika, kezelés és megelőzés valamennyi részterületét.

A munkacsoportunk egyik fő kutatási területe a mozgató és támasztó szervrendszeri regeneratív medicina volt. Vizsgálataink során sikerült kifejlesztettünk egy albuminnal bevont csont allograftot, mely fokozza a mezenhimális őssejtek kitapadását és azok proliferációját. Az évek során az in vitro vizsgálatoktól, az in vivo kisállat kísérleteken át munkacsoportunkkal eljutottunk az albuminnal felületkezelt csont allograft humán kipróbálásáig. Doktori disszertációm középpontjában lévő humán vizsgálat az említett allograft első, nagyobb számú homogén betegcsoporton elvégzett beültetése volt.

Mint gyakorló ortopéd-traumatológus és sportsebész évek óta dolgozom a Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Sportsebészeti Részlegén. Munkánk során főként térd-, váll- és bokaízületek különböző sérüléseivel és degeneratív eltéréseivel

foglalkozunk. Ezek közül is a térdízületi szalagsérülésekben rendelkezünk a legnagyobb gyakorlattal. Az elmúlt esztendők átlagát tekintve éves szinten 600-650 elülső keresztszalag (LCA) rekonstrukciót végzünk, mely országos viszonylatban az egyik legmagasabb műtéti számot jelenti. Az általunk végzett elülső keresztszalag plasztikák körülbelül 70 %-ában, az 1980-90-es évek arany standardjának számító, patella-ín középső harmadával végzett technikát alkalmazzuk (BPTB). A fennmaradó 30%-ban az utóbbi 15 év elsőszámú oltványának számító hamstring-ínakat használjuk elülső keresztszalag rekonstrukcióra. Napjainkban a nemzetközi irodalom alapján is ez számít a két legnépszerűbb műtéttechnikai eljárásnak. Nagy összehasonlító vizsgálatok alapján nem mutatható ki érdemi különbség az ízületi stabilitás, mozgástartomány vagy a rehabilitáció hosszát illetően [6, 7]. A BPTB technika nagy előnye a graft szolid rögzíthetősége és a csontszövet a csontszövettel történő összegyógyulásának lehetősége. Ugyanakkor a témával foglalkozó legtöbb tanulmány kiemeli, hogy BPTB technika egyértelmű hátránya az esetek 40-60%-ában megjelenő donor-területi fájdalom illetve diszkomfort érzés [8-11]. Az irodalomban számos kísérletet találunk az- amúgy rendkívül megbízható és kiváló klinikai eredményekkel rendelkező- BPTB technika után jelentkező adóterületi fájdalom kiküszöbölésére. A donor-területi panaszok csökkentését célzó kísérletek egyik iránya az adó terület feltöltésén alapul, valamely szöveti regenerációt serkentő készítmény segítségével [12-14].

Jelen munka alapját képező humán vizsgálat során, a munkacsoportunk által kifejlesztett albuminnal felületkezelt csont allografotot ültettünk be BPTB technikával végzett elülső keresztszalag pótlás kapcsán kialakult csontos adó területekre.

Hipotézisünk az volt, hogy beültetésre került csont graft gyorsabb és teljesebb csontosodást eredményez, ezáltal minimalizálja az adóterületi panaszokat. Csökkenő adóterületi fájdalom esetén a jól alkalmazható patella-ínas elülső keresztszalag pótlás létjogosultsága újabb megerősítést nyerhet

### 1.1. Patella-ín és hamstring autograftok összehasonlítása

Napjainkban az elülső keresztszalag pótlás során a két leggyakrabban választott oltvány a BPTB és HT autograftok. A két technika közti különbségek a legtöbb szerző véleménye szerint nem számottevőek. Samuelsson és munkacsoportja feldolgozta a témában megjelent angol nyelvű szakirodalmat 1995-2009 közötti időszak vonatkozásában [15].

Megállapításaikat végül 39 tudományos közlemény tanulmányozása alapján hozták meg. Ezek alapján kijelenthető, hogy ebben az időszakban még mindig a BPTB volt a leggyakrabban felhasznált autograft világszerte, annak ellenére, hogy az utolsó évtizedben a HT térnyerése fokozatosan emelkedett. A HT graftok növekvő népszerűsége elsősorban a jóval kevesebb posztoperatív szövődménnyel magyarázható. A vizsgálat a BPTB technika hátrányaként említi a jól ismert elülső térdfájdalmat, a m. quadriceps perzisztáló gyengeségét, a térdkalács törésének és a patella-ín szakadásának kockázatát [11, 16]. Ugyanakkor HT alkalmazása esetén gyakrabban találkozhatunk rövid- és hosszútávú graft lazulással, furat kiszélesedéssel, hamstring és mély flexor funkció gyengülésével [16-18].

Persson a norvég keresztszalag regiszter adatait dolgozta fel 2004 és 2012 között. Az említett időszakban 12643 elülső keresztszalag pótlást végeztek [19]. A korábban említettek mellett még egy fontos megállapítást tettek, nevezetesen, hogy kétszer annyi revízióra került sor HT-val végzett LCA rekonstrukció esetén.

Munkacsoportunk nagy számban végez BPTB beavatkozásokat, míg HT graftok beültetésében a Fővárosi Uzsoki utcai Kórház Ortopéd-Traumatológiai osztálya jár élen. A két munkacsoport közreműködéséből született összehasonlító vizsgálat szerint, a külföldi szakirodalommal egybehangzóan sincs a két technika között térdstabilitásban és hosszú távú regenerációban különbség, ugyanakkor a donor-területi panaszok BPTB-t követően egyértelműen jelentkeznek [20].

A következő fejezetekben a BPTB technika esetén jelentkező, donor-területi fájdalommal foglalkozom részletesebben.

### 1.2. Donor-területi panaszok

Az elülső keresztszalag szakadás BPTB technikával történő rekonstrukciója több mint négy évtizede elterjedt és kiváló eredménnyel alkalmazott eljárás világszerte. Mindamellett, hogy az említett beavatkozással elért eredmények a térdízületi stabilitás helyreállítására vonatkozóan közismerten jók, számos korábbi vizsgálat igazolta, hogy patella-ínból vett autografttal történő elülső keresztszalag pótlások esetén 40-60 %-ban jelentkezik valamilyen fokú donor-területi panasz [8-11, 21].

Korrekt módon kivitelezett sebészi technika esetén is előfordulnak az adóterülettel kapcsolatos korai vagy késői panaszok autológ oltvánnyal végzett elülső keresztszalag

pótlást követően. A jellemző tüneteket alapvetően három kategóriába sorolandók [21].

1. Általános fájdalom és diszkomfort érzés az operált térdízületben, mely csökkent ízületi funkcióval, esetleges ízületi kontraktúrával és csökkent izomerővel magyarázható
2. Közvetlenül a donor-területet érintő speciális diszkomfort érzés, mely elsősorban az adóterület fokozott érzékenységében, illetve esetleges érzéketlenségében nyilvánul meg
3. A donor-területet vagy közvetlen környezetét érintő késői szöveti reakciók

Számos módszer áll rendelkezésünkre az adóterületi panaszok és elülső térdfájdalom vizsgálatában. A funkcionalitás értékelése szempontjából elengedhetetlen szerepük van a különböző klinikai vizsgálatoknak. Ide sorolhatjuk a ROM dokumentálást, az izomerő mérését, a térdelés és térden járás értékelését, a különböző adóterületi hiperszenzitivitás és érzéketlenség vizsgálatát. A donor-terület radiológiai értékelésére hagyományos röntgen és ultrahang vizsgálat mellett mágneses rezonancia (MRI) és számítógépes rétegvizsgálatot (CT) szokás alkalmazni. A fentiek mellett egyes kutatócsoportok az adóterületek szövettani és biokémiai vizsgálatával is foglalkoztak.

Az elülső térdfájdalom a hétköznapi élet során számos tevékenység elvégzését nehezíti meg, legyen szó térdelésről vagy térden való járásról. Ez a jelenség igencsak szembetűnő az olyan szakmák képviselőinél, akiknél a térden állás a mindennapos munkaköri tevékenység része.

A donor-területi fájdalmat számos tényezővel magyarázzák. Fontos szerepet tulajdonítanak a saphaenus ideg infrapatelláris ágának és a nervus cutaneus femoris medialis, patella csúcs közelében futó szakaszának intraoperatív sérülésének, mely elsősorban az említett lokalizációjú hipesztéziáért felelős. Másik ilyen tényező a patella-ínon, a kimetszés után kialakuló szövettani változások, melyek eredményeképpen csökken az adott terület regeneratív kapacitása. Más szerzők a tibiális adóterület közelében elhelyezett graft-rögzítő rendszerek kóroki szerepét valószínűsítik [22]. Szintén oki tényezőként merül fel a csontos adóterületeknek megfelelően kialakuló hiány, melyet elsősorban a műtét közben nyert autológ csonttal próbálnak pótolni.

Hsieh és munkacsoportjának kísérlete egy további érdekes tényezőre világít rá, melynek

szerepe lehet elülső térdfájdalom kialakulásában LCA pótlás után [23]. Kadaver térdeken végzett vizsgálata során átvágták az elülső keresztszalagot, majd megmérték a 30, 60 és 90 fokos hajlítás mellett a patellofemorális ízületben kialakult nyomásviszonyokat. Méréseik során igazolódott, hogy a LCA hiányában a patellofemorális ízület nyomáseloszlása jelentősen eltolódik a laterális oldal kárára, tehát a patella lateralizálódik, ami közismerten egyik fő oka retropatelláris panaszoknak. Azokban az esetekben, ahol ezt követően BPTB rekonstrukciót végeztek az ízület nyomáskarakterisztikája rendeződött. A fentiekből következik, hogy elülső térdfájdalom jelenhet meg, akkor is ha csupán instabilitás érzést nem okozó ízületi lazaság marad vissza elülső keresztszalag pótlást követően. Számos képalkotó módszerrel igazolták a graft eltávolítás miatti patella-ín rövidülést is, mely szintén befolyásolja a nyomásviszonyokat a patellofemorális régióban, ezáltal okozva elülső térdpanaszokat.
Az elülső térdfájdalom elkerülésére alternatív oltványok is alkalmazhatóak ugyanakkor ezek használata esetén is tapasztalhatunk némi adóterületi panaszt. Ezenkívül az alternatív graftok alkalmazásával elveszítjük a patella-ínas pótlás előnyeit, melyek a mai napig az egyik legnépszerűbb grafttá teszik. Ezen tulajdonságok a megbízható rögzíthetőség, a nagy szakítószilárdság és a csont-csont kontaktuson alapuló kiváló beépülési arány.

### 1.2.1. Mozgásbeszűkülés

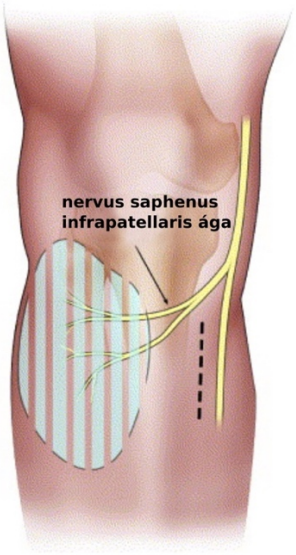
A nemzetközi szakirodalomban széleskörű egyetértés tapasztalható azzal kapcsolatban, hogy a műtét után kialakult extenziós mozgásdeficit szoros összefüggésben áll a betegek által észlelt elülső térdtáji diszkomfort érzéssel [24-27]. A hajlítás során fellépő mozgásbeszűküléssel kapcsolatban már messze nem ilyen egybehangzóak a vélemények. Stapleton és Kartus munkacsoportjai szerint a flexió során jelentkező mozgásbeszűkülés szignifikánsan nagyobb hatással van az elülső térdpanaszokra, mint az extenziós deficit [26]. Aglietti vizsgálatai alapján csak a 10 fok feletti flexiós deficit okozhat elülső térdfájdalmat, ugyanakkor Irrgang és Harner véleménye szerint csak a 110 foknál kisebb flexiós mozgástartomány eredményezhet érdemi térdpanaszokat függetlenül a graft választástól [24, 28].

### 1.2.2. Izomerő csökkenés

A témával foglalkozó vizsgálatok jelentős része egyetért abban, hogy patella-ínnal végezett elülső keresztszalag pótlás után jelentkező elülső térdfájdalom elkerülésében elengedhetetlen szerepe van a quadriceps izomerő mihamarabbi és minél teljesebb visszanyerésének [21]. Muneta és munkatársai vizsgálata igazolta, hogy alapvető összefüggés van a posztoperatív quadriceps, illetve hamstring izomerő és a műtét sikerességének beteg általi szubjektív megítélése között, függetlenül a felhasznált oltvány típusától [29].

### 1.2.3. Intraoperatív idegsérülés

A BPTB technikával végzett elülső keresztszalag pótlás során az esetek nagy részében 7-9 cm-es vertikális metszést használnak a patella-ín középső harmada felett.
Ennél a metszésnél majdnem minden esetben sérülnek a nervus saphenus infrapatellaris ágai, ennek következménye a sebtől laterálisan lévő bőrfelület érzészavara, mely elülső térdtáji diszkomfort érzést és térdelési nehézséget okozhat (1. ábra).




**1. ábra** A nervus saphenus infrapatelláris ágának lefutása
(https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1060187206000219)

Néhány esetben közöltek már idegsérülés következtében kialakuló fájdalmas neuroma megjelenését, illetve reflex szimpatikus disztrófiát is [30, 31]. A fenti ideg iatrogén sérülésének elkerülésére az irodalomban számos próbálkozást, alternatív metszésvezetést találunk. Berg és Mjöberg laterális parapatelláris metszést javasolt az ismert szövődmények elkerülésére [32]. Mishra és munkacsoportja hasonló okból két horizontális metszést alkalmaz, ezzel szemben Kartus két, egyenként 25-25 mm-es vertikális metszést használt a patella-ín középső harmadának eltávolításához [9, 33, 34]. Az említett eljárásokkal igazoltan csökkent az intraoperatív idegsérülések száma, ennél fogva a következményes érzéskiesés és fájdalom előfordulása is.

### 1.2.4. Lokális diszkomfort a donor-területen

A donor-területi fájdalom kialakulásában fontos szerepet játszik a lokálisan kialakuló diszkomfort érzés. Ez elsősorban a donor vételi területen létrejövő szöveti sértés és a keletkező anyaghiány, illetve annak lassabb vagy inadekvát regenerációjával magyarázható, legyen szó akár csontos vagy lágyrész defektusról. Érdekes módon utóbbi defektusokat a szerzők nagyrészt nem választják külön [8-11]. Ugyanakkor a betegek utánkövetése során a csontos donor-területek kifejezett érzékenysége észlelhető. Ennek oka lehet, hogy a csontos hiányok feltöltése legtöbbször csupán részben valósulhat meg a műtét során keletkező csontos fragmentumokkal. Többnyire azonban ennek mennyisége nem elegendő mindkét defektus teljes kitöltéséhez. Saját eredményeink is ezt mutatták, melyet a későbbiekben részletezünk (4.3. fejezet). Szintén okozhatnak lokális panaszt, illetve fájdalmat a nem megfelelően pozícionált graftot rögzítő implantátumok, de ez felveti a műtéttechnikai hiba lehetőségét is.

## 1.3. Donor-terület vizsgálata objektív módszerekkel

A BPTB technika megjelenésének kezdetétől ismertek olyan vizsgálatok, melyek megpróbálták objektívan vizsgálni a graft beépülésének idejét, az adóterületi regenerációs folyamatok időbeli változását, illetve a donor-területi panaszok hátterében megbúvó patológiai elváltozásokat. Az így nyert információknak nagy jelentősége van az operált végtag terhelhetőségével és az esetlegese revíziós műtétek időzítésével kapcsolatban. A nemzetközi irodalomban több közleményt találunk, melyek a fenti

folyamatokat vizsgálták objektív képalkotó eszközök, illetve hisztológiai módszerek segítségével.

### 1.3.1. Mágneses rezonancia vizsgálat

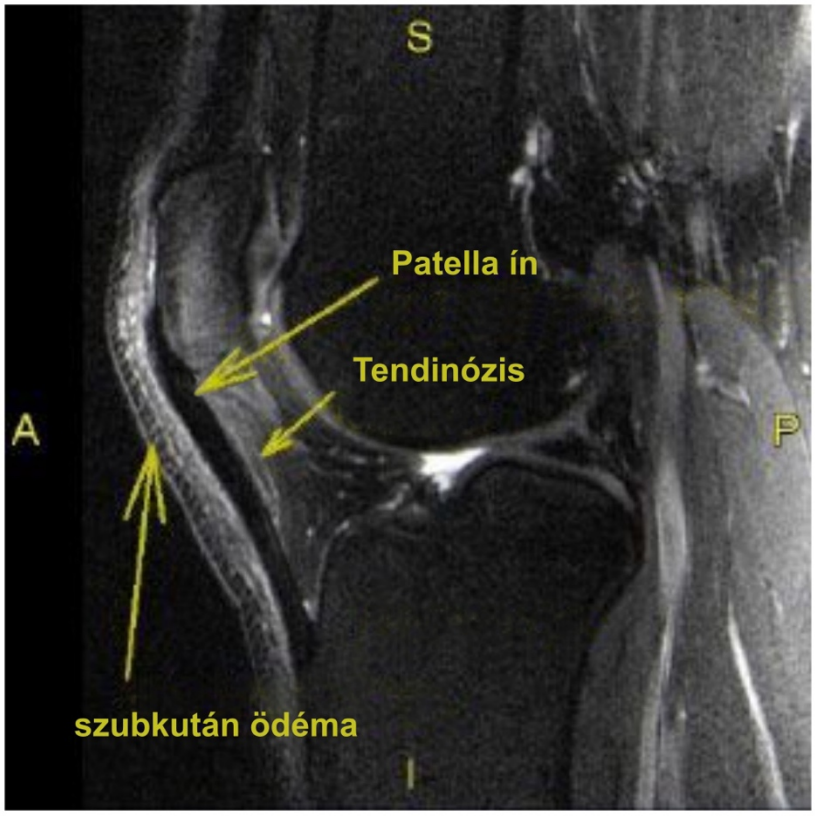
A tudományos irodalom számos közleménye foglalkozik az átültetett oltványon végbemenő változásokkal, annak pozícionálásával és beépülésével. Ezzel szemben erősen limitált azon publikációk száma, melyek az adóterület regenerációját értékelik, választ keresve annak időbeli lefolyására és a regenerálódott szövet tulajdonságaira. Burks és munkatársai 6 hónappal a patella-ín középső harmadának eltávolítása után vizsgálták kutyákon az adóterületi regenerációs folyamatokat [35]. Megfigyelésük szerint, fél évvel a műtét után, a patella-ín átlagos hossza 10%-al csökkent, míg keresztmetszete növekedett. A tanulmány során vizsgálták továbbá az eltávolított ín szakítószilárdságát is, mely az ellenoldali, ép ín szakítószilárdságának 60%-át éri el csupán.

Coupens 20 beteg bevonásával végzett humán vizsgálatot. Hat hetes és 18 hónapos posztoperatív időszak között több alkalommal készítettek MRI vizsgálatot a patella-ín adóterületéről [36]. Vizsgálataik során a patella-ín vastagságának átlagos növekedését észlelték az ellenoldallal történő összehasonlítás során, ugyanakkor nem volt mérhető különbség az ín szélességének vonatkozásában. Az érintett ín ödémából fakadó jelintenzitása 18 hónap után csökkent az ellenoldali intakt ínnal megegyező szintre, ezért a szerzők ezt az időt tekintették az ín gyógyulási idejének. Ebben a tanulmányban a műtét során a patella-ín középső harmadát szuturázták, így a defektus méretének változásai nem képezték a vizsgálat részét.

Svennson és munkatársai 19 beteg esetében végeztek MRI vizsgálatot műtét után 6 héttel, 6 hónappal, 3 illetve 6 évvel [37]. Vizsgálataik során azt találták, hogy a patella-ín középső harmadában kialakított hiány ugyan szignifikánsan csökken 6 hetes és 6 éves kor között, de az intakt ellenoldali ín vastagságát nem éri el. Ennél fogva 6 év után sem javasolják az említett régióból történő ismételt graft vételt.

Bernicker és munkatársai 12 páciens bevonásával végeztek prospektív vizsgálatot 1 éves utánkövetéssel [38]. Munkájuk során BPTB technikával végzett LCA plasztika után MRI vizsgálattal dokumentálták az ín középső harmad defektusának regenerációját. A műtét során az ínban keletkező hiányt nem zárták. A méréseket 3 és 6 hetesen, illetve 6 hónapos

és 1 éves korban végezték. A vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy 1 évvel a műtét után a defektus kiterjedése átlagosan 62 %-kal csökkent így a visszamaradó hiány átlagosan 4,3 mm volt. Teljes gyógyulást csak két esetben sikerült dokumentálni (2. ábra). Méréseik alapján az ín szélessége és hossza is csökkent, 6,5 és 8 %-kal, viszont a gyógyuló ín keresztmetszete, egybehangzóan számos korábbi vizsgálattal, növekedett (9%). Azt találták, hogy a regenerációs folyamatok 3 és 6 hónapos kor között a legintenzívebbek. A gyógyulás 6 hónap után is folytatódik, de az intenzitás folyamatosan csökken. A fenti eredményekből kiindulva a szerzők nem javasolják 1 évvel a műtét után az érintett oldalról történő ismételt graft vételt.




**2. ábra** Térdízület szagittális síkú MRI felvételen (http://sikerimaging.com/blog/case-study-knee-002/)

Az előző vizsgálathoz hasonló eredményeket kaptak Koseoglu és munkatársai [39]. Kutatásaik során a donor-területen végbemenő kora és késői változásokat hasonlították össze, keresve a választ a regenerációs folyamatok időbeli dinamikájára. Retrospektív vizsgálatuk során a bevont betegeket két csoportba sorolták. Az első csoportba került alanyoknál a műtét óta eltelt idő 2-12 hónap volt, míg a másik csoportban ugyanez az időintervallum 12-96 hónap volt. A korai csoportban a betegek csupán 7%-ánál volt MRI vizsgálattal mérhető teljes gyógyulás, ugyanez az arány a késői csoportban 42% volt.
A fenti tanulmányokból következtetésként levonható, hogy BPTB technikával végzett elülső keresztszalag pótlást követően az adóterületi gyógyulási folyamatok igen lassan mennek végbe és az esetek többségében még évekkel később is csak gyengébb minőségű szöveti viszonyokat találunk. A témával foglalkozó szerzők jelentős része nem javasolja revíziós műtétekhez, a korábban már érintett területről történő ismételt graftvételt. Amennyiben a korábban már operált patella-ínat ismételten fel kell használni, mindenképpen javasolt preoperatívan MRI vizsgálattal az érintett ín állapotát tisztázni.

### 1.3.2. Ultrahang vizsgálat

A petalla-ínat érintő gyakori elváltozások miatt (tendintitis, enthesopathiák) a régió ultrahangos értékelésének lényegesen nagyobb irodalma van, mint az MRI-vel végzett vizsgálatoknak. Ebben természetesen nagy szerepe van annak, hogy a módszer költségei minimálisak, könnyen elérhető és non-invazív technikának tekinthető.
Wiley és munkacsoportja 14 beteg bevonásával készített klinikai tanulmányt, melynek során a patella-ín középső harmadáról végeztek UH vizsgálatot a műtét előtt, a posztoperatív 2. és 4. héten illetve 4., 6. és 12. hónapban [40]. Eredményeik alapján a patella-ín maximális vastagságát antero-posterior dimenzióban 2 hónapos korban érte el. Ekkor átlagosan a preoperatív vastagság több mint kétszeresét mérték. Az ín szerkezete ekkorra szintén megváltozott, állománya inhomogénné és echoszegényebbé vált. Tizenkét hónappal a műtét után a patella-ín állománya a középső harmadban az egészséges ínszövetre már hasonlító szerkezetet mutatott, de vastagsága minimális csökkenés ellenére is kétszerese volt. Az antero-posterior dimenzió mellett az ín medio-laterális kiterjedést is vizsgálták. Szemben a legtöbb MRI tanulmánnyal azt találták, hogy az ín medio-laterális kiterjedése szintén növekszik. Ezt az ellentmondást azzal

magyarázták, hogy a terület kezdeti, fokozott ödémája miatt UH-al nehéz pontosan identifikálni az ín széleit. Az ödéma visszahúzódását követően az ín vastagsága is a kezdetire mérséklődött. A középső harmadi defektus részletesebb elemzése során alapvetően két jellemző változást tapasztaltak. Egyfelől a defektus szélessége idővel csökkent, másfelől szerkezete echodúsabbá vált, jelezvén a regeneráció előrehaladását.

Jarvela munkacsoportja hagyományos ultrahanggal morfometriai, power Doppler technikával keringési vizsgálatokat végeztek a donor-területen 10 éves utánkövetéssel [41]. Munkájuk során összefüggést kerestek a donor-területi panaszok megjelenése valamint a területen észlelt morfológiai változások és gyulladásos reakciók között. Azt tapasztalták, hogy a betegek nagy részében még 10 év után is észlelhetők morfológiai elváltozások a patella-ín középső harmadának megfelelően. Ezek jellemzően echoszegény léziók, ínmeszesedések, illetve oszteofita képződés a patella csúcsának közelében. Csupán az esetek 10%-ában nem találtak visszamaradó, UH-al is detektálható eltérést az ín állományában. Power Doppler vizsgálattal nem találtak szignifikáns különbséget a panaszos betegek és a panaszmentes betegek között. Sikerült megfigyelniük azt is, hogy a patella-ín megvastagodása, nem szignifikánsan, de fokozottabb volt azoknál a betegeknél, akik elülső térdfájdalmat panaszoltak. Szintén fontos megfigyelésnek tekinthető, hogy a panaszos betegek között jóval nagyobb számban fordultak elő a térdkalácson oszteofiták, melyek egyértelműen jelzik a kezdődő patello-femorális artrózist. Ez utóbbi jelenség érdekes összefüggésre világít rá, miszerint a patello-femorális régióban jelentkező degeneratív eltérések befolyásolhatják a posztoperatív elülső térdfájdalmat. Következtetésként megállapítják, hogy nincs egyértelmű összefüggés az adóterületi fájdalom és közvetlenül a patella-ínat érintő morfológiai elváltozások között.

Yazdanshenas és munkatársai 23 betegen végezték el a donor-terület UH vizsgálatát 6 hónappal és 1 évvel a patella-ínas elülső keresztszalag plasztika után [42]. Legfontosabb megállapításuk az volt, hogy az esetek 70 %-ában az ín regenerációja 6 hónap után befejeződött és annak szerkezete az ellenoldali ép ínnal megegyezővé vált. A fennmaradó 30 %-ban a gyógyulás 1 évvel a műtétet követően fejeződött be. Megfigyelték továbbá, hogy az ín szerkezetének regenerációjával a donor-területi panaszok is csökkentek. Szerzők véleménye alapján 1 év után az adóterület akár alkalmassá válhat újabb graft kivételéhez, ami azonban ellentmond az előző fejezetben ismertetett javaslatoknak.

### 1.3.3. Szövettani vizsgálat

Az adóterület szövettani vizsgálatával érthető módon csak kis számú humán vizsgálat foglalkozik és az eredmények közel sem egybehangzók. Nixon és munkatársai két beteg esetében vettek szövettani mintát revíziós műtét kapcsán a patella-ín középső harmadából. A primer műtét után eltelt idő átlagosan két év volt [43]. A vizsgálatot polarizációs fénymikroszkóppal végezték és nem találtak érdemi szövettani eltérést a normál ínszövethez képest. Berg nyolc hónappal az oltvány eltávolítása után a defektus területén hipertrófiás ínszerű szövetet észlelt. Battlehner és munkacsoportja minimum 24 hónappal a primer műtét után vett biopsziát 8 betegből [44, 45]. A mintákat hagyományos fénymikroszkóppal és elektronmikroszkóppal értékelték és arra a megállapításra jutottak, hogy több mint két évvel a graft eltávolítása után a szövettani szerkezet a hiánynak megfelelően még mindig nem hasonlít az ép ínszövethez. Egyik ilyen nagyobb esetszámú vizsgálatot Kartus és munkatársai végezték a témában [46]. Munkájuk során a primer műtétet követően 27 hónappal vettek biopsziát a patella-ín középső harmadából. A minták hisztológiai feldolgozása során ugyan ínszerű szövetet találtak, de az egészséges ínszövethez képest fokozott vaszkularizációt és sejtszámot észleltek. Ezen felül a középső harmadi, újonnan képződött rostok lefutása nem volt párhuzamos. (A párhuzamos rostlefutás az ínszövet sajátja, mely a szélső harmadi rostokra jellemző volt). A fent leírt szövettani leletek ellenére nem találtak egyértelmű összefüggést a donor-területi diszkomfort érzéssel. A szövettani vizsgálatok eredményei egybehangzóak abban a tekintetben miszerint ha a patella-ín középső harmadát nem zárták varratokkal a műtét végén, a keletkező regeneratív szövet sokkal inkább magán viseli az ínszövet sajátosságait, szemben azzal ha az ínat egyesítették.

A vizsgálati módszerektől függetlenül az irodalmi adatok tehát nem egybehangzók a patella-ín regenerációját illetően. Emiatt a lágyszöveti regeneráció és a adó területi panaszok összefüggése sem állapítható meg egyértelműen. A patella-ín adó területe mellett ugyanakkor jelentős méretű csont hiányok is visszamaradnak, melyek szintén szerepet játszhatnak a donor-területi panaszok kialakulásában és elhúzódó megnyilvánulásában.

### 1.3.4. A csontos donor-területek regenerációjának vizsgálata

Az előző fejezetek részletezik a donor-területi lágyrészek vizsgálati módszereit, ugyanakkor a csontos struktúrák kontrollja kevésbé jelenti az utánkövetés fókuszát. Ennek oka feltehetően az, hogy a csontok pontos vizsgálata röntgen sugárzást igényel. A hagyományos röntgen felvételek majdnem minden esetben készülnek. A közvetlen posztoperatív időszakban elsősorban a beültetett fém implantátumok helyzetét ellenőrizzük, későbbiekben azonban főleg az esetleges furat kiszélesedések szempontjából van jelentősége. Ezen felvételek információ tartalma azonban a csontos defektusok átépülésének vizsgálatára vonatkozóan csekély. A számítógépes tomográfia (CT) megfelelő módszer, azonban a rutin vizsgálatoknál ionizáló jellegéből fakadó sugárdózis elkerülése miatt nem használjuk. Utóbbi eljárás jelentősége azonban megnő, abban az esetben, ha a donor-területi fájdalom csökkentését a csontos regeneráció elősegítésében látják, melyet a 1.4.6. fejezetben részletezek [12-14].

## 1.4. A donor-területi fájdalom csökkentését célzó technikák

A BPTB technikával végzett LCA plasztika a mai napig széles körben elismert és alkalmazott alternatívája az elülső keresztszalag pótlásának. Egyes szerzők vélekedése alapján a következő időszakban a patella-ínas pótlás reneszánsza várható. Az említett műtéti típus klinikai eredményei a nemzetközi és hazai irodalom alapján is kiválóak, köszönhetően az oltvány elsőrangú biológiai és biomechanikai tulajdonságainak [47-49]. Ugyanakkor közismert hátránya a technikának az esetek 40-60%-ban előforduló donor-területi fájdalom [9, 22, 50]. A szakirodalomban különféle kísérletekről olvashatunk, melyeknek egyértelmű célja az ismert adóterületi szövődmények csökkentése, illetve kivédése, tovább növelve a patella-ínas pótlás létjogosultságát. Jelen fejezet a nemzetközi irodalomban fellelhető megoldási kísérleteket veszi sorra.

### 1.4.1. Ellenoldali graft

Az egyik ilyen kevésbé elterjedt lehetőség az ellenoldali térdből vett középső harmadi patella-ín oltvány beültetése a sérült oldalra. Shelbourne és munkacsoportja erre vonatkozó vizsgálatai igazolták, hogy az említett beavatkozás jelentősen javítja a

rehabilitációt [51-53]. Tanulmányaik alapján az igazolódott, hogy az ellenoldali donor végtagon az izomerő teljes mértékben visszatért érdemi szubjektív panaszok nélkül. Quadriceps izomerő vonatkozásában a műtét előtti állapothoz képest a fogadó oldalon 105%-os, míg az ellenoldalon 115% -os eredményt mértek, jelezvén, hogy a donor-terület izomerő tekintetében megfelelő szintű marad. A vizsgálatok során az általuk alkalmazott rehabilitációs protokoll segítette a regenerációt. Brück 27 beteg esetében használt ellenoldali oltványt. Huszonöt hónapos átlagos követés során azt tapasztalta, hogy a betegek 78% a panasz nélküli, míg a fennmaradó 22% minimális panaszokkal jelentkező kategóriába került jelezvén, hogy a technika két év elteltével nem jár együtt lényeges morbiditással a donor-területet illetően [54]. Mastrakalos viszont a páciensek 70,9%-ánál észlelt adóterületi fájdalmat térdeléskor ellenoldali graft vételét követően [55]. Mivel ez az arány nem mutatott szignifikáns különbséget a kontroll csoporthoz képest (azonos oldali patella-ín graft), a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a módszer alkalmazása nem jár előnnyel a donor-területi fájdalom csökkentésére vonatkozóan.

Elmondható, hogy az ellenoldalról történő patella-ín graft aránytalanul nagy beavatkozással jár és ezzel szemben a donor-területi panaszok tekintetében csak minimális javulást remélhetünk.

### 1.4.2. Minimál invazív graftvételi technika

Gaudot és munkatársai egy új graft vételi eljárást dolgoztak ki az elülső térdtáji régió neurovaszkuláris struktúráinak megkímélésére. A hagyományos eljárással szemben nem egy nagyobb, hanem két kisebb metszést ejtenek. A szerzők módszerüket először kadaveren dolgozták ki, majd klinikai gyakorlatban is alkalmazták az eljárást [56, 57]. A műtéti technika lényege, hogy a hagyományoshoz hasonló előkészítés és fektetés mellett a térdkalács csúcsának és a tuberositas tibiae-nek megfelelően átlagosan 22-25 mm-es metszéseket ejtenek. A két metszésnek megfelelően oszcillációs fűrész segítségével kivágják a megfelelő méretű csontblokkokat. Ezt követően szubkután preparálva a patella-ínról leválasztják és ezzel megkímélik a peritenon réteget és nervus saphaenus infrapatellaris ágát, majd egy dupla pengéjű eszközzel 9-11 mm-es szélességben átmetszik az ínat ezzel komplettálva graftot. Az így nyert oltvány eltávolítása után a műtét a megszokott módon artroszkópos technikával folytatódik, azzal a különbséggel, hogy

ebben az esetben a minimál invazív feltárás miatt az ín középső harmadát nem zárják öltésekkel. A fenti munkacsoport későbbiekben összehasonlító vizsgálatot végzett, ahol az új technikával kivitelezett elülső keresztszalag pótlás középtávú eredményeit vetették össze a hagyományos eljárással, különös tekintettel a posztoperatív donor-területi panaszokra [58]. Vizsgálataik során szubjektív és objektív pontrendszerek segítségével, valamint radiológiai módszerekkel értékelték a kapott eredményeket. A kiértékelés során azt tapasztalták, hogy a minimál invazív, két metszésből elvégzett műtétek esetén elülső térdfájdalom csupán az esetek 19 %-ában jelentkezett, míg a kontroll csoport esetében ugyanez az arány 58 % volt. Szintén fontos hogy, nem mutatkozott összefüggés a nervus saphaenus intraoperatív sérülésének következményeként létrejövő hipesztézia előfordulása és kiterjedése, valamint az elülső térdfájdalom között. Az előbbi megfigyelést megerősítik Tsuda 2001-ben végzett vizsgálatai is [59]. Ezek az eredmények azt igazolják, hogy az említett ideg sérülése nem kizárólagos oka a donor-területi fájdalom megjelenésének. Véleményük alapján a peritenon megkímélésének jelentősége abban állhat, hogy nem sérül annak keringése, így regeneratív kapacitása is kedvezőbb.

### 1.4.3. Haránt irányú metszésvezetés

Ahogyan azt már a korábbiakban ismertettem, a témával foglalkozó szerzők nagy része a donor-területi fájdalomért részben a térdkalácson és a sípcsonton visszamaradó csontdefektust, illetve a saphenus ideg infrapatelláris ágának intraoperatív sérülését teszi felelőssé. Tsuda és munkatársai a fenti problémák kiküszöbölésére a hagyományos hosszanti metszés helyett két darab kisebb haránt metszést alkalmaztak a patella-ín középső harmadának eltávolítására, megelőzve a fenyegető idegsérülést [59].
A proximális haránt metszést a patella csúcsának magasságában ejtették, melynek átlagos hossza 4 cm volt. A metszés két szélén helyezkedtek el a standard arthroszkópos portálok. A disztális metszést a tuberositas tibiae proximális végének magasságában végezték, átlagos hossza 2-3 cm volt. A két metszés között, egy erre a célra kifejlesztett, két párhuzamos pengéből álló szike segítségével, szubkután haladva metszették át a patella-ín középső harmadát, majd oszcillációs fűrésszel rezekálták a csontblokkokat. A femorális és tibiális csatornákat speciális körmarók használatával alakították ki, azzal a céllal, hogy minél több spongiózus csontot nyerhessenek ki a csonthiányok feltöltésére.

Az utánvizsgálatok során azt tapasztalták, hogy az általuk bevezetett módosítások negyedével-ötödével csökkentik a donor-területi panaszok előfordulását. Megfigyelésük alapján haránt metszés esetén jóval kisebb arányban fordult elő a heg kiszélesedése, keloidos elfajulása, ami jelentősen növelte a betegek szubjektív elégedettségét különösen a fiatal nők körében. Korábban az idegsérülésnél megszokott érzészavar előfordulása 93%-ról 17%-ra csökkent a hagyományos technikával szemben, ami jól mutatja, hogy az esetek nagy részében az új eljárásnak köszönhetően sikerült megőrizni az ideg épségét.

### 1.4.4. A patella-ín varrata

Korábban több vizsgálat is foglalkozott a patella-ín középső harmada esetleges zárásának a funkcionális eredményre, illetve a donor-területi panaszok előfordulására gyakorolt hatásával. Cerullo és munkacsoportja prospektív, randomizált vizsgálat keretében a fentiekre kereste a választ 50 beteg bevonásával [60]. Az utánvizsgálat során CT és UH vizsgálat segítségével hasonlították össze a két csoport eredményeit. Arra megállapításra jutottak, hogy 6 hónappal a műtét után abban a csoportban, ahol a donor kivétel okozta hiányt nem zárták, csak minimális patella-ín vastagodás volt mérhető és a hegképződés csak az ín középső harmadát érintette. Ugyanakkor azoknál a betegeknél, ahol szuturát végeztek átlagosan kétszeresére vastagodott a patella-ín és a hegesdés a patella-ín teljes szélességét érintette. Egy másik munkacsoport Brandsonn vezetésével végzett hasonló vizsgálatot [61]. Utóbbi tanulmány inkább az ín szuturájának funkcionális hatásaira összpontosított. Végeredményben nem találtak szignifikáns különbséget a donor-területi fájdalom, stabilitás és patello-femorális panaszok esetében. Összességében elmondható, hogy a nemzetközi irodalomban széles körű konszenzus alapján nem ajánlják a patella-ín középső harmadának varratát donor-területi panaszok csökkentése céljából.

### 1.4.5. Patella-ín allograft beültetés

Az elnevezésből is nyilvánvaló, hogy az allograftok használata esetén nem kell számolnunk adó területi fájdalommal. További előnye a rövidebb műtéti idő, kisebb metszésre van szükség, korlátlan mennyiségű graft áll rendelkezésre és kisebb arányban fordul elő artrofibrózis [62]. Ugyanakkor az allograftok használatának számos hátránya is ismert, úgy mint az oltvánnyal átvitt fertőző betegségek, elhúzódó graft beépülés, kóros

immunválasz és a konzerváló eljárástól függően megváltozott biomechanikai tulajdonságok [63, 64]. A szerzők nagy része egyetért abban, hogy a felsorolt hátrányok és azok kockázata nagyobb annál, mint amit az allograft beültetésével nyerhetünk. Kraeutler és munkacsoportja 5812 betegre kiterjedő metaanalízis során hasonlított össze a két graft (auto- és allograft) eredményeit [65]. A szerzők véleménye szerint az elülső keresztszalag rekonstrukció sikerességének legfontosabb mérőszáma a beteg szubjektív elégedettsége. Kocher megfigyelései alapján a szubjektív elégedettséget jól tükröző Lysholm pontrendszer és szubjektív IKDC kérdőív is szignifikánsan jobb eredményeket mutatott az autograft beültetésen átesett betegek körében [66]. A szerzők következtetésként levonják, hogy fiatal, aktív beteg esetén az alacsonyabb reruptúra arány és a korábban említett magasabb szubjektív elégedettség miatt első választásként autológ oltványok alkalmazását javasolják. Szintén meg kell említeni, hogy ma Magyarországon még nem áll rendelkezésre olyan szövetbank hálózat, mely lehetővé tenné a különféle allograftok rutinszerű használatát.

### 1.4.6. A donor-terület feltöltése

Egyes szerzők és munkacsoportunk gyakorlata alapján a csontos donor-területek autológ csonttal történő feltöltése kedvező hatással lehet az adóterületi fájdalomra, bár azt is láthatjuk, hogy a szakemberek álláspontja ebben az esetben sem egybehangzó [61, 67-69].

A donor-területi fájdalom csökkentését célzó kutatások egyik iránya tehát, olyan anyagok kipróbálása, melyek az adóterületre beültetve fokozzák a szöveti regenerációt. Seijas és munkatársai prospektív, randomizált, kettős-vak vizsgálat keretében tesztelték növekedési faktorokban gazdag plazma (plasma rich in growth factors, PRGF) hatását az adóterületi regenerációra, ezen keresztül a posztoperatív elülső térdfájdalomra [13]. A PRGF-t a betegtől műtét előtt levett vérmintából meghatározott technikával készítették elő. A vizsgálati csoportba tartozó betegek esetében a bőrvarrat után, a műtét utolsó lépéseként, PRGF-t injektáltak a donor-területekre, az ínon keletkezett defektusba és a patelláris illetve a tibiális csontos adóterületre. A kontroll csoport betegeinél az adóterületet üresen hagyták. A betegek kontroll vizsgálatát ultrahanggal végezték. A teljes utánkövetési idő 96 hét volt. Négy hónap után már érzékelhető különbség mutatkozott a kontroll csoporthoz képest. A fenti vizsgálati időpontban a PRGF

csoportban az esetek 52%-ban érett ínszövetet észleltek, míg ugyanez az arány a kontroll csoportban csupán 10% volt. A szerzők nem értékelték a beavatkozás donor-területi fájdalomra gyakorolt hatását, de mivel a donor-területi defektus ismert oka az elülső térdfájdalomnak, így feltételezhetően a terület fokozott regenerációja az adóterületi panaszokra is pozitív hatással volt.

Az előbbi tanulmányhoz sokban hasonló vizsgálatot végzett Cervellin és munkacsoportja, azzal a különbséggel, hogy itt a donor-területre vérlemezkében gazdag plazmát (platelet-rich plasma, PRP) ültettek be [14]. Ebben az esetben a szerzők nem csak az implantált anyag szöveti regenerációt fokozó hatását kívánták mérni, hanem nemzetközi pontrendszerek segítségével a beavatkozás donor-területi fájdalomra gyakorolt hatását is. Utánvizsgálatra objektív módszerként MRI-t használtak, míg a szubjektív panaszok és a funkció megítélésére IKDC, VISA pontrendszereket és vizuál analóg skálát (Visual Analog Scale, VAS) alkalmaztak. PRP hatékonyságát a támasztó- és mozgatószervrendszeri regenerációban korábban már számos vizsgálatban igazolták [70-72]. A teljes utánkövetési idő 12 hónap volt. A vizsgálati csoportban a betegtől a műtét előtt levett vérmintából PRP-t állítottak elő, amit egy speciális eljárással zselé formájában jutattak a donor-területre, míg a kontroll csoportban az adó terület üresen maradt. 12 hónap után nem volt érdemi különbség a csoportok között a vizuál analóg skálán mért eredmények alapján, ugyanakkor a kifejezetten patello-femorális panaszokra összpontosító VISA pontrendszer szerint a PRP-vel kezelt csoportban szignifikánsan jobb eredmények születtek. MRI felvételeket értékelve arra jutottak, hogy a kezelt csoportban fokozottabb volt a csontos donor-területeken észlelt csontképződés, ezzel szemben az ín középső harmadában a PRP beültetése nem hozott ilyen kedvező eredményt. A szerzők összességében alkalmasnak találték módszerüket donor-területi fájdalom csökkentésére.

Egy másik hasonló vizsgálat során Higuchi és munkacsoportja a csontos adó területeket β-TCP-tal töltötte fel, majd 1,3,6 és 12 hónapos utánkövetéssel vizsgálták az adóterületi fájdalmakat és a csontpótló átépülését [12]. MRI-vel, RTG-el, UH-al és szövettani módszerekkel sikerült igazolni a teljes átépülést és a csontos remodellációt, illetve ezzel párhuzamosan csökkenő donor-területi fájdalmat.

A csontos defektusok feltöltése amellett, hogy mérsékeli az adóterületi panaszokat, csökkenti a patella törés veszélyét is [68]. Sharkey és munkacsoportja kísérletes módszerekkel igazolta, hogy a patella csúcsán kialakult defektus fokozza a térdkalács

axiális feszülését ezáltal fokozza a térdkalács törés veszélyét és az elülső térdpanaszokat [69]. Kimutatták azt is, hogy a patella defektusának nagyobb szerepe lehet az elülső térdfájdalom kialakításában, mint a sípcsonton lévő donor-területnek. Megállapították továbbá, hogy az elülső térdpanaszok és a térdkalács adóterületi érzékenység szignifikánsan nagyobb valószínűséggel fordul elő abban a csoportban, ahol a patella csontdefektusa nem került feltöltésre.

### 1.4.7. Csontpótló eljárások

A donor-területi panaszok csökkentése tehát többrétű. A szerzők nagyrészt műtéttechnikai eszközöket alkalmaznak ezek mérséklésére. Az adó területek feltöltésére vonatkozóan az irodalom meglepően szűk. A legtöbb ezzel foglalkozó tanulmány a donor-területet komplexen kezeli, és nem választja szét a csontos és lágyrészdefektusok regenerációját [8-11]. Mindez azért érdekes, mert a betegek utánkövetése során a donor-területi fájdalom leginkább a csont defektusok régióira lokalizálható. A csontdefektusok kezelése ezzel szemben széles irodalommal rendelkezik. Ez annak köszönhető, hogy számos klinikai helyzet adódik, ahol a csontos regeneráció szerepe kiemelt jelentőségű a beteg gyógyulása szempontjából, míg a keresztszalag műtétek célja sokkal inkább a térdízület stabilizálása, és a következményes ízületi kopás elkerülése. A csontpótló eljárások jelentőségét jelzi, hogy 2004-ben 1,5 millió esetben végeztek csontpótlást az Egyesült Államokban [73], gold standardnak továbbra is az autológ csont átültetése számít. Utóbbi technika során élő szövet kerül átültetésre, eredménye pedig a kiváló gyógyhajlam. Hátrányként donor-területi komplikációk jelentkezhetnek, melyek a vérzés, gyulladás és visszamaradó fájdalomérzet lehet [74-78]. Ezenkívül az autograftok használatakor mennyiségi korlátok jelentkeznek, vagyis nagy méretű defektusok esetében is kétséges használatuk.

Érdekes azonban, hogy míg egyéb csontátültetési beavatkozásoknál jól ismertek a donor-területi panaszok, addig az BPTB beavatkozást követően kevésbé hangsúlyos a csontos donor-területek adekvát feltöltése.

Jelen dolgozat terjedelménél fogva nem vállalkozik a modern csontpótló készítmények teljes körű elemzésére, csupán a dolgozat szempontjából lényeges allogén csontpótlók, és azok adjuvánsainak bemutatását célozza meg.

#### 1.4.7.1 Allogén csontpótlók

A csontpótlási eljárásokat az ortopédia, traumatológia és szájsebészeti implantológia is rendszeresen használja. Napjainkban a klinikus számára rendelkezésre álló csontgraftok hatékonyságát korlátozza azok bizonytalan beépülése [79]. Az olyan mineralizált implantátumok, mint a hidroxiapatit élő csontszövetté is átalakulhatnak, de gyakran előfordul, hogy tisztázatlan okból felszívódnak vagy sequestrálódnak [80, 81]. A sikertelen graft beépülés egyik lehetséges magyarázata az oltvány őssejtek ideálisnál lassabb kolonizációja, ami elégtelen csontos remodellációt eredményez [82-84]. Az ideális csontgraft alapvetően jó oszteokonduktív, oszteoinduktív és oszteogenetikus tulajdonságokkal rendelkezik. Oszteokonduktivitás alatt a vázszerkezet ideális fizikai tuljdonságait értjük. A graft oszteoinduktivitása a jelen lévő növekedési faktoroknak, fehérjéknek köszönhető. Oszteogenetikus tulajdonságok az oltványon található különböző sejtekkel, mint az oszteoblasztok, oszteoklasztok vagy mezenhímális őssejtek jelenlétével magyarázható. A felsorolt tulajdonságoknak leginkább frissen nyert autológ csontgraft felel meg [85]. A számos ideális sajátossága ellenére az autológ oltványok felhasználása során gyakran szembesülünk elhúzódó donor-területi szövődményekkel. Szintén hátrányként róható fel, hogy a rendelkezésre álló mennyiség igen csak korlátozott [86]. A klinikai csontpótlás során a második leggyakrabban választott oltvány a xeno- és allogén csontszármazékok [87]. Az allograftok vitathatatlan előnye a gyakorlatilag korlátlan hozzáférés és az adóterületi panaszok hiánya [88, 89]. Ilyenek lehetnek a borjú csont örlemények (Bio-Oss), humán mineralizált allografok és a demineralizált csontmátrixok. Az efféle csontpótlókat csontbankok állítják elő, használatuk a standardizált tisztítási folyamatok miatt biztonságos. Alkalmazásuk során mennyiségi korlát nem jelentkezik, ami kétségtelen előny az autogén csontokhoz képest. Habár a tisztítási eljárásokkal számos csontosodási faktor is eltávolításra kerül, egyértelmű oszteokonduktivitásuk miatt széles körben használják őket nagyobb csonthiányok, tumor rezekció után vagy protézis támasztékaként [89-92].

A demineralizált csontmátrixok esetében lényegében egy kollagén mátrix kerül beültetésre. Ennek előnye, hogy mineralizált mátrixot alig tartalmaznak, így a gazdaszervezetnek nem kell lebontani azt, hanem az újcsont képződés azonnal megkezdődhet. További előnye, hogy az előkészítés során alkalmazott savas hidrolízis kis mennyiségű oszteoindukív anyagok felszínre kerülését (BMP, TGF, IGF)

eredményezi, melyek a csont regenerációt segítik [93, 94]. A DBM-ek használata, éppen a csökkent ásványtartalom miatt, olyan esetekben jön szóba, ahol nem szükséges az implantált résznek azonnali teherviselő stuktúraként funkcionálni. A DBM-eket csontüregek, ciszták feltöltésére, gerincsebészeti artrodézisek, valamint nem gyógyuló törések esetében használják [95-100].

Az utóbbi időben a csontpótlási eljárásokkal szemben támasztott egyértelmű igény a funkcionális gyógyulás, hogy a regenerálódó csontrész mechanikai feladatának mihamarabb eleget tudjon tenni. Az oszteoinduktív és oszteogén ágensek azonban az allogén csontok tisztítási folyamatai miatt eltávolításra kerülnek, éppen ezért merül fel egyre gyakrabban a regenerációs medicina nyújtotta lehetőség, mely a vázanyagok, növekedési faktorok és őssejtek hármas pillérét használva kínál megoldást.

### 1.4.7.2. Regeneratív technikák a csontpótlásban

A regeneratív medicina viszonylag új tudományágnak számít. A fogalmat először Leoland Kaiser említi 1992-ben, melyben a regenerációs medicina céljaként a szövetek funkcionális gyógyulását jelöli meg [101]. Manapság leginkább a vázanyagok, növekedési faktorok és őssejtek segítségével kidolgozott laboratórium technikákat jelenti, mely iránt a klinikai tudományok kifejezett igényt mutatnak. A regeneratív metódusok alkalmazása a csontpótlás területén kifejezetten széles körű irodalommal bír. A vázanyagokat, mint például az allograftokat régóta használják, melyek hordozó felületként oszteoinduktív ágensek bejuttatására is alkalmasak [102]. Utóbbi technikák azonban csak a közelmúltban terjedtek el.

#### 1.4.7.2.1. Növekedési faktorok

A növekedési faktorok feladata a csontosodási folyamatokban a progenitor sejtek migrációjának és differenciációjának elősegítése, a sejtek szaporodásának szabályozása, valamint az extracelluláris mátrix termelésének irányítása [103]. Történelmi szempontból kiemelt jelentőséggel bírtak Urist és munkacsoportjának 1965-ben és 1971-ben publikált közleményei [104, 105]. Kísérleteik során demineralizált csontmátrixot ültetett harántcsíkolt izomzatba, és ektópiás csontképződést tapasztalt. Mindez felvetette az osztoinduktív molekulák létezését. A csontregenerációs vizsgálatokban manapság

kísérleteket folytatnak az érújdonképződést segítő VEGF-fel, valamint felmerül az IGF használatának lehetősége is, mely a regeneratív folyamatok mediátoraként jön szóba [106-108]. A csontosodási folyamatok elősegítésében ugyanakkor a TGF-beta szupercsalád, ezen belül is a csont morfogén fehérjék (BMP) felhasználásának lehetősége a leginkább kutatott terület. A BMP-k feladata például csontsérülést követően a mezenhimális őssejtek aktivációja, az oszteo- és kondroblasztok differenciációja és az extracelluláris mátrix képződésének elősegítése [109-111]. A BMP-2, BMP-4 és BMP-7 robusztus csontképző hatásait számos ortopédiai és maxillofaciális tapasztalat igazolja [112-118]. A kezdeti lelkesedés a molekula használata iránt, azonban csökkent. Mellékhatásként jelentkezett az ektópiás csontképződés, komoly szövődményeket eredményezhet például gerincfúziós eljárásokban [119, 120]. A BMP-k proinflammatikus hatásai pedig lágyszövet duzzanatot, és következményes gyöki tüneteket eredményezhetnek rövid távon is [121, 122]. Irodalmi adatok szerint a BMP fő hatásai mint a kemotaxis és vaszkuláris invázió monocita infiltrációt eredményez. Ennek következménye a gyulladásos citokinek lokális koncentrációjának megemelkedése, ami magyarázatot adhat a mellékhatások kialakulására [123-126]. A BMP-k kétségtelenül erős csontképzők, azonban a növekedési faktor lévén nem csupán egy egyszeri, lecsengő hatással kell számolni, mint a hagyományos gyógyszeripari készítmények esetében. A nem megfelelően meghatározható koncentráció viszonyok pedig a beinduló szignáltranszdukciós folyamatok feletti kontrollvesztést, és következményes mellékhatásokat eredményezhetnek. Emiatt érthető, hogy a BMP iránti kezdeti lelkesedés alábbhagyott.

#### 1.4.7.2.2. Őssejtek

Az exogén sejtek csontosodást segítő hatásának vizsgálatát nagy tudományos érdeklődés övezi. Ennek motivációja szintén a minél tökéletesebb és gyorsabb regeneráció elérése. Az őssejtek humán alkalmazása azonban komoly etikai és minőségbiztosítási kérdéseket feszeget, emiatt elterjedésük várat magára. Az *in vitro* előállított sejteket, növekedési faktorokat tartalmazó csontpótlókat vizsgáló irodalom rendkívül tág. Az ilyen graftok hasznosságát számos rágcsáló modellben bizonyították [127-132]. Fontos indikáció és megoldandó probléma a kritikus méretű csonthiányok pótlása, melyet az őssejtekkel támogatott technikák segítségével nagyobb testű állatokon is sikeresen hajtották végre

[133-135].

Humán felhasználásban elsősorban a könnyen elérhető csontvelő segítségével végeznek beavatkozásokat, azonban ennek irodalma még csekély. Egy három beteget érintő tanulmányban csöves csontok 4-7 cm-es hiányait töltötték fel csontvelővel dúsított hidroxi-apatittal. A beavatkozások eredményeként a csontpótlók beépültek, a kezelt végtagok funkcionálisan gyógyultak [136]. Marcacci 4 beteget kezelt ugyanezzel a technikával, szintén eredményesen [137]. Felmerül ugyanakkor, hogy nem kritikus méretű csonthiányok esetében szükséges-e exogén sejteket bevonni, ugyanis a csontvelő és a perioszteum is könnyen aktivizálható őssejtpopulációval rendelkezik. Ezt bizonyítja, hogy nem gyógyuló törések esetén autológ csontvelő perkután beültetése eredményes terápiának bizonyul [138, 139]. Tény azonban, hogy a kritikus méretű csonthiányok begyógyításához a szervezet saját regenerációs potenciálja nem elegendő, ennek megoldása tehát a vázanyagok, növekedési faktorok és esetlegesen sejtek bevonását alkalmazó regeneratív medicina feladata lehet.

#### 1.4.7.2.3. Vérfrakciók

Az előbbiekben említett növekedési faktorok rekombináns formában kerülnek forgalomba. A megfelelő és elegendő lokális koncentráció megválasztása ugyanakkor kihívásokkal teli, emiatt a mellékhatások megjelenése sem elenyésző. Talán ez is oka lehet annak, hogy a tudományos figyelem a vérfrakciók irányában is megjelent. A módszer lényege, hogy vérvételt követően centrifugálási lépesekkel különféle szeparátumokat hoznak létre, melyek adjuvánsként használhatók. Az egyik legismertebb ilyen készítmény a trombocitában gazdag plazma (PRP). A PRP a fiziológiásnál jóval nagyobb koncentrációban tartalmaz vérlemezkéket, melyek jelentős fehérje, növekedési faktor, citokin rezervoárok. A PRP így nagy koncentrációban tartalmaz például thrombocita-eredetű növekedési faktort, a transzformáló növekedési faktort, a β-fibroblaszt növekedési faktort, az inzulin-szerű növekedési faktor-1-et, vagy a vaszkuláris endotheliális növekedési faktorokat [140]. A vér szeparátumot a kívánt lókuszra juttatva az említett ágensek lokális koncentrációja megnő, ami kedvezően befolyásolja a regeneratív folyamatokat is [141, 142].

A vérfrakciók kedveltsége abból fakadhat, hogy a hatóanyagokat fiziológiás összetételben, mégis magasabb koncentrációban tartalmazzák. Mindez feltételezi, hogy a

regeneráció fiziológiás folyamatok megerősödésével javul, és nem csupán egy-egy szignáltranszdukciós momentum beindítása jellemzi. A PRP-t a muszkuloszkeletális regeneráció több területén is használják, például tendinózis, vagy korai oszteoartrózis kezelésében [143, 144]. A csontpótlás területén is kedvelt adjuváns. Gianakos összefoglaló közleménye hosszú csöves csontok pótlásában elemzi a PRP hatásosságát [145]. Az általa vizsgált tanulmányok 100%-ában szignifikáns csontképződést találtak, 80 %-ban microCT vizsgálatokkal igazolt csonttömeg növekedés mutatkozott.

A vérfrakciók ugyanakkor heterogén anyagok, köszönhetően a különböző izolálási protokolloknak,, valamint a donorok egyéni variabilitásának [146, 147]. A szeparálás során továbbá arra sem nyílik lehetőség, hogy a készítmények csupán a kívánt hatást kedvezően befolyásoló anyagokat tartalmazzák. Feltételezhetjük, hogy nem csupán a jótékony hatású molekulák kerülnek dúsításra, hanem adott esetben a gátló vagy ellentétes hatás jut érvényre. Példaként említhető Lee tanulmánya, melyben a PRP hatásait vizsgálta meniszkusz sértést követően nyulakban. Eredményei szerint inkább a katabolikus folyamatok kerületek előtérbe főként az IL-1α révén, valamint in vivo körülmények között a meniszkus defektus fibrotikus átalakulása érvényesült [148]. Intenzíven vizsgálják a PRP sejtes összetételének jelentőségét is. Egyesek szerint a magas fehérvérsejt tartalom IL-β és katabolikus citokinek közvetítésén keresztül fokozott gyulladásos választ indíthat, ami ronthatja a gyógyulást [149, 150]. Hasonlóképpen kedvezőtlen lehet, ha a készítmény a sejtek de-differenciációját eredményezi, melyre porcsejtek esetében több irodalmi adat is rendelkezésre áll [151, 152]. A PRP-vel kapcsolatos aggályokat a témában készült összefoglaló közlemények is említik, és felvetik a további vizsgálatok jelentőségét [141, 153, 154].

Munkacsoportunk is tapasztalta a PRP heterogenitása miatti nehézségeket (nem publikált adatok). Feltételeztük, hogy egy homogénebb, tisztább, ismertebb összetételű készítmény segítségével kiszámíthatóbb eredményeket kaphatunk, miközben a technika biokompatibilitását nem adjuk fel. Éppen ezért fordult a figyelmünk a vér és így a vérfrakciók egyik fontos fehérjéje az albumin felé.

### 1.5. Az albumin szerepe a regeneratív medicinában

Az albumin molekula számos kedvező hatását használják manapság például a sejtkultúra gyakorlatban, mivel adalékként kedvező hatást gyakorol a sejtek proliferációs aktivitására [155, 156]. A fehérje számos specifikus és nem-specifikus kötőhellyel is rendelkezik, ezáltal tápanyagok, fehérjék, hormonok transzportját végezi, valamint a toxinok és szabadgyökök megkötésével javítja a sejtek túlélését is [157-160].

Az albumin nem csupán adalék formájában, hanem vázanyagok alapanyagaként is foglalkoztatja a regeneratív medicina kutatóit. Az alapvetően globuláris fehérje fibrilláris formáját alkalmazva hálós vagy akár tubuláris struktúrák hozhatók létre. Az így kapott anyagok biokompatibilitása nem változik, gyorsan lebomlanak és csupán minimális szöveti reakciót indukálnak [161, 162]. Albumin vázszerkezet keresztkötött formában és hidroxi-apatit kerámiák adalékaként is ismert, szintén kedvező biokompatibilitási profillal [163-165]. Utóbbi esetben az albumin kedvező oldódási dinamikája és transzport funkciója lehetővé teszi gyógyszerek bejuttatását is, melynek hasznossága oszteomielitis kezelésében lehet jelentős [164].

Az albumint korábban anti-adhezív molekulaként tartották számon. Feltehetően ez az oka, hogy különböző anyagok albuminos bevonásával csökkenteni lehet különböző baktériumok kolonizációját. Hermann vizsgálataiban poli-metil-metakrilátot vont be albuminnal, ami teljesen megakadályozta S. aureus és más koaguláz negatív törzsek megtapadását [166]. Hasonlóan kedvező eredmények mutatkoznak titán felületek albuminos kezelését követően P. aeruginosa és S. aureus törzsekkel szemben [167-169]. Az albumin bevonat poli-sztirén anyagok felületén is megakadályozza az E.coli és S. pneumoniae kolonizációját [170, 171]. Az említett anyagok csontpótlásban használatos implantátomok, timpanoplasztikai csövek vagy éppen húgyúti katéterek alapanyagát képezik, emiatt jelentős, hogy az albumin csökkenteni tudja a baktériumok megtapadását. Érdekes, hogy amíg a prokarióta sejtek jelenlétét csökkenti az albuminos felület, eukarióta sejtek megtapadását elősegíti. Bernards hidroxi-apatitot vont be albuminnal, melyre az oszteoblasztok nagyobb számban tapadtak, mint az osteopontin és szialoprotein felületre [172]. Hasonlóan kedvező eredmény található Liu publikációjában is, melyben megállapította, hogy az albuminnal bevont titán nanocsövekre nagy számú gingivális fibroblaszt tapad [173]. Az eukarióta sejtek kitapadására vonatkozólag az irodalom szegényes, viszont a jelenség fontos része lehet az albumin hatásmechanizmusának.

### 1.5.1. Az albumin, mint aktív molekula a csontregenerációban

A csont gyógyulási folyamatait vizsgáló publikációk közül több is feltételezi az albumin aktív szerepét a regenerációban. Különösen érdekesek azok az in vitro vizsgálatok, amelyek progenitor sejtek megtapadását vizsgálják. Feltételezhetően az albumin in vivo körülmények között is hasonlóan viselkedik. Ennek köszönhetően a jelentősen fokozhatja a lokális progenitor sejtek számát, így gyorsítva a szöveti regenerációt. Gallego úgy vélekedik, hogy ha már jelen vannak a sejtek, az albuminos felület kedvező miliőt biztosítva támogatja az oszteoblasztok aktivitását is [174]. A fenti szerző másik fontos eredménye szerint alveoláris oszteblasztok alkalmazása során ektópiás csontosodást figyelt meg in vivo körülmények között [175]. Gallego további közleménye szerint exogén sejtekkel támogatott albuminos szkaffold kritikus méretű csontdefektus teljes regenerációját segítette elő 8 hét után, melyből arra következtethetünk, hogy az albuminos vázszerkezet nem gátolja a mineralizációt [163]. Mueller és munkacsoportja az albumint a hidroxiapatit strukturális változtatására használta, azonban az albuminnal kezelt vázszerkezet fokozott csontosodást eredményezett a lizozimmel dúsított szkaffoldhoz képest [164]. Habár ez csupán melléklelet, mégis felveti annak lehetőségét, hogy az albumin aktív részese a csontregenerációs folyamatoknak.

Annak ellenére, hogy több közlemény felveti az albumin aktív szerepét a csontszövet gyógyulási folyamataiban, a hatásmechanizmusa nem ismert pontosan. Yamaguchi és munkatársai kimutatták, hogy csonttörést követően megemelkedik a lokális albumin koncentráció [176]. Megvizsgálták az albumin hatását sejttenyésztő oldat adalékaként csont explantátumokon és arra a megállapításra jutottak, hogy az albumin fokozza a csont explantátumok DNS és calcium tartalmát. Monolayer kultúrák vizsgálatával igazolták azt is, hogy mind a mezenhimalis őssejtek mind az oszteoblasztok képesek albumint előállítani, míg korábban ezt csak a hepatociták kizárólagos jellemzőjének tartották. További vizsgálatokkal bizonyították, hogy albumin hatására fokozódik az oszteoblasztok proliferációja, ami magyarázat lehet a csontexplantátumok növekvő DNS tartalmára is. A munkacsoport megállapította azt is, hogy az albumin hatásai megszüntethetők MAP kináz inhibitorrokkal, vagy ha gátoljuk a sejtek transzkripciós és transzlációs tevékenységét. Munkájukban arra a konklúzióra jutottak, hogy az albumin extracelluláris hírvivő molekulaként funkcionál, azonban konkrét receptort vagy hatásmechanizmust ezidáig nem sikerült igazolni.

Összességében megállapítható, hogy a csontregenerációban megnő a lokális albumin koncentráció, ami az oszteoblasztok szaporodását elősegítve pozitív feedback jelleggel további albumin expressziót indukál. A fentiekből arra a következtetésre juthatunk, hogy terápiás célzattal albumint juttatva a regenerálódó csontszövethez, fokozható az endogén sejtek aktivációja és proliferációja. Az albumin hatás lecsengése után pedig a differenciációs folyamatok veszik át a vezető szerepet, azonban jelentősen nagyobb sejtszám áll rendelkezésre ehhez, ezáltal gyorsabb szöveti regeneráció érhető el [177]. Az albumin csontregenerációt elősegítő hatása kutatócsoportunk érdeklődését is felkeltette. A következő fejezetek korábbi *in vitro* és *in vivo* eredményeinket mutatják be.

### 1.5.2. Az albumin hatásai az őssejtfunkcióra – *in vitro* körülmények között

Az előző fejezetek az albumin eddig kevéssé ismert tulajdonságait vizsgálták, valamint felvetették a fehérje aktív szerepét a csontregenerációs folyamatokban. Mindezek alapján felmerült, hogy az albumin adjuvánsként használható lenne csontpótló eljárásokban. A regeneratív folyamatok, így a csontgyógyulás kulcsszereplői a progenitor sejtek, melyek transzdifferenciációval, parakrin faktorokkal segítik a sérült szövet újraépülését. Feltételezésünk az volt, hogy az albumin ezen folyamatok támogatásával javíthatja a regeneráció minőségét és gyorsaságát. Tekintettel a progenitor őssejtek kiemelt szerepére, elsőként ezek viselkedését tanulmányoztuk potenciális csontpótlókat albuminnal bevonva.

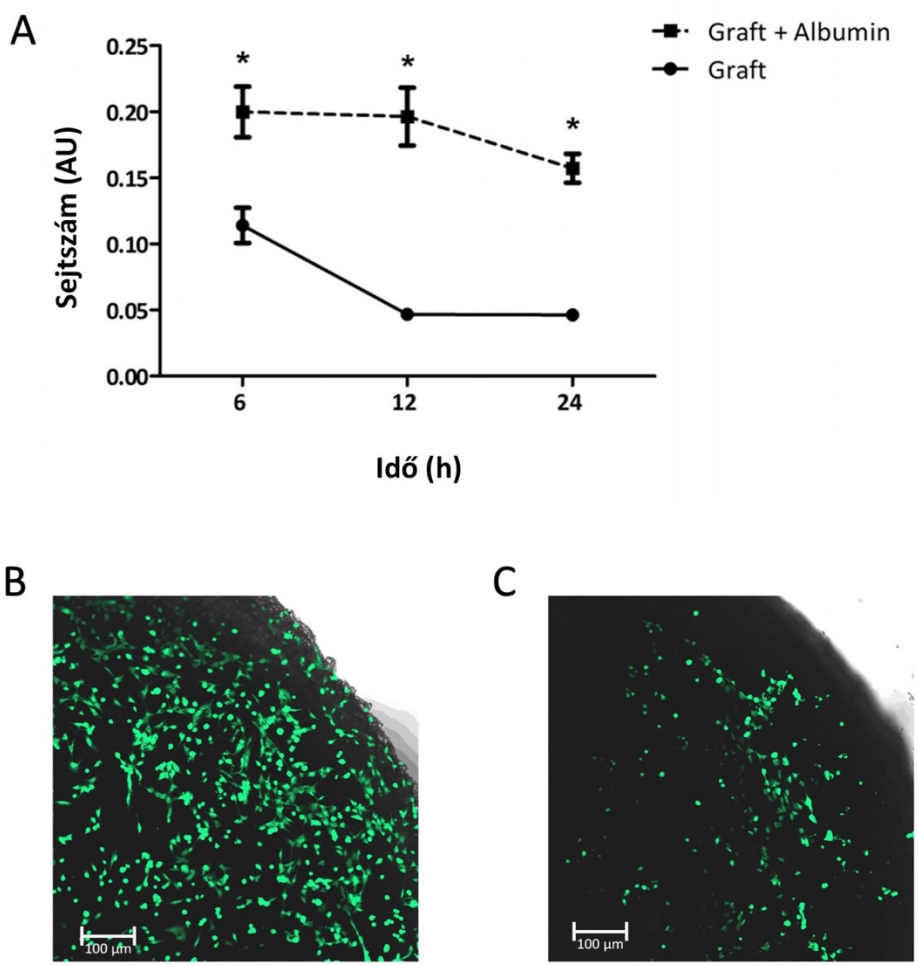
A vizsgálatokhoz humán csont eredetű mezenhimális őssejteket (BMSC) használtunk, melyeket fiatal (2-20 éves) donorokból nyertünk rutin ortopédiai beavatkozások melléktermékeként. A csontvelői sejteket standard sejtkultúra gyakorlattal tenyésztettünk, majd flow-citometriás eljárással igazoltuk mezenhimális jellegüket (CD73, CD90, CD105, CD 166) [178].

Elsőként a BMSC-k adherenciáját vizsgáltuk különböző vázanyagok fagyasztva-szárított humán allograft és borjú spongiózus csontgraft, valamint porózus hydroxiapatit esetében. Összesen három kísérleti csoportot hoztunk létre: az első csoportban a bevonat nélküli graftok kaptak helyet (három különböző típus – humán allograft, BioOss, hydroxyapatit), melyekhez előkészítés nélkül adtuk hozzá a BMSC-ket, a második csoportban a három graft típust külön-külön három eltérő fehérje oldatba helyeztük (fibronectin, humán albumin, I. típusú kollagén) és azt követően adtuk hozzá a sejteket. A harmadik

csoportban a graftok felszínére liofilizálással stabilizáltuk a vizsgált fehérjéket és ezt követően ültettük ki az őssejteket az oltványokra. A fluoreszcens membránfestékkel (Vybrant DiD) jelölt sejtek életképességét és proliferációját 18 napon keresztül figyeltük meg.

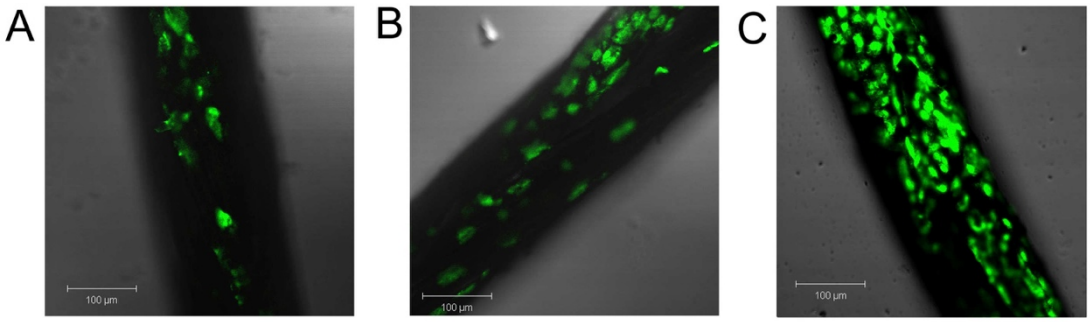
Vizsgálatunk során a következőket találtuk: a sejtek átmenetileg kapcsolódtak a bevonat nélküli humán liofilizált allograftok felszínéhez, a vizsgálat során folyamatosan csökkent a számuk és a 18. napra teljesen eltűntek az oltvány felszínéről. Amennyiben a liofilizált graftokat fibronectint vagy I. típusú kollagént tartalmazó oldatban áztattuk a BMSC-k graftra telepítése előtt, úgy a sejtek kezdeti megtapadása a felszínen mérsékelten növekedett a bevonat nélküli graftokhoz képest, azonban a 18. napra a sejtek eltűntek a felszínről. A humán szérum albuminban áztatott allograft jelentősen fokozta a kezdeti BMSC kötő képességet a fibronectinhez, az 1. típusú kollagénhez, vagy a bevonat nélküli grafthoz képest, azonban a BMSC-k nem volta képesek proliferálni, így a 18. napra eltűntek az oltványról. A korai BMSC megkötő képesség lényegesen nem változott akkor sem, ha az albumint fagyasztva szárítással rögzítettük a humán allografthoz, azonban a 18. napra a korábbiakkal szemben nőtt a sejtek száma, jelezvén, hogy a kitapadt sejtek proliferációra képesek. Ezzel szemben a fibronectin és az 1. típusú kollagén esetében a liofilizálás nem hozott változást a sejt megkötő képességben. Az allograft mellett vizsgált másik két graft típus (liofilizált spongiózus borjú csontgraft, hydroxyapatit) felszínén nem sikerült fehérje bevonat képzésével őssejtek megtapadását elősegíteni akkor sem, ha albumint használtunk. Fontos megfigyelésnek tartottuk, hogy az albuminos felületen 18 nap elteltével szignifikánsan magasabb volt a sejtek száma, ebből arra következtettünk, hogy az albumin nem csupán sejtek iniciális kitapadását támogatja, hanem kedvező környezet biztosít azok túléléséhez, mi több szaporodásához is. Megjegyzendő továbbá az is, hogy mindezt csupán a fagyasztva szárítással kezelt graftokon tudtuk kimutatni, ami feltételezi, hogy az sem mindegy, milyen mennyiségű fehérje áll rendelkezésre.

Az albumin kezdeti kitapadásra gyakorolt hatása azonban további vizsgálatot igényelt. Horváthy kísérleteit az hasonlóan végezte (3. ábra). Patkány demineralizált csontmátrixot és patkány mezenhimális sejteket használva rámutatott, hogy az őssejtek szignifikánsan magasabb sejtszámban találhatók meg 6, 12, és 24 óra elteltével a fagyasztva szárítással előállított graft felületén, mint a kezeletlen csontmátrixon [179].




**3. ábra** Mezenhimális őssejtek kitapadása demineralizált csontgraftok felületén. Az A panel a kitapadt sejtszámot szemlélteti 6, 12, és 24 óra elteltével albuminnal bevont (graft +albumin) és bevonat nélkül graft (graft) esetében. A B és C panel fluoreszcens mikroszkópiával készült felvételeket mutatja 12 óra elteltével. Zöld szín jelöli a kitapadt sejteket. A B panel az albuminos, a C a bevonat nélküli felületet ábrázolja.

Horváthy ezenkívül poly-glactin varróanyagok felületén is vizsgálta az albumin bevonat kitapadást segítő hatásait és megállapította, hogy az albumin 48 óra elteltével szignifikánsan magasabb sejt kitapadást eredményezett, mint a fibronectin vagy a poli-l-lizin bevonat esetében [180]. Utóbbi fehérjék adhéziós tulajdonságai jól ismertek. A varróanyagokat tovább vizsgálva, 168 óra elteltével a sejtszám tovább emelkedett. Ekkorra a sejtek teljesen betöltötték a varróanyag által biztosított felületet. Ebben a kísérletsorozatban 48 óra elteltével sejttenyésztő oldat csere történt, ami a ki nem tapadt sejteket eltávolította, bizonyítva, hogy a sejtszám emelkedés a már kitapadt sejtek szaporodásából fakad (4. ábra). Mindez bizonyítja, hogy az albuminos felület kedvező környezetet biztosított a sejtek kitapadásához, túléléséhez és szaporodásához, és alátámasztja az előzőekben említett 18 napig tartó kísérleteinket is [180].



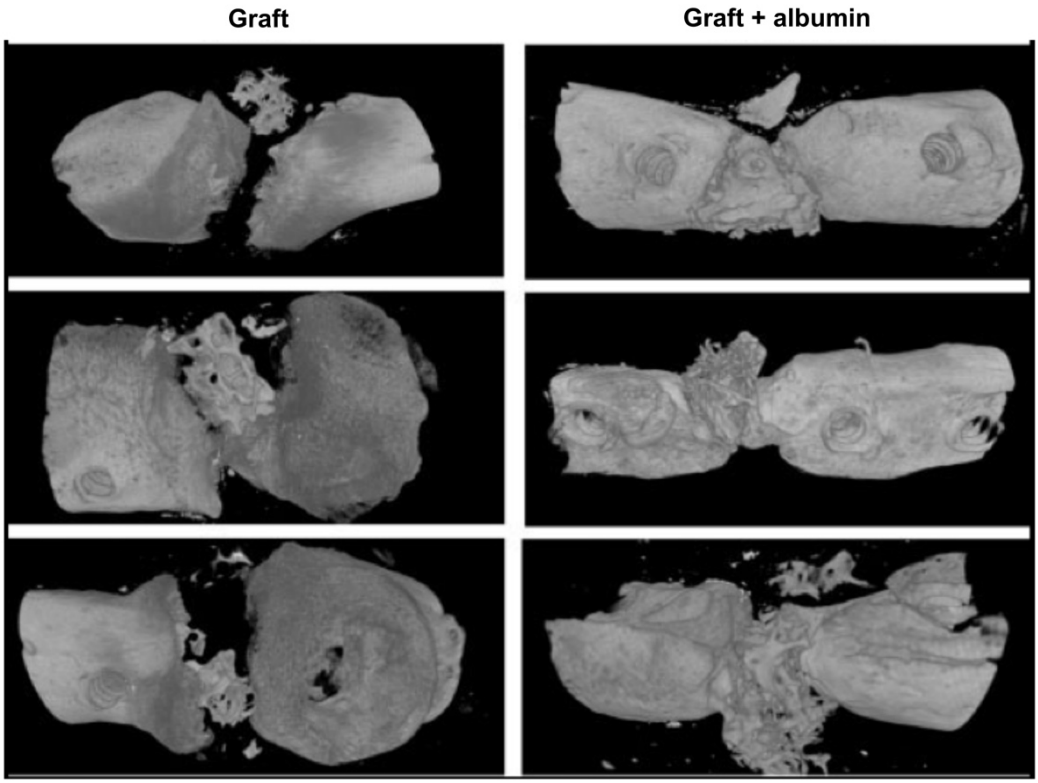

**4. ábra** Fluoreszcens mikroszkópos kép az albuminnal bevont fonalakra tapadt sejtekről. Zöld szín jelöli a sejtmagokat. Az A panel a 24 órás, a B a 48 órás, a C a 168 órás állapotot tükrözi.

### 1.5.2. Korábbi in vivo eredmények és tapasztalatok az albumin bevonatú csontpótlókkal

#### 1.5.2.1 Non-union és kritikus méretű csonthiányok feltöltése patkány femuron

In vitro vizsgálatokat követően a fenti eredmények alapján legeredményesebbnek bizonyuló konstrukciót, a humán albuminnal liofilizált csont allograftot vizsgáltuk tovább in vivo körülmények között. Ennek eredményeképpen nem gyógyuló, segmentális csontdefektusokat töltöttünk fel patkányokban. A csontdefektusokba kezeletlen és albuminnal kezelt allograftokat ültettünk. A csontos átépülést 4 hét elteltével µCT-vel

értékeltük (5. ábra), és azt találtuk, hogy az albuminnal kezelt csoportban szignifikánsan nagyobb volt a fogadó csontvégek felőli újcsont képződés [178]. A kísérlet előzetes jellege és a csoportok alacsony elemszáma miatt azonban további vizsgálatokra volt szükség.




**5. ábra** *Ex vivo* micro CT felvételek patkány femur non union defektus gyógyulásáról. A bal oldali oszlopban bevonat nélküli, a jobb oldali oszlopban albuminos graft beültetés utáni regeneráció látható.

A kísérletsorozat folytatásaként egy nagyobb elemszámú vizsgálatot végeztünk, melyben kritikus méretű és non-union patkány femur defetusokat töltöttünk fel. Kísérleteinkbe összesen 39 felnőtt, hím Wistar patkányt figyeltünk meg. Az állatokat 6 csoportba osztottuk.

Az I.-III. csoportban hagyományos critical size modellt alakítottunk ki: a patkányok femurján egy 6 miliméteres oszteoperioszteális defektust hoztunk létre, a csontot lemezes-csavaros oszteoszintézissel fixáltuk, majd az állatokat 4 hét után áldoztuk fel. I. csoportban a kialakított csonthiányt üresen hagytuk, a II. csoportban felületkezelés

nélküli, míg a III. csoportban albuminnal felületkezelt allograftokat ültettünk a defektusba.

A IV.-VI. csoportokban a munkacsoportunk által kidolgozott interpozíciós modellt használtuk [181]. Ennek során a patkányok femurján lemezes-csavaros rögzítés mellett 2 milimméteres oszteoperioszteális szegmenthiányt hozunk létre, melybe polimetil-metakrilátból készített távtartót helyezünk, amely gátolja a spontán csontregenerációs folyamatokat. 4 hét elteltével ismételt beavatkozás során a csontcement távtartót eltávolítottuk, és a defektust az I-III. csoportokhoz hasonlóan üresen hagyjuk vagy a kitöltjük a vizsgálni kívánt oltvánnyal. Az állatokat a második beavatkozás után 4 héttel áldoztuk fel. A műtétek során szövődményt nem észleltünk, az állatok gyógyulása zavartalanul zajlott. A beültetett fémanyagok és a vizsgált graftok kimozdulását nem észleltük, szeptikus komplikáció nem lépett fel. A csontosodási folyamatokat az állatok feláldozását követően mikroCT segítségével értékeltük.

A vizsgálati eredmények azt igazolták, hogy az albuminnal liofilizált spongiózus csontblokk jelentősen fokozza a csontgyógyulást interpozíciós csontdefektus modell esetében. Ezt mutatta a VI. csoport (interpozíciós csontdefektus modell+ albuminos graft) melyben 75 %-os gyakorisággal jött létre csontgyógyulás, szemben az V. csoport (interpozíciós csontdefektus modell+ bevonat nélküli graft) 35 %-os eredményével.

Az I-III. csoportokban, ahol a critical size defect (CSD) modell került alkalmazásra, a csontgraftok albuminos bevonata érdemben nem befolyásolta a csontosodási folyamatokat a vizsgálat 4 hete alatt. A mérések azt mutatták, hogy az oszteotómiás résben mért relatív csontmennyiség értéke a II. csoportban, ahol bevonat nélküli gratokat használtunk, közel ugyanakkora volt, mint a III. csoportban, ahol az oltványokat albuminos kezelésnek vetettük alá. A morfometriai mérések vizsgálata során szignifikáns különbséget találtunk a csoportok között. Ennek ellenére a mérési eredmények és a beültetett graft típusa vagy a defektus gyógyulása között konzekvens összefüggést nem tudtunk igazolni. Érdekes jelenség, hogy jóval gyakrabban fordult elő a graft felszívódása az albuminos csoportban (III.), mint a bevonat nélküli csoport állatainál (II.). Irodalomból ismert jelenség, hogy a graftok implantálását követően az oltvány beépülése, valamint a defektus konszolidációja a reszorpciós és csontépítő folyamatok kölcsönhatásaként jön létre [182]. Ezek alapján a fenti eredményeket úgy is magyarázhatjuk, hogy a minden más csoportnál gyakrabban előforduló reszorpció a

felgyorsult csontregenerációs folyamatok következménye, azonban a csontfelépítés-csontlebomlás egyensúlya eltolódott a reszorpció irányába és ez vezetett az oltványok felszívódásához.

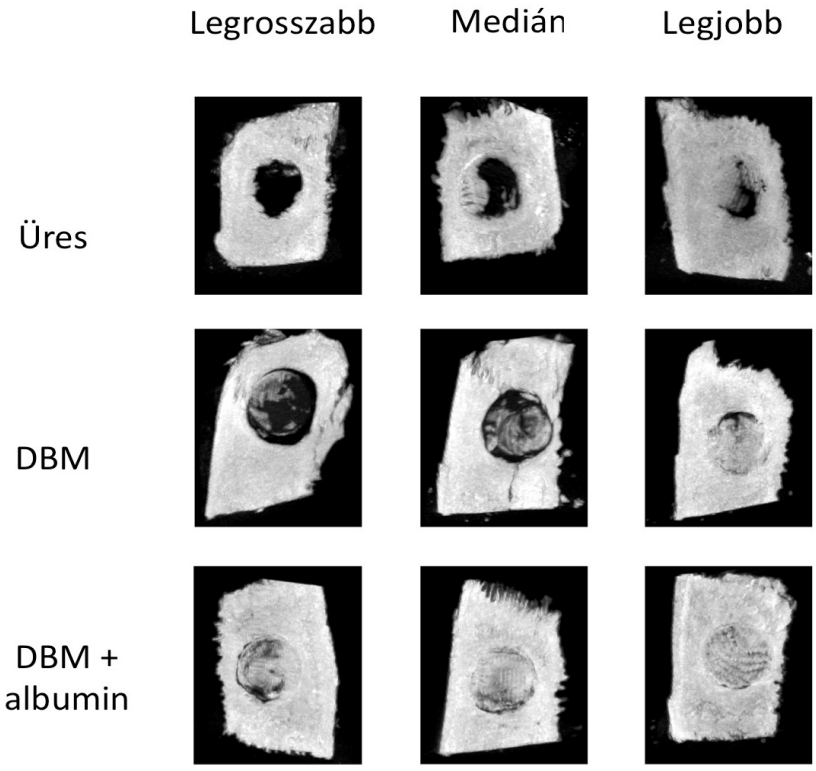
### 1.5.2.2. Kritikus méretű kálvária defektus: fiatal egyedek vizsgálata

Mint az már a korábbi fejezetekben tárgyaltuk a különböző csont allograftoknak előkészítés során számos fizikai és kémiai kezelésen kell keresztülmenniük [183]. A preparáció előnye, hogy elpusztulnak a fertőző ágensek és csökken az oltvány antigenitása. Hátránya viszont, hogy az oszteoinduktivitásért felelős fehérjék nagy része denaturálódik és az oszteogenetikus sejtek is elpusztulnak.

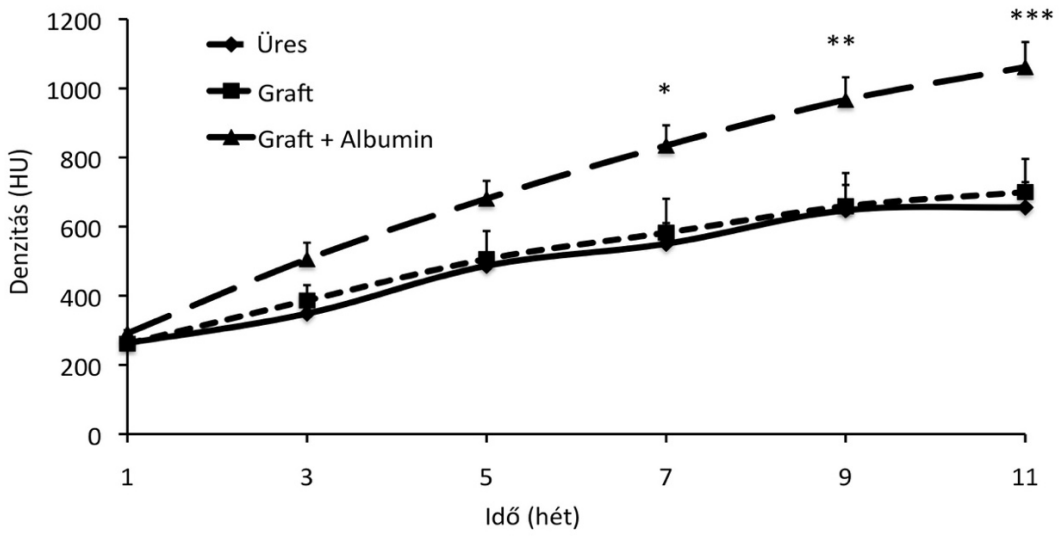
A DBM oszteoinduktívitásának fokozására az egyik lehetőség ha az előkezelések során elvesztett csontosodást támogató ágenseket pótoljuk beültetés előtt. Bízván abban, hogy az albumin nem csupán mineralizált graftok beépülését segíti, DBM-al is kísérleteket végeztünk. Ennek célja a csontosodás időbeni követése, és a képződött újcsont precízebb vizsgálata volt. Horváthy és munkatársai előzőekhez hasonlóan hím Wistar patkányokat használtak [179]. A kísérletek során az állatok mindkét parietális koponyacsontján egy-egy kör formájú 4 mm átmérőjű, kritikus méretű csontdefektust alakítottak ki. A csonthiányokat az adott vizsgálati csoportnak megfelelően különböző kezelésnek vetették alá. Az egyik vizsgálati csoportba a defektust patkányból származó, albuminnal liofilázált DBM koronggal töltötték ki, míg a másik csoportba felületkezelés nélküli graftok kerültek. A kontroll csoportban a csonthiányokat üresen hagyták (6. ábra). A sebészeti beavatkozást követően 1,3,5,7,9 és 11 héttel in vivo számítógépes rétegvizsgálatot (CT) végeztek. A 11. hét elteltével az állatokat feláldozása után eltávolították a mindkét parietális csontot. Ezeken a csontdarabokon ex vivo mikroCT vizsgálatot, majd biomechanikai töréstesztet végeztek.

A rekonstrukciós CT felvételekből mérhető volt a csonthiányok denzitása is. Az első héten végzett mérés során egyértelmű csontdefektusokat találtak. A kísérleti csoportok között nem volt jelentős különbség. A harmadik és ötödik héten végzett CT vizsgálat szerint a csontosodás minden kísérleti csoportban megindult, a denzitás értékek növekedtek. Az albumin bevonatú graftokkal kezelt csoport magasabb denzitás értéket produkált, azonban szignifikáns eltérés nem volt kimutatható. A hetedik hétre az albuminnal kezelt csoport és a másik két csoport között szignifikánssá vált a különbség:

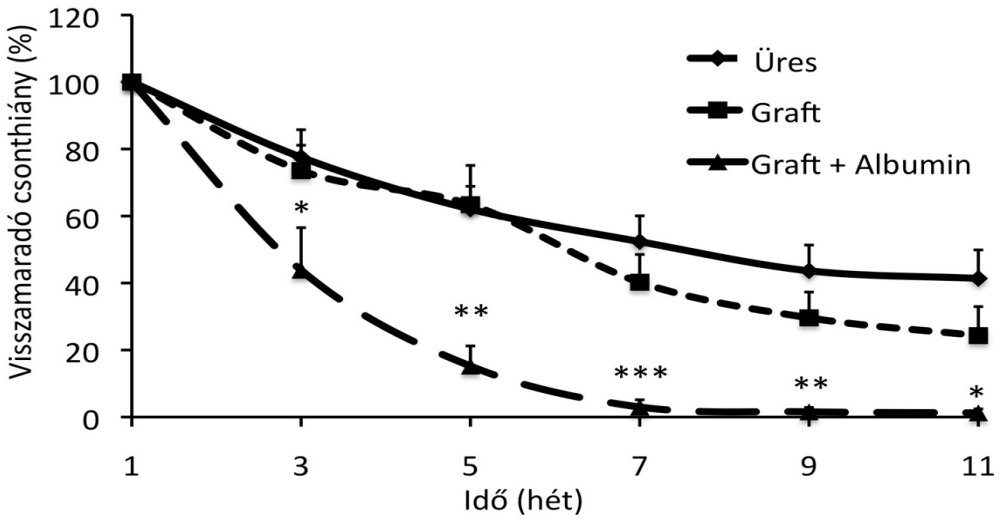
míg az üresen hagyott csonthiányok 550 ± 69 HU, a bevonat nélküli csonthiányok 582 ± 108 HU értéket vettek fel, addig az albuminnal kezelt csoport 835 ± 64 HU-t mutatott (7. ábra). Ez a folyamat a kísérlet tizenegyedik heti terminációjáig tovább folytatódott. Noha, az albuminnal kezelt csoport csonthiánya erre az időpontra teljesen területében csonttal fedetté vált és csontgyógyulás feltehetően a kísérlet terminációja miatt nem folytatódhatott, a denzitás értékek még elmaradtak a sértetlen koponyán mért értékektől.




**6. ábra** *Ex vivo* MicroCT felvételek 11 hét elteltével. Az ábra reprezentatív képeket mutat be mindegyik vizsgálati csoportból. A legrosszabban, legjobban gyógyuló defektusok mellett, a csoportok medián elemeit is ábrázolja. Az albuminnal bevont csontpótló látványosan kedvezőbb újcsont képződést ért el.



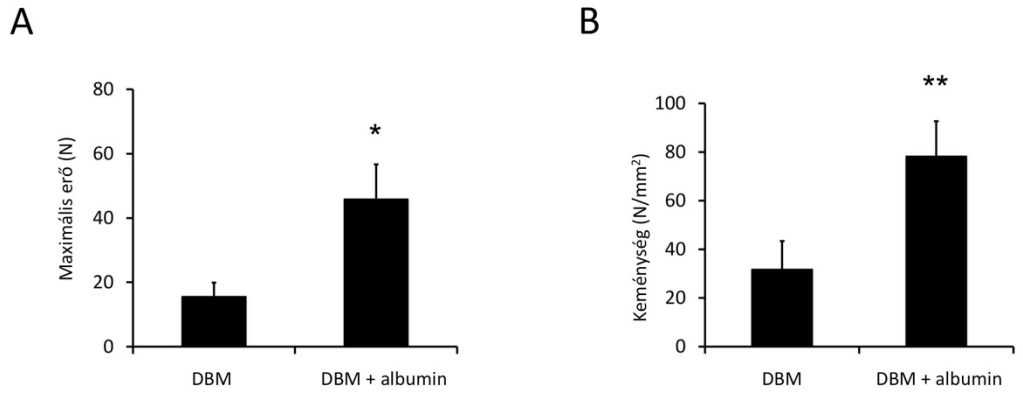

**7. ábra** Újcsont képződés vizsgálata a sérült terület denzitásának időbeni emelkedésével. Az albumin bevonat (DBM + albumin) szignifikánsan magasabb denzitás értékeket produkál a 7. héttől kezdődően. (n=6, kétutas ANOVA, Bonferroni post test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.1$, ***: $p < 0.01$)




**8. ábra** Újcsont képződés vizsgálata a visszamaradó csonthiány időbeni csökkenésével. Az albumin bevonat (DBM + albumin) szignifikánsan gyorsabb újcsont képződést eredményez, a csonthiányok a 7. hétre begyógyulnak. (n=6, kétutas ANOVA, Bonferroni post test, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.1$, ***: $p < 0.01$)

Az ex vivo microCT vizsgálatokat csontgyógyulás remineralizációs aspektusának jobb felbontású felderítése miatt végezték, valamint lehetőség nyílt az új csont térfogatának meghatározására is az egyes vizsgálati csoportokban. Az albuminnal bevont csoportban szignifikánsan jobb csontképződést igazoltak, habár az ép csonthoz tartozó értéket nem érték el (8. Ábra). A biomechanikai vizsgálat során, arra voltak kíváncsiak, hogy az újcsont képződés hatására mennyire képes a beültetett csontmátrix az eredeti ép csonttal összekapcsolódni, és mechanikai stabilitást nyújtani. A bevonat nélküli csoportban 15.7 ± 4 N erő kellett, ahhoz, hogy graftot a eredeti csonttal való összeköttetéseiből kimozdítsuk. Az albuminos csontgraftokkal kezelt csoportban azonban jelentősen nagyobb erőre, 46.1 ±11 N-ra volt szükség. A vizsgálatok során a törés minden esetben a graft és eredeti csont határán történt (9. Ábra).

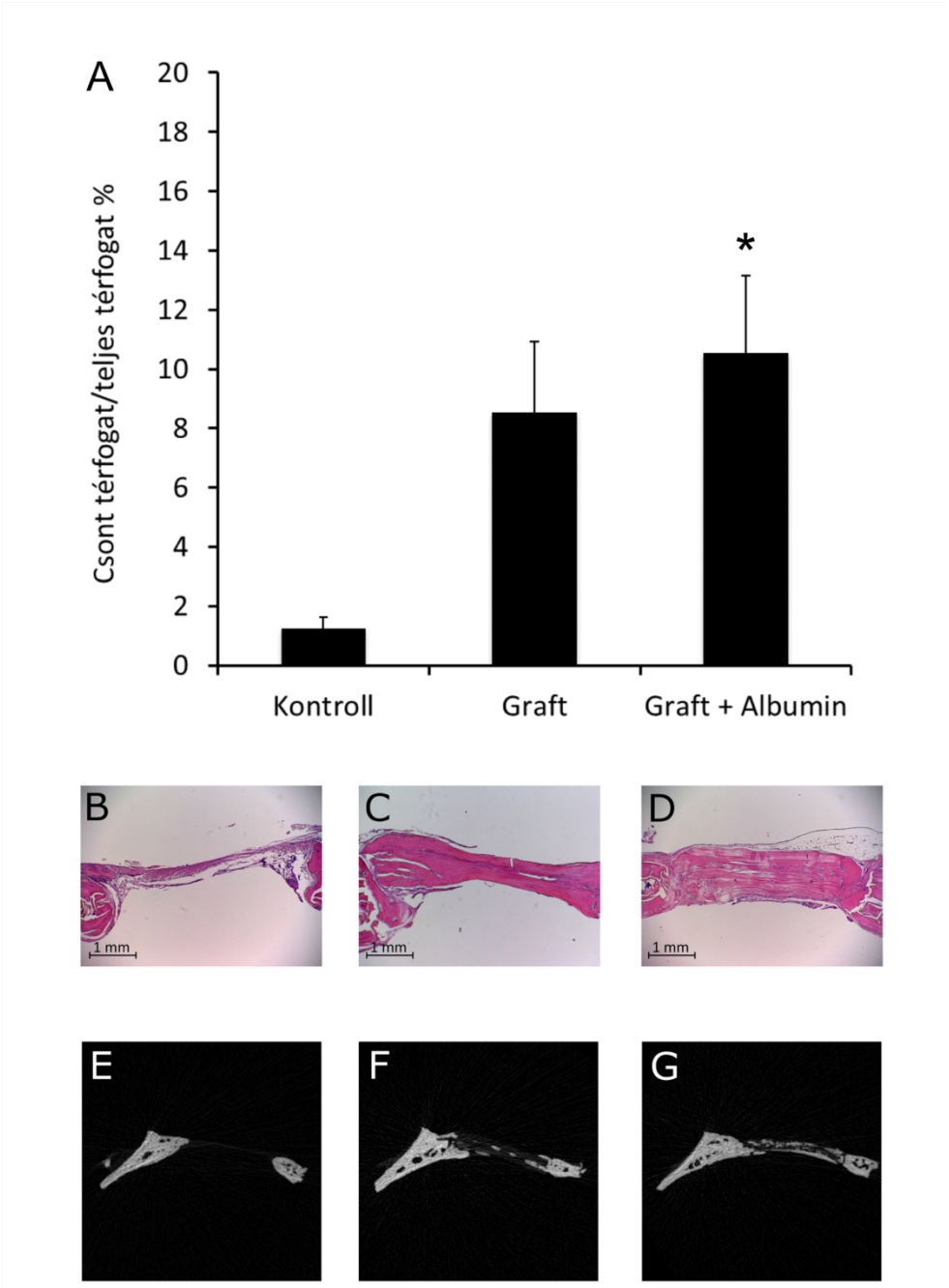
Összefoglalásképpen elmondható, hogy a kísérletesen kialakított calvaria csontdefektus sikeresen gyógyítható szérum albuminnal felületkezelt demineralizált csontmátrixal. A szerzők által használt albuminos graft esetében a defektus teljes záródása volt megfigyelhető, valamint biomechanikailag is kedvezőbb eredmények mutatkoztak a bevonat nélküli DBM-hez képest.




**9. ábra** *Ex vivo* mechanikai vizsgálat 11 hét elteltével. Az A panel a maximális törő erőt mutatja be, a B panel a beépült graftok keménységét vizsgálja. Mindkét esetben az albuminos bevonat szignifikánsan magasabb értékeket eredményezett. (párosítatlan t-próba *: $p < 0.05$)

### 1.5.2.3. Kritikus méretű kálvária defektus idős nőstény patkányokon

Az előző kísérletsorozat rávilágított, hogy az albumin bevonat egyértelműen a jobb és gyorsabb csontregenerációt segíti elő. Horváthy a vizsgálataiban azonban egy jó csontregenerációs képességgel rendelkező populációt, fiatal hím egyedeket vizsgált. Kíváncsiak voltunk, hogy vajon az albumin egy kevésbé gyors gyógyulásra képes populációban, például idősödő nőstény egyedekben is alkalmas-e a csontregeneráció támogatására. Az állatok átlag életkora 1 év körül mozgott, ezért még egy évet vártunk, hogy megfeleljenek a 60 év feletti humán életkornak. A alkalmazott vizsgálati protokoll teljesen megegyezett a korábbiakban leírttal, vagyis kritikus méretű kálvária defektust hoztunk létre, melyet CT-vel, microCT-vel és mechanikai vizsgálattal elemeztünk. A mért adatok alapján igazolódott az idős nőstény populáció gyengébb gyógyhajlama, mely mind a fiatal nőstényekhez viszonyítva, mind pedig az előző vizsgálat hím adatihoz hasonlítva egyértelmű volt. Az albuminnal kezelt defektusok esetében ismét szignifikáns különbségek mutatkoztak a bevonat nélküli graftokkal szemben mind a CT, mind a microCT, mind pedig a mechanikai mérések kapcsán. Mindez az eddigiekhez hasonlóan arra enged következtetni, hogy a lokálisan megemelkedett albumin koncentrációnak aktiváló hatása van a gyógyulási folyamatokra (10. ábra). Mivel az idős donorokból származó őssejt kitapadás vizsgálat is az előzőkhez hasonlóan az albuminos felület magasabb értékeit hozta, ezért következtetünk arra, hogy az albumin az endogén sejtek aktivációjával járulhat hozzá a megnövekedett gyógyulási potenciálhoz. Mindez rendkívül fontos lehet egy olyan populációban, ahol a csontosodási folyamatok egyébként is gyengültek. Eredményeink jelenleg bírálat alatt vannak a Journal of Tissueengineering and Regenerative Medicine lapban.




**10. ábra** A BoneAlbumin hatásainak vizsgálata idős nőstény patkányokban. Az A panel *ex vivo* microCT vizsgáatokat mutat, mely igazolja, hogy a BoneAlbumin nagyobb térfogatú csont képződést tesz lehetővé. A B-D panel reprezentatív szövettani, a E-G panel reprezentatív coronális CT felvételeket mutat be.

### 1.5.2.4. Albuminnal liofilizált struktúrális allograftok beültetése protézis revízók során

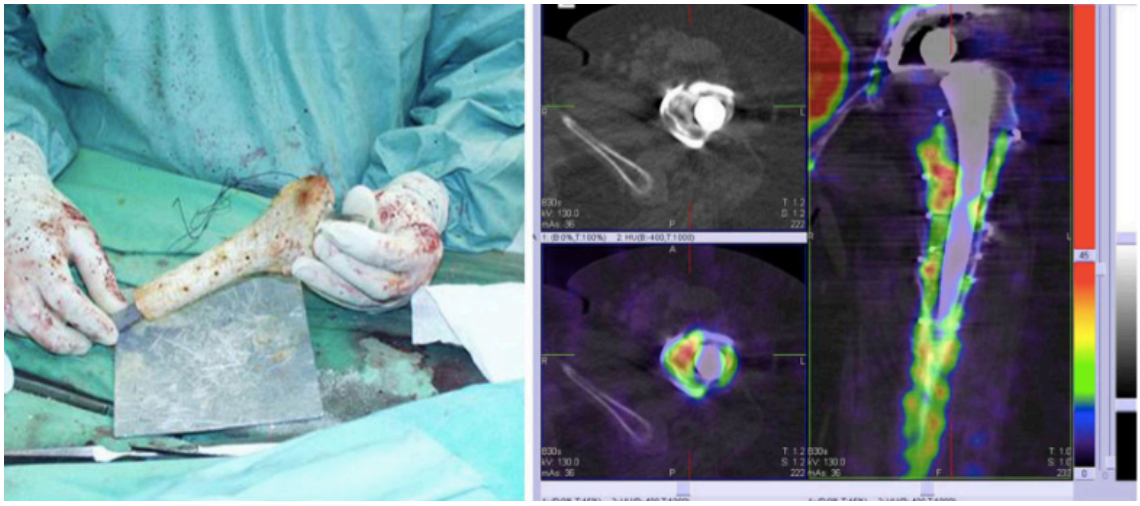
A munkacsoportunk által elvégzett sikeres in vitro és in vivo kísérletek során igazolódott a szérum albumin kedvező hatása a csontregenerációs folyamatokra. A kecsegtető kísérletes eredmények után sor került az első humán klinikai vizsgálatra [184]. A vizsgálat során 10 esetben végeztek kiterjedt csonthiánnyal járó revíziós térd illetve csípő artroplasztikát. A műtétek során a csontdefektust proximális femur illetve, tibia strukturális allografttal pótolták, melyeket előzőleg albumin oldattal kezeltek, majd liofilizáltak.

Évtizedek óta folynak a kutatások, hogy a klinikai használatban lévő struktúrális allograftok rendkívül szerény remodellációs készségén milyen eljárással lehetne javítani. Enneking és munkatársainak megfigyelése alapján jelentősen növelte az allograftok beépülését, ha autológ csonttal vagy csontvelővel keverték össze beültetés előtt [185, 186]. Intini közleménye szerint a fogászati implantológiában rutinszerűen alkalmazott PRP augmentáció csak szerényebb indukciós hatással rendelkezik [187]. A vizsgálat célja az volt, hogy a korábban részletezett kísérletes eredményekre alapozva, a humán albuminnal történő felületkezeléssel egy élettanilag jobb minőségű allograft klinikai alkalmazását érjék el. A fagyasztva szárított humán allograftokat a Petz Aladár Megyei Oktató Kórház Nyugat-Magyarországi Regionális Szövetbankja állította elő. Az eredeti szövetkonzervet a gyártás folyamán úgy módosították, hogy a konzerválási folyamat végén a csont felületét 10 %-os humán albuminnal kezelték, majd újra liofilizálták aszeptikus körülmények között. A csont felszínét egyenletes albumin fedi, mely a gyakorlati felhasználásban nem okozott változást. Az albuminnal kezelt graftokat beültetés során nem dekortikálták, a liofilizálás és felületkezelés előtt számos furattal perforálták a csontot, hogy az albumin oldat a mélyebb rétegekbe is eljuthasson. Protézis-allograft kompozit (PAK) beültetést végeztek csípő és térd revíziók során (11. ábra) minden esetben steril lazulás után. Ez azért volt fontos kritérium, mert a remodelláció utánkövetése rendkívül nehéz, kevés az igazán értékelhető objektív vizsgáló módszer. Különböző etiológiájú (pl.: szeptikus környezet, tumor) protézis lazulás esetén az alapbetegség, illetve a környező lágyrészviszonyok jelentősen befolyásolhatják az allograft sorsát, ami tovább nehezítette volna az értékelést, ezért ezeket az eseteket jelen vizsgálatból kizárták. A revíziókat minden esetben alapos kivizsgálás és intraoperatív

bakterológiai gyorsteszt mellett végezték.

Az albuminos kezelés az allograftok mechanikai jellemzőit nem változtatta meg. Az allograftok nem szívódtak fel, törést vagy egyéb struktúrát érintő kóros elváltozást nem észleltek. Az implantátumok körül lítikus folyam nem alakult ki sem a cementezett, sem a cement nélküli típusoknál. Továbbá nem észleltek az albuminnal kapcsolatos szöveti reakciót a beültetést követően. Utánkövetést hagyományos röntgennel, izotóp, illetve SPECT⁄CT vizsgálattal végezték.

Az eredmények értékelése során az izotóp és SPECT⁄CT vizsgálatok a csont-graft találkozáson kívül a felszínen, sőt több esetben, a mélyebb területeken is fokozott oszteoblaszt aktivitást jelzett. Egy évvel a beültetés után jelentős kiterjedésű oszteoblaszt aktivitás volt kimutatható a graftok többségében, amely arra utal, hogy a remodellációs folyamat még ebben a rossz gyógyhajlamú betegpopulációban is kielégítő mértékben zajlik. Ezek az eredmények az eddigi in vitro és in vivo eredményeket is támogatják, miszerint az albuminos csontpótlók kedvezően hatnak a csontregeneráció folyamatára. Ennek pontosabb megismerését szolgálják a további humán vizsgálatok, melyek immár a funkcionalitás tesztelését tűzik ki célul.



**11. ábra** Műtéti előkészítés albumin bevonatú struktúrális allografttal (bal). Jobb oldalon posztoperatív CT és SPECT felvételek láthatóak.

## 2. Célkitűzések

Korábbi vizsgálataink rámutattak, hogy az albumin kedvezően befolyásolja a mezenhimális őssejtek kitapadását albuminos felületen in vitro körülmények között. Több in vivo állatkísérlet segítségével sikerült kimutatni, hogy az albumin bevonatú graftokkal gyorsabb és teljesebb csontregeneráció érhető el. A sikeresnek és biztonságosnak tűnő *in vitro* és állatkísérletek után kutatócsoportunk elvégezte az első humán beültetéseket 10 esetből álló heterogén betegcsoporton. A vizsgálat során a szerzők semmilyen beültetéssel kapcsolatos szövődményt nem észleltek és képalkotó vizsgálatokkal igazolták a beültetett struktúrális allograftok kielégítő átépülését. A megfelelő számú *in vivo* és biztonságossági vizsgálatot követően szükséges a kedvező csont regenerációs eredményeket humán vizsgálatokkal is igazolni. További kérdésként merül fel, hogy az albuminos csontpótló képes-e konkrét klinikai probléma megoldására. Éppen ezért, kutatásunk következő lépése egy randomizált, prospektív, kettős vak vizsgálatot volt, melyet homogén betegcsoporton végeztünk el. Az albuminnal bevont csontpótló időközben a BoneAlbumin terméknevet kapta, melyet a disszertáció témáját képező kísérletsorozat során már használtunk, ezért a továbbiakban ezt a megnevezést alkalmazom. Jelen munka három kérdés vizsgálatát tűzte ki célul:

1. Alkalmas-e technikailag a BoneAlbumin őrlemény a patella ínnal végzett elülső keresztszalag műtét csontos adó területeinek feltöltésére? Észlelhetők-e kellemetlen mellékhatások illetve lépnek-e fel szövődmények a feltöltés következtében?
2. Igazolható-e a BoneAlbumin csontképződést támogató hatása morfológiai mérésekkel számítógépes tomográfia segítségével?
3. Csökkenti-e a donor-területi panaszokat a csontos adó területek BoneAlbuminnal való feltöltése patella ínnal végzett elülső keresztszalag pótlást követően?

## 3. Módszerek

### 3.1. A vizsgálat leírása

A vizsgálatot a székesfehérvári Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Kutatás Etikai Bizottsága engedélyezte (ALLO-2013-02). A humán vizsgálatba bevont betegek a vizsgálatot szervező orvos alapos szóbeli és írásbeli felvilágosítása után írásos belegyező nyilatkozatot adtak a részvételükről. 2013 és 2014 között a Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Sportsebészeti részlegén 40 beteg bevonásával végeztük az alábbi prospektív, randomizált, kettős vak vizsgálatot. A vizsgálatba való részvétel feltétele a sérülés előtti intenzív sporttevékenység, illetve a 18-50 év közötti életkor. Kizáró kritérium volt az egyidejű oldalszalag sérülés, immunológiai és reumatológiai betegségek megléte, az Outerbrige beosztás szerint II. fokú üvegporc degeneráció. További kizáró ok volt a sérülést megelőzően fennálló elülső térdfájdalom, illetve korábbi sebészeti beavatkozás az érintett oldali térdízületen. A műtéteket két sebész végezte, a betegek utánkövetését egy harmadik ortopéd-traumatológus vakon végezte. A computer tomográfiás vizsgálatok kiértékelését radiológus végezte hasonló körülmények között. Az elülső keresztszalag rekonstrukciót minden esetben patella-ínból származó oltvánnyal végeztük azonos technikával. A betegek minden esetben azonos rehabilitációs programon vettek részt.

### 3.2. Vizsgálati csoportok

A betegeket random módon két, 20 fős, csoportba osztottuk. A betegek nem kaptak információt arról, hogy melyik csoportba kerültek. A műtétet követően minden beteg azonos rehabilitációs programban vett részt. A kontroll csoportba került betegeken BPTB grafttal végzett elülső keresztszalag rekonstrukciót végeztünk. A műtét végén, osztályunk gyakorlatának megfelelően, a beavatkozás során visszamaradt autológ csonttal töltöttük fel a tibia donor-területet attól függően, hogy mennyi csont állt rendelkezésre, míg a patella adó területet csupán vérömleny töltötte ki (kontroll csoportok). A vizsgálati csoport betegeinél a fenti eljárást úgy egészítettük ki, hogy az autológ csontot BoneAlbumin csontörleménnyel egészítettük ki és ezzel töltöttük fel a tibián kialakult

csonthiányt a kortikális szintjéig. A patella csonthiány feltöltéséhez csak BoneAlbumint használtunk.

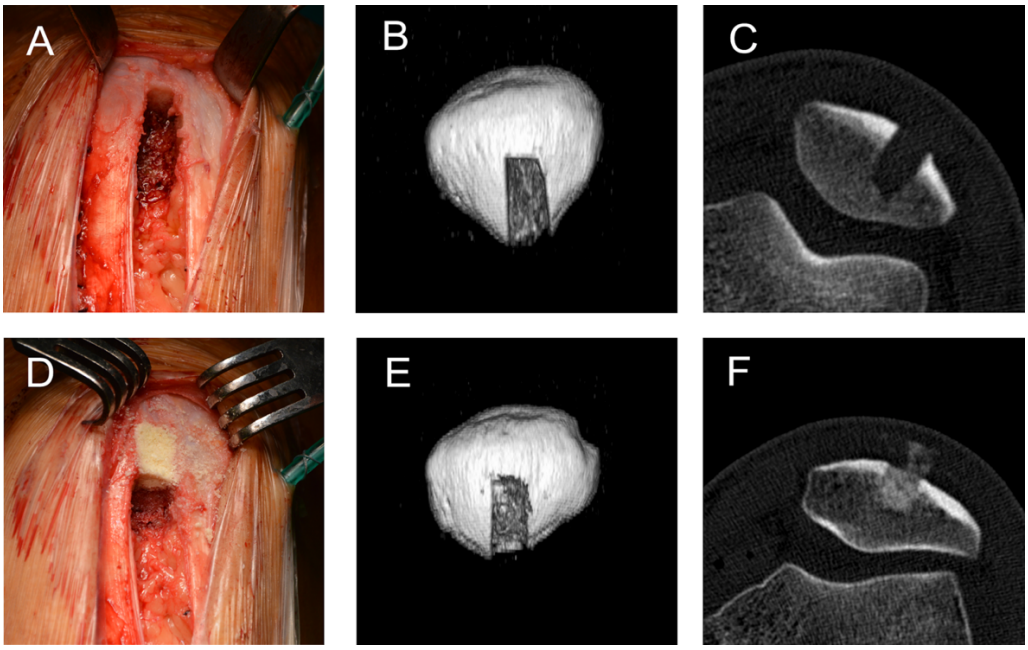
### 3.3. BoneAlbumin - szérum albuminnal bevont liofilizált csontőrlemény

A fagyasztva szárított humán allograftok előállítását a Petz Aladár Megyei Oktató Kórház Nyugat Magyarországi Regionális Csontbankja végzi. Az itt előállított konzervcsont cadaverből származik, ahol többlépcsős eljárás során minden antigenitásától megfosztott (Urist 1965-ben kidolgozott eljárása alapján) allograftot alakítanak ki. Az oltvány sterilizálása etil-alkohollal történik, melyet tartósítás céljából, a folyamat utolsó lépéseként elvégzett liofilizálás követ. Az eredeti szövetkonzervet úgy módosították, hogy a konzerválási folyamat végén a csontot 1 percen keresztül 10%-os humán albumin oldatban (Biotest human albumin infusion, Biotest Pharma GmbH, Dreieich, Germany) áztatják, majd újra liofilizálják aszeptikus körülmények között. A csont felszínét így egyenletesen albumin fedi, ami a gyakorlati felhasználásban nem okoz változást.

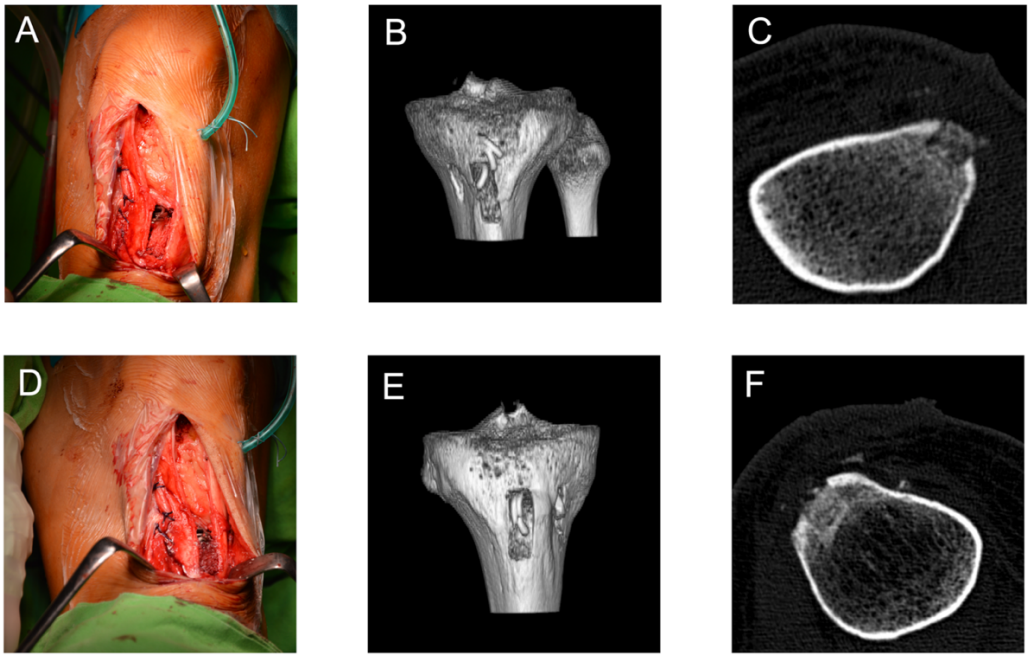
### 3.4. Sebészi protokoll

A Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Sportsebészeti Részlegén a patella-ínnal végzett elülső keresztszalag pótlást, diagnosztikus artroszkópiát követően, rutinszerűen mini-artrotómiából végezzük. Bőrmetszést követően kipreparáljuk a patella-ínat. Az ín középső harmadát, végein a patellából és a tibiából származó csontblokkal, kimetsszük. Ezt követően az ín mediális oldalán átlagosan 3-4 cm-es artrotómiát végzünk. A Hoffa-zsírtest látótérbe eső részét rezekáljuk, majd eltávolítjuk az elülső keresztszalag csonkját. Következő lépésben elkészítjük a tibiális csontfuratot, melynek átmérője általában 9-10 mm. Ezután a laterális femur condylus mediális oldalán célzást követően kialakítjuk a femorális csatornát is, melynek átlagos átmérője 10-11 mm. Ezt követően femorális csatornába helyezzük az oltvány tibiális csontblokkját, melyet interferencia csavarral fixáljuk majd a graft másik végét behúzzuk a tibiális furatba, ahol megfelelő előfeszítés mellett 2 darab Kirschner-dróttal rögzítjük.

A kontroll csoportban zárás előtti utolsó lépésként a műtét során keletkező és visszamaradó autológ csonttal, a rendelkező mennyiségtől függően, feltöltjük a csontos adóterületeket. A vizsgálati csoportban az autológ csontot BoneAlbuminnal keverjük össze és azzal töltjük fel az adóterületeket a kortikális szintjéig. Egy műtét esetén átlagosan 6 $cm^3$ albuminnal felületkezelt csontőrleményt használtunk fel (12. és 13. ábra).




**12. ábra** Patella csonthiány létrehozása és feltöltése. A felső sorban a feltöltés nélküli műtéti kép, 3D CT rekonstrukció és reprezentatív axiális CT szelet látszik. Az alsó sorban (D,E,F) BoneAlbumin-os feltöltés látható a műtéti képen, a 3D CT rekonstrukción és reprezentatív axiális CT szeleten.




**13. ábra** Tibia csonthiány létrehozása és feltöltése. A felső sorban a feltöltés nélküli műtéti kép, valamint a csupán autograftal feltöltött tibia 3D CT rekonstrukció és reprezentatív axiális CT szelet látszik. Az alsó sorban (D,E,F) BoneAlbumin-os augmentációs feltöltés látható a műtéti képen, a 3D CT rekonstrukción és reprezentatív axiális CT szeleten.

### 3.5. Rehabilitációs protokoll

- 2.posztoperatív napon 0-90°-os passzív mozgatás
- 3. posztoperatív napon 0-110°-os passzív mozgatás
- 14.napig: operált végtag tehermentesítése, talajérintés lehetséges.
- 3. héttől: gyógytorna, melynek célja a teljes mozgástartomány elérése
- 3-4 héttől szobakerékpár engedélyezett ellenállás nélkül vagy minimális ellenállással
- 5-8 héten: gyógytorna + szelektív ingeráram kezelés a m. quadricepsre
- 10-12 héten: taposógép, feszítőgép használata ellenállással szemben + egyenes vonalú futás ortézisben
- 18-20. héttől futás irányváltással
- 24. héttől sportági mozgások.

Sportoló esetében az izomerő 80-90%-os elérését követően engedhető vissza teljes aktivitású sporttevékenységbe.

### 3.5. A betegek utánkövetése

#### 3.5.1. Nemzetközi pontrendszerek és Vizuál Analóg Skála

A betegek utánkövetését a műtét utáni 6. héten és 6. hónapban végeztük. Ekkor független vizsgáló által végzett fizikális vizsgálat mellett VISA, Lsyholm és IKDC szubjektív pontrendszer kitöltése és a donor-területi fájdalom Vizuál Analóg Skálán (VAS) történő regisztrálását végeztük. A VISA (Victorian Institute of Sport Assessment) kérdőív kifejezetten az elülső térdpanaszokkal kapcsolatos kérdéseket tartalmaz és az eredményeket 0-100 pontig terjedő skálán értelmezi. A betegeket megkértük, hogy Vizuál Analóg Skálán jelöljék be a fájdalom szintjét 0-tól (nincs fájdalom) 10-ig (maximális fájdalom) álló, térdelő és guggoló helyzetben. Aktivitás szintjét és a beavatkozáson átesett térdízület funkcionális használhatóságát International Knee Documentation Committee (IKDC) szubjektív pontrendszerével és a Lysholm kérdőívvel mértük fel.

#### 3.5.2. Számítógépes tomográfia (CT)

A CT vizsgálatokat egy Phillips Brilliance 64 típusú készülékkel (Mediworld kft., Szent György Diagnosztikai Centrum, Székesfehérvár) végeztük. Az axiális CT szeletek 120 kV-tal és 300 mA-rel készültek. A szeletvastagság 0,9 mm, az incrementum 0,45 mm, a kollimáció 64 x 0,625mm, a pitch 0,579, a rotációs idő 0,75 másodperc volt.
Egy héttel a műtétet követően néhány esetben készítettünk felvételeket, a kezdeti állapot rögzítése érdekében. Minden betegen a 6. posztoperatív hónapban készítettünk CT vizsgálatot. Az elkészült felvételeken, nagyított képen, szabad kezes technikával rajzoltuk be a visszamaradó csonthiányt. Ezt követően a CT saját szoftverét használva az érintett szeletekre kiterjedő interpolációt követően kaptuk a visszamaradó csonthiány térfogatát. A módszer megbízhatóságát jelzi, hogy az ellenőrzésként visszamért minták esetében elhanyagolható eltéréseket találtunk. Ezen kívül minden csonthiány egy reprezentatív szeletét kiválasztva denzitást vizsgáltunk, melyet 2 mm-rel a kortikális alatt mértünk egy 20$mm^2$ –es kör alakú területen (Region of interest – ROI). A méréseket egy radiológus végezte, aki számára a csoportbeosztások nem voltak ismertek.

### 3.6. Statisztikai módszerek

Az adatokat átlag ± standard deviáció formátumban közöljük a dolgozatban. A statisztika analízist a Graphpad Prism szoftver (Graphpad Software, Inc. La Jolla, CA, USA) segítségével végeztük. A csoportok közötti különbséget párosítatlan t-próbával határoztuk meg, a $p < 0.05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

# 4. Eredmények

## 4.1. Beteganyag

A kontroll csoport 20 betege közül 2 nő, 18 férfi volt. A BoneAlbumin csoportjába 2 nő és 18 férfi került. Az átlag életkor a kontroll csoportban 30.3 ± 1.7, a BoneAlbumin csoportban 26.7 ± 1.9 év volt. A kontroll csoportban 10 profi sportoló, 7 hobbi sportoló (legalább kétszeres heti testmozgás) és 2 inaktív beteg került. A BoneAlbumin csoportba 11 profi sportoló, 7 hobbi sportoló és 2 inaktív beteg került. A betegek a kontroll csoportban 24 ± 10 héttel, a BoneAlbumin csoportban 14 ± 5 héttel a sérülést követően kerültek műtétre. A kontroll csoport betegei közül egy nem jelent meg az előírt kontroll vizsgálatokon, ezért ezt a csoportot 19 beteggel fejeztük be. A vizsgálati csoport egy betegénél, feltehetően a nem megfelelően követett rehabilitációs protokoll miatt, immobilizációs atrófia jelent meg a CT képeken, ezért ez a beteg kikerült a klinikai vizsgálatból.

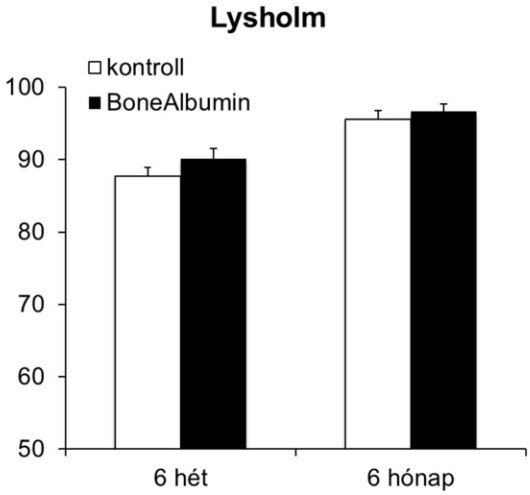
## 4.2. Morbiditás és tapasztalatok a BoneAlbuminnal

A klinikai vizsgált tapasztalatai szerint a BoneAlbumin csontörlemény használata nem komplikálta a műtéti technikát. Alkalmasnak bizonyult a keletkező csonthiányok megfelelő mértékű feltöltésére, illetve impaktációt követően a csontpótló a helyén maradt. A csontos adóterületek feltöltése a műtéti időt nem módosította lényegesen. A csontörlemény alkalmazása nem növelte a műtétes eszközigényt sem.
Műtéttel kapcsolatos szövődmény, valamint nem kívánt mellékhatás a BoneAlbuminnal kezelt csoportban egyik betegnél sem jelentkezett. Szeptikus szövődményt vagy immunológiai reakciót nem tapasztaltunk. Patella-ín szakadás, patella törés sem történt a betegek untánkövetése alatt. A korai és intenzív mobilizációnak és az intenzív rehabilitációnak köszönhetően, nem tapasztaltunk izomgyengeséget egyik csoportban sem.

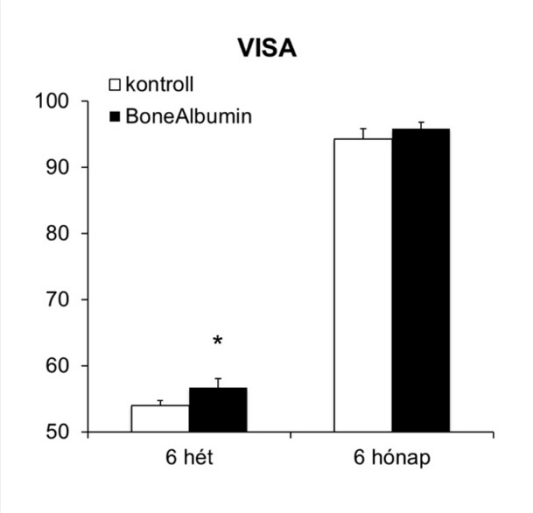
## 4.2. Nemzetközi pontrendszerek és Vizuál analóg skála

A 6 hetes posztoperatív utánkövetési időpontban még mind a két csoport betegeinél, köszönhetően a műtét közelségének, az IKDC, VISA és Lysholm pontrendszerek

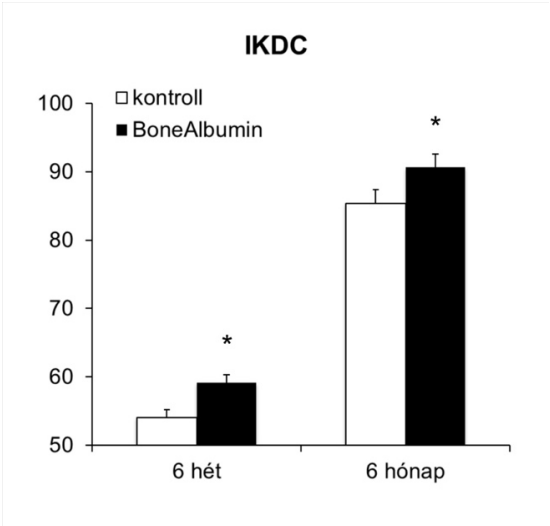
esetében is alacsony értékeket kaptunk. Amíg a csoportok közötti különbség a Lysholm kérdőív esetén kevésbé volt szembetűnő (14. ábra), addig IKDC és VISA score eredmények összehasonlításánál a kontroll csoportban szignifikánsan alacsonyabb értékeket kaptunk, mint a BoneAlbuminos csoportban (15-16. ábra).



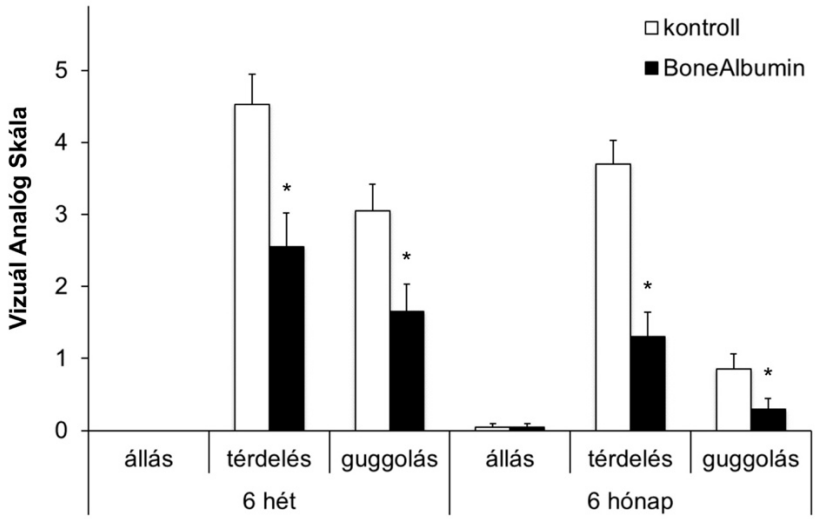

**14. ábra** Lysholm pontrendszer eredményei grafikonon. A csoportok között nincs szignifikáns különbség (párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$)




**15. ábra** Victorian Institute of Sport Assessment kérdőív eredményei grafikonon. Hat hetes utánkövetési időpontban a BoneAlbuminnal kezelt csoport eredményei szignifikánsan jobbnak bizonyultak. Hat hónapos vizsgálatoknál különbséget már nem mértünk. (párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$)




**16. ábra** International Knee Documentation Comittee pontrendszere eredményei grafikonon. Mindkét utánkövetési időpontban szignifikánsan különbség volt a vizsgálati csoport javára. (párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$)




**17. ábra** Vizuál analóg skála eredményei. Állás közben érdemi különbséget nem találtunk a csoportok között egyik vizsgálati időpontban sem. Ezzel szemben a vizsgálati csoportban térdelés és guggolás során szignifikánsan kevesebb fájdalmat jeleztek a betegek hat hetes és hat hónapos korban egyaránt. (párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$)

A fenti vizsgálati időpontban a donor-területi fájdalom szintén szignifikánsan alacsonyabb volt térdelés és guggolás során a kezelt csoportban, ami számszerűsítve 44%-os fájdalomcsökkenést jelent. (6 hetes vizsgálat guggoláskor: VAS kontroll csoport: 3,05±0,37 vs. kezelt csoport: 1,7±0,38, $p<0,01$, térdeléskor: VAS kontroll csoport: 4,53±0,42 vs. kezelt csoport: 2,56±0,47, $p<0,01$). Az állás során jelentkező adó területi fájdalom mindkét csoportban elhanyagolható volt (17. ábra).

6 hónap után, mikor már a patella-ín regenerálódott és a betegek nagy része visszatért a sérülés előtti aktivitási szinthez, a funkcionális térd score-oknál az egészségeshez közeli értékeket kaptunk (IKDC kontroll csoport: 85±2 vs. vizsgálati csoport: 91±2, Lysholm kontroll csoport: 96±1 vs. vizsgálati csoport: 97±1, VISA kontroll csoport: 94±1 vs. vizsgálati csoport: 96±2). Valamennyi pontrendszer esetén magasabb értékeket kaptunk a BoneAlbumin-os csoportban, de a különbség csak az IKDC szubjektív kérdőíve esetén volt statisztikailag szignifikáns. Ugyanebben a vizsgálati időpontban, ahogy a térdízület

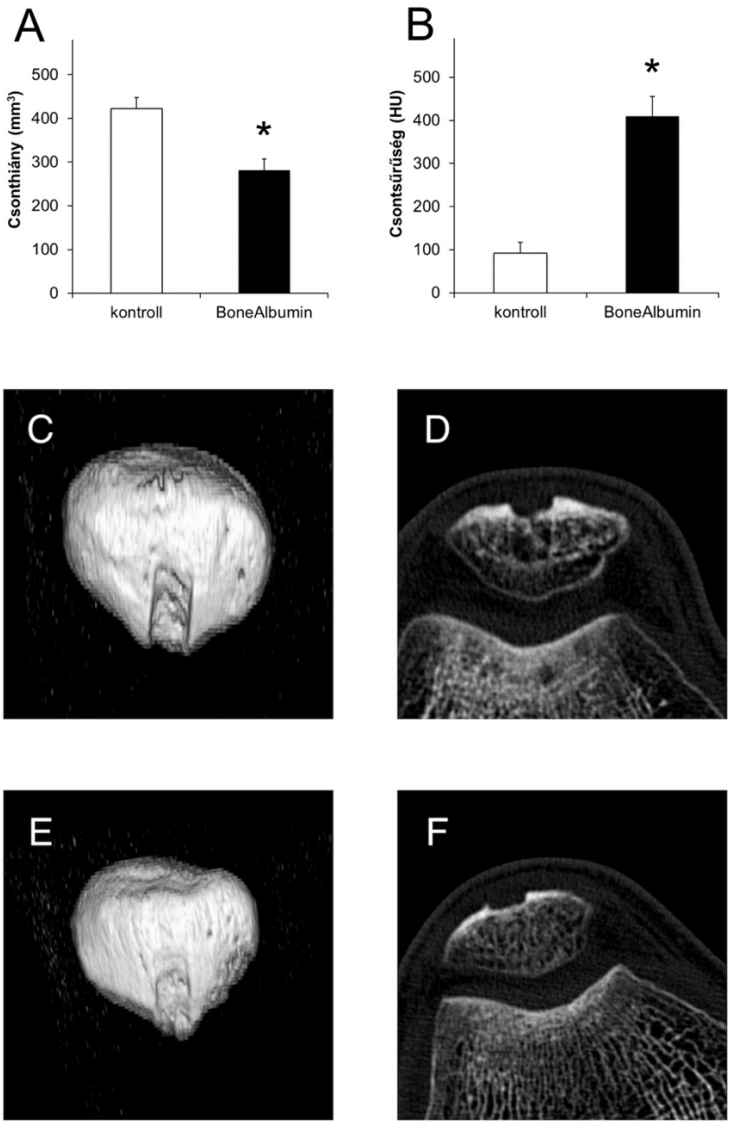
általános funkcionalitása helyreáll, a donor-területi panaszok jobban előtérbe kerülnek, melyben jelentős különbség mutatkozott a két csoport között. Állás, térdelés és guggolás során a kontroll és a vizsgálati csoportban is csökkentek az adó területi fájdalmak a 6 hetes vizsgálathoz képest. A betegek térdeléskor és guggoláskor az albuminnal kezelt csoportban szignifikánsan kisebb fájdalomról számolnak be a második vizsgálati időpontban, ami mindkét esetben számszerűsítve 75%-os fájdalomcsökkenést jelent (6 hónapos vizsgálat guggoláskor: VAS kontroll csoport: 0,85±0,22 vs. kezelt csoport: 0,30±0,14, $p<0,01$, térdeléskor: VAS kontroll csoport: 3,70±0,33 vs. kezelt csoport: 1,30±0,34, $p<0,01$). Az állás során jelentkező adó területi fájdalom mindkét csoportban elhanyagolható volt.

### 4.3. Számítógépes tomográfia (CT)

CT felvételeket néhány esetben az első posztoperatív héten is késztettünk, melynek során vizualizálhatóvá váltak a feltöltött területek. Ennyi idő elteltével a csontosodási folyamatok a vártnak megfelelően még nem mutatkoztak a donor-területen. Hasonlóképpen felszívódásra utaló jel sem mutatkozott. A látott kép megfelelt a műtét során makroszkóposon elért eredménynek, vagyis a műtétileg kezelt defektusok kitöltöttsége nem változott sem a BoneAlbuminnal és autografttal kitöltött tibia, sem pedig a csupán BoneAlbuminnal kezelt patellán. Mindez azt jelzi, hogy az impaktáció megfelelő mértékű volt, és alkalmas a jelen csonthiányok BoneAbumin őrleménnyel való kitöltésére. Egyedüli eltérésként a környező lágyrészekben helyenként előforduló csontos fragmentumok említendők, melynek további sorsa a 6 hónapos vizsgálatoknál egyértelműen mutatkozik majd. Utóbbi eltérés mindkét donor-területen tapasztalható volt.

A csontosodás pontos morfometriai megítélésére a 6. posztoperativ hónapban végeztünk CT felvételeket. Az eredmények kiértékelése során vizsgáltuk a feltöltött terület csontsűrűségét és a visszamaradó csonthiány kiterjedését. A patella defektusok esetében szignifikánsan alacsonyabb visszamaradó csonthiányt mértünk a BoneAlbuminnal kezelt csoportban. Ezen kívül megfigyelhető volt a denz kortikális felépülése is, mely az esetek legnagyobb részében fedte a műtétileg kialakított csonthiányt. A kontroll csoportban is megfigyelhető volt számottevő új csont képződése, azonban ennek mennyisége (visszamaradó csonthiány) és minősége sem érte el a BoneAlbuminnal töltött vizsgálati

csoportot. A szubkortikális csontállomány vizsgálatát denzitás méréssel végeztük. A BoneAlbumin ebben a vizsgálatban is szignifikánsan magasabb értékeket produkált. A denzitás különbség szabad szemmel is megállapítható volt, köszönhetően a csontgerendák alacsonyabb számának, valamint a helyenként visszamaradó üregeknek a kontroll csoport esetében (18. ábra).



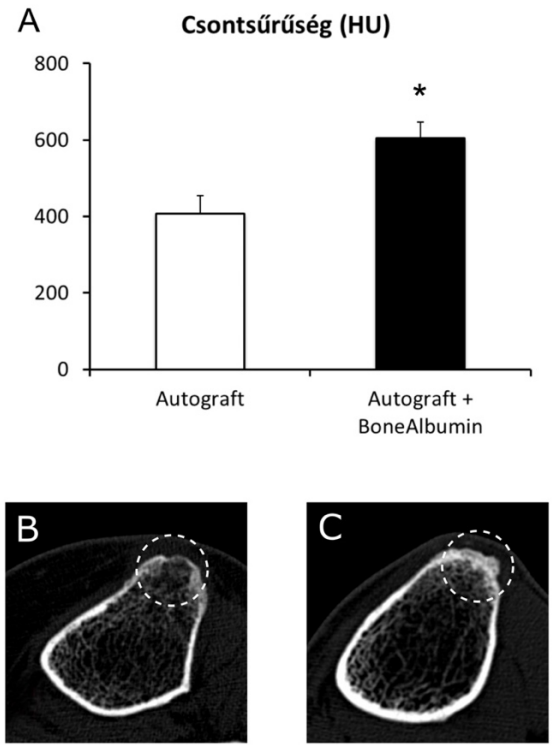

**18. ábra** A patella csontdefektusának morfometriai vizsgálata computer tomográfiával. Az A panelen a visszamaradó csonthiány látható, míg a B panel az újonnan képződött csont sűrűségét mutatja. C panelen a kontroll csoport reprezentatív 3D-os képe található, a D panelen ugyanez látható axiális metszeten. E és F panelen a BoneAlbuminnal kezelt csoport hasonló felvételeit találjuk.

A tibia donor-területet szintén a visszamaradó csonthiány és a szubkortikális csontállomány denzitásának mérésével vizsgáltuk. A kontroll csoportban a rendelkezésünkre álló autológ csont mennyiségétől függően nem sikerült mindig azonos mértékben feltölteni a tibiális adóterületet. Erre való tekintettel a műtétet végző orvos egy általunk kialakított négy fokozatú skálán dokumentálta a feltöltés szintjét. A műtétek során csupán 63%-ban (12/19 esetben) tudtuk kielégítően feltölteni a tibia donor területet a kontroll csoportban. Hat hónapos utánkövetés során a CT felvételeken azt tapasztaltuk, hogy a feltöltés mértéke nem korrelál a csontsűrűséggel a kontroll csoportban a tibiális adóterületeken, vagyis függetlenül az autograftos feltöltés mértékétől hasonló értékű csontsűrűség értékeket kaptunk (1. tábázat). Ezenkívül mérhető csonthiány sem maradt vissza a kontroll csoportban, ezért feltöltéstől függetlenül kezeltük a denzitás értékeket a vizsgálati csoporttal történő összehasonlítás során.

| Feltöltés mértéke | Denzitás (HU) | Esetszám |
|---|---|---|
| minimális | 446 ± 97 | 2 |
| mérsékelt | 495 ± 134 | 5 |
| kielégítő | 349 ± 77 | 7 |
| teljes | 390 ± 78 | 5 |

**1. táblázat**

A vizsgálati csoportban BoneAlbumin-t kevertünk az autológ csontfragmentumokhoz, a keveréket a kortikális szintjéig feltöltve, ezért itt a feltöltés minden esetben 100% volt. A hat hónapos vizsgálatoknál mérhető csonthiány ez esetben sem volt detektálható. A csontsűrűség mérésekor azonban szignifikáns különbség adódott a BoneAlbuminnal kiegészített csoport javára (605 ± 41 vs. 407 ± 48 HU, $p < 0.05$). A patella kontroll csoportjához hasonlóan, helyenként itt is megfigyelhetők voltak apró visszamaradó csontüregek is, azonban az autograftos feltöltésnek köszönhetően, jóval alacsonyabb számban (19. ábra).




**19. ábra** Tibiális csontdefektus hat hónapos computer tomográfiás eredményei. A panelen a csontsűrűségi vizsgálatok eredményei láthatók, a BoneAlbuminnal kezelt csoportban szignifikánsan magasabb értéket kaptunk ( párosítatlan t-próba, *: $p < 0.05$). B panelen a kontroll csoport egy reprezentatív axiális szelete, míg a C panelen a vizsgálati csoport hasonló felvétele látható.

Csontosodásra utaló eltérések a 6 hónapos felvételeken csupán a feltöltött területeken ábrázolódtak. Hipertrófiára vagy ektópiás csontképződésre utaló eltérést a donor-területeken nem találtunk, vagyis az egy hetes CT felvételeken található csontfragmentumok nem indukáltak inadekvát csontképződést, lényegében felszívódtak, csupán minimális mértékben és elhanyagolható méretben találtunk meszes képleteket a környező lágyrészekben. Mindezek nem mutattak korrelációt a vizsgálati csoportokkal.

## 5. Megbeszélés

Az elülső keresztszalag rekonstrukció egyike a leggyakoribb térdízületen végzett beavatkozásnak. Számos tudományos közlemény tűzte ki céljául a különböző elülső keresztszalag pótlására használt oltványok összehasonlító vizsgálatát. A leggyakrabban használt ilyen oltványok a patella-ínból, illetve HT ínakból származó autograftok. A legtöbb vizsgálat egyetért abban, hogy a klinikai eredmények szempontjából a graft választásnak csupán korlátozott szerepe van. Ezzel szemben sokkal nagyobb szerepet tulajdonítanak a megfelelő furatelhelyezésnek és az alkalmazott graft rögzítési technikáknak [188-191].

Több klinikai vizsgálat is kiemeli, hogy a BPTB technika egyik hátránya a HT ínas pótlással szemben a viszonylag gyakran előforduló donor-területi fájdalom, mely az esetek 32-43%-ban jelentkezik [65, 192, 193]. A patella-ínnal végzett elülső keresztszalag pótlás jól bevált műtéti megoldás, de a jó klinikai eredmények ellenére a gyakran jelentkező adó területi fájdalom jelentősen korlátozza a technika szélesebb körben történő felhasználását. Az adó területi fájdalom és az ebből fakadó esetleges funkció csökkenés sok esetben akár olyan fokú is lehet, mely megkérdőjelezi az autograftok létjogosultságát, különösen olyan indikációkban, amikor a sebész számára más lehetőség is kínálkozik [65]. A tudományos vizsgálatok a donor-területi panaszokat komplexen kezelik és nem választják szét a csontos illetve lágyrész regeneráció szerepét. A patella-ínas rekonstrukció következményeképpen jelentkező adó területi panaszok kiküszöbölésére az irodalomban több próbálkozást is találunk, lásd az 1.4. fejezetben, melyek leginkább a lágyrészek regenerációjának javítását célozzák meg. Ezzel szemben a patella és tibiális adó területek lassú vagy elégtelen csontos átépülése is befolyással lehet a panaszok kialakulására, viszont ennek vizsgálatára kevés tudományos adat áll rendelkezésre.

Manapság a csontpótlók vizsgálata gyakran áll a tudományos kísérletek középpontjában. Számos csontpótlásra alkalmas anyagot ismerünk, melyeket eltérő indikációban alkalmazunk. BPTB-vel végzett elülső keresztszalag plasztika esetén, amikor a donor-területi fájdalom csökkentése a cél, a teljesen átépülő csontpótló anyagok jönnek szóba. Az autológ csontszövet minden szempontból ideális csontpótló anyagnak számít. Ennek legfőbb oka azon túl, hogy rendelkezik oszteokonduktív és oszteoinduktív tulajdonságokkal, hogy tartalmaz oszteogenetikus sejteket is. Kézenfekvő megoldásnak

tűnik tehát, hogy a BPTB műtét végén az említett csonthiányokat, a graftok méretre igazítása után megmaradó spongiosával, illetve a furatokból származó spongiosus csontőrleménnyel töltsük fel. A módszer hátránya, hogy az így nyert csont nem elegendő mennyiségű mind a két adó terület kitöltésére. Mindezt saját tapasztalataink is igazolják. Jelen vizsgálatban, munkacsoportunk gyakorlata szerint, a tibia csonthiány feltöltését tűztük ki célul, ami csupán 63%-ban volt megfelelő mértékű. Az üreg feltöltését követően az autológ csontos részeket vérömleny rögzíti. Impaktáció nem történt/történik, annak érdekében, hogy a csonthiány minél teljesebb feltöltése érdekében, ezzel segítve a perioszteális gyógyulási folyamatokat és a kortikális mihamarabbi regenerációját. A módszer hátránya viszont, hogy az egész csonthiányt tekintve a csontpótló mennyisége nem közelíti meg az ép szövet csontmennyiségét, ezért a regeneráció során a hiányzó struktúrákat is a szervezetnek kell kialakítani. A legoptimálisabb tehát az lenne, ha az autológ spongióza mennyisége elegendő volna, hogy zömítéses technikával feltölthessük a csonthiányt, hogy az ép csontnak megfelelő mennyiségű csontpótló kerüljön az üregbe. A regenereratív folyamatoknak így csupán átépíteni kellene a területet, míg ellenkező esetben pótolni kell a hiányzó csontos extracelluláris mátrixot. Mivel az autológ spongióza mennyisége nem elegendő, ennek önálló használatánál a zömítéstől eltekintünk. Saját műtéttechnikai rutinunk során tehát az autogén csontfragmentumokat a tibia donor-terület feltöltésére használjuk, a patella csonthiányt nem pótoljuk, az üreget vérömleny tölti meg. Vizsgálatunk tervezésénél az előbb említett műtéti megoldást tartottuk standardnak és kontroll csoportként alkalmaztuk.

Az autológ spongiosa csont korlátozott mennyisége megteremtette az igényt a közel hasonló tulajdonságokkal rendelkező, de korlátlan mennyiségben elérhető pótló anyagra. Az allogén csont széles körben elterjedt, tekintettel arra, hogy teljesen biokompatibilis és emellett megfelelő oszteokonduktív sajátosságokkal rendelkezik. A donorcsontok különböző típusú sterilizálása azonban csökkenti csontregenárciós potenciáljukat, elpusztítja az oszteogenetikus sejteket és denaturálja az oszteoinduktív fehérjék jelentős részét az allograft felszínén [194]. Az allograftok fenti eljárások során elvesztett oszteoinduktivitása különböző fehérjékkel, növekedési faktorokkal vagy akár mezenhimális őssejtekkel fokozható. Az említett módon kezelt komplex implantátumokkal kísérletes vizsgálatok során rendkívül jó csont átépülést értek el, de klinikai alkalmazásuk még jelentősen korlátozott [21, 195]. Annak ellenére, hogy a

csontpótlók intenzív tudományos érdeklődésnek örvendenek, kevés adat található arra vonatkozólag, hogy BPTB technikát követően törekednének a csonthiányok feltöltésére. Cervellin és munkatársai prospektív, randomizált vizsgálat során trombocitában gazdag plasmával (PRP) töltötték fel mindkét adóterületet. 12 hónap után azt tapasztalták, hogy a beültetéseknek köszönhetően szignifikánsan csökkentek a donor-területi panaszok a kezelt csoportban [14]. Az eltérések a VISA pontrendszerben jeletkeztek, melyben a feltöltött csoport 14%-os javulást mutatott. Ezzel szemben a VAS pontozás, mely kifejezetten a szubjektív donor-területi panaszokra kérdez rá nem hozott szignifikáns eredményt. Seijas és munkatársai hasonló vizsgálatot végeztek, csak ebben az esetben az adóterületeket növekedési faktorokkal dúsított plazmával (PRGF) töltötték ki, mellyel jelentősen sikerült lecsökkenteni a donor-terület regenerációs idejét, viszont nem közöltek konkrét adatot a panaszok csökkenését illetően [13]. A fenti két tanulmány megerősíti, hogy  a szérum alapú terápiákkal jól serkenthető a gyógyulási folyamat, ugyanakkor a vérkészítmények korábban már tárgyalt heterogén összetétele lehet, hogy nem feltétlenül csak a regeneráció elősegítésében aktív anyagokat tartalmazza, hanem olyanokat is, amelyek mindezt gátolhatják, például differenciált sejtek de-differenciációja révén, vagy kellemetlen gyulladásos mellékhatásokat okozva [149, 150, 196]. A mezenhimális őssejtek, különböző bone morphogenetic proteinek (BMP) és vérkészítmények ilyen célú alkalmazásának jelentős költség vonzata és magas szövődmény aránya miatt a klinikum részéről megfogalmazódott az igény a kevésbé összetett, ugyanakkor megfizethető, a napi gyakorlatban is használható konzervcsontok iránt. A BoneAlbumin mindezen igényeknek megfelel, hiszen az albumin révén oszteoinduktív, az allograft szerkezeti adottságai miatt pedig oszteokonduktív sajátossággal is bír, a liofilizált forma pedig lehetővé teszi a konzerv formában történő forgalmazást.

Munkacsoportunk korábbi vizsgálatai során igazolódott, hogy az albuminnal felületkezelt és liofilizált csont allograft (BoneAlbumin) képes helyreállítani a graft néhány, a sterilizálási eljárások során lecsökkent funkcióját. Az albumin igazoltan fokozza az őssejtek kitapadását és proliferációját az oltványon. Kisállat kísérletek során bebizonyosodott, hogy az albuminnal történő kezelés az őssejtek aktiválásával képes gyorsabb csontosodást indukálni és csökkenteni a gyógyulási időt [178, 179, 181]. A BoneAlbumin fentebb részletezett pozitív tulajdonságait az első humán vizsgálat is

megerősítette, melynek során aszeptikus csípő és térdízületi protézis lazulások miatt elvégzett revíziós műtétek során albuminnal bevont strukturális graftok kerültek beültetésre [184]. A fenti vizsgálatban, az elért jó klinikai eredményeken túl, a beültetésre került konzervcsontok körül még egy év után is fokozott oszteoblaszt aktivitás volt mérhető [184].

Jelen kísérletben BPTB oltvánnyal végzett elülső keresztszalag pótlás során kialakult adóterületi csonthiányok feltöltését végeztük BoneAlbumin csontőrleménnyel.

A vizsgálati csoportok kialakításánál felmerült, hogy hasznos volna az albumin kedvező hatását izoláltan, humán vizsgálatban is bizonyítani, azonban bevonat nélküli allograft őrleményt az állatkísérleteink eredményei alapján nem használhattunk, hiszen nem etikus a betegeket olyan kezelésben részesíteni, melyről feltételezzük, hogy gyengébb eredményt hoz, mint az általunk jónak ítélt terápia. Ezért a kontroll csoportot a rutin módon végzett technika, a vizsgálati csoportot pedig a kedvezőbbnek feltételezett BoneAlbuminos feltöltés alkotta.

A BPTB technikával végzett elülső keresztszalag pótlás esetén a csontos konszolidáció idővel létrejön, így az ezen beavatkozásokkal kapcsolatos szövetregenerációs kísérletek középpontjában leginkább a fájdalom csökkentése áll. Hipotézisünk az volt, hogy a csontos adóterületek regenerációja BoneAlbuminnal gyorsítható, mely a donor-területi panaszok csökkenéséhez vezet. Vizsgálatunkban mindez igazolódott is, miszerint ha a csonthiányokat BoneAlbuminnal töltjük fel, akkor a donor-területi panaszok már a 6 hetes vizsgálatnál szignifikánsan, 44%-kal csökkennek guggolás és térdelés közben. A 6 hónapos kontrollnál ezek az értékek mindkét csoportban javultak, viszont az albuminnal feltöltött csoport immár 75%-os fájdalomcsökkenést mutatott. Kezdeti elképzelésünket támasztják alá a radiomorfológiai mérések is, melyek igazolták, hogy a BoneAlbumin feltöltés teljesebb, és gyorsabb regenerációt indukált a csontos adóterületeken. A kedvezőbb regenerációs hajlam a csonthiány méretében és a regenerálódott újcsont minőségében (denzitás) is megmutatkozott. Fontos megjegyezni, hogy jelen vizsgálatunkban a kontroll csoportot a standard műtéti technika, a vizsgálati csoportot a BoneAlbumin-os augmentáció jelentette. A két csoportban a donor-területek szétválasztása nélkül végeztük el a vizsgálatokat, hiszen nem létezik olyan műtéti indikáció, ahol vagy csak a patellából, vagy csak a tibiából metszünk ki csontblokkot. Ezt figyelembevéve azonban megjegyzendő, hogy míg a patella esetében a kontroll csoport

csupán vérömlennyel volt kitöltve, a tibiánál a csonthiányba csaknem minden esetben került valamennyi autológ csont. Utóbbinál emiatt nem a tiszta BoneAlbuminos feltöltés kedvező hatásait vizsgáltuk, hanem azt, hogy van-e mérhető hatása, ha autológ csonthoz keverjük. Mérésink szerint egyik csoportban sem volt lényeges visszamaradó csonthiány, jelezvén, hogy a tibia csonthiány akkor is szépen gyógyul, ha nem optimális mennyiségű autológ csonttal töltjük fel. Mindez arra is utal, hogy feltehetően a patella csonthiány nagyobb mértékben játszik szerepet a donor-területi panaszok kialakulásában, mint a tibia csonthiány. A denzitás méréseknél ugyanakkor szignifikáns különbséget tapasztaltunk, mégpedig, ha az autológ csontot BoneAlbuminnal egészítjük ki, akkor denzebb csontot kapunk, mely ugyanakkor az ép csontéhoz hasonló strukturáltságot mutat (19. Ábra). A strukturáltság megjelenése arra utal, hogy a műtét során őrleményként impaktált csontpótló átépül és új csontot képez. Ebből következően a denzitás emelkedés is a kedvezőbben gyógyuló csont mérőszáma, és nem pedig az át nem épült csontpótló tömény jelenlétéből fakad. Mindez azt jelentheti, hogy a BoneAlbumin még a „gold standard" csontpótló hatásait is képes felerősíteni. Jelen vizsgálatunk tervezésekor célul leginkább a patella csonthiány mérését tűztük ki célul, és nem számítottunk arra, hogy mérhető különbséget tapasztalunk a tibia csonthiány esetében is. Azt, hogy a BoneAlbumin autológ csonttal keverve mennyire kínál hatékony csontpótlási megoldást, további vizsgálatoknak kell a jövőben alávetni. Ennek elemzésekor fontos meghatározni, hogy milyen arányban kerüljön a feltöltendő üregbe a BoneAlbumin – autológ spongióza keverék. Jelen vizsgálatban ez változó volt az autológ csont változó mennyisége miatt. Fontos lenne ugyanakkor megtalálni azt az optimális keverési arányt, ami a legkedvezőbb csontosodást indukálja. Feltételezzük, hogy mixtúrában az albumin közvetlenül az autológ spongiózával érkező sejtekre hat, támogatva őket a lokális proliferációban. Itt visszautalunk egy korábban bemutatott technikai részletre, vagyis, csupán autológ csonttal való feltöltés esetén nem történik zömítés a mennyiségi korlátok miatt. BoneAlbuminnal való kiegészítéskor viszont már elegendő a csontpótló keverék ahhoz, hogy impaktáljunk. Ennek eredménye, hogy lényegesen magasabb arányú csontmátrix áll rendelkezésre, amit a szervezetnek nem kell újra felépíteni. A kedvező regenerációt ezenkívül az autológ sejtek jelenléte, valamint ezek proliferációját segítő albumin eredményezi. A technikával tehát a regeneratív medicina minden aspektusa érvényesül, vagyis oszteokonduktív mátrixal juttatunk oszteogén sejteket a célterületre, melyek

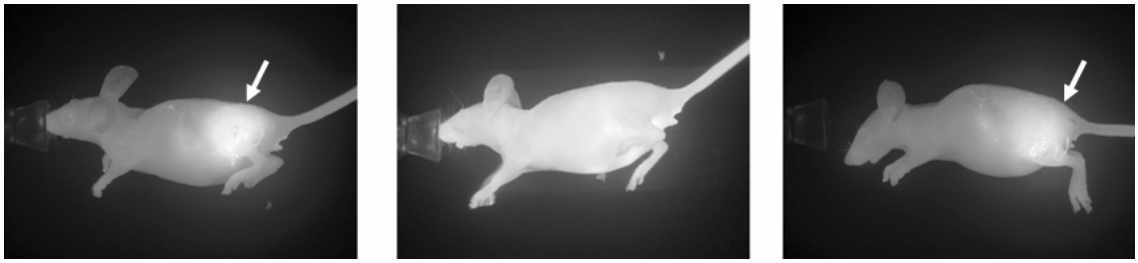
oszteoinduktív faktorok (albumin) jelenlétével eredményez hatékony gyógyulást. Fontos lesz a jövőben tehát meghatároznia a pontos keverési arányt, valamint klinikai vizsgálat kereteiben összehasonlítást végezni, a keverékek és tiszta albumin, valamint a standard műtéti technika között. Jelen eredmények ebből a szempontból bíztató előkísérletnek számítanak.

A csontpótló eljárások vizsgálata kapcsán egyáltalán nem elhanyagolható kérdés, hogy alkalmazásuk során indukálnak-e túlzott, hipertófiás vagy ektópiás csontképződést. Az erre a célra gyakran alkalmazott, rekombináns formában is elérhető, bone morphogenetic proteinek (BMP) felhasználása kapcsán az irodalomban számos említést találunk ektópiás csontképződésről, mint az eljárás gyakori mellékhatásáról. Többek között ez az oka annak, hogy a BMP-vel végzett csontpótló eljárások nem váltották be a klinikumban eddig hozzájuk fűzött reményeket [197, 198]. Itt fontos megjegyezni, hogy a fenti mellékhatásnak BMP dózisfüggőségével kapcsolatban kevés adatot találunk a szakirodalomban. Tekintettel arra, hogy az allogén csont a fiziológiás szintnek megfelelően ugyancsak tartalmazhat BMP-t, jelen vizsgálatban ennek a mellékhatásnak a monitorizálására külön hangsúlyt fektettünk. Éppen ezért, néhány esetben CT vizsgálatokat végeztünk az első posztoperatív héten. Több esetben tapasztaltuk, hogy a kortikálisig feltöltött donor-terület közvetlen környezetében lévő kötőszövetekben az implantációból visszamaradt csontfragmentum volt látható. Ezek a csontfragmentumok egyértelműen a műtét, illetve a feltöltés következményei, hiszen ekkor még újcsontképződést makroszkóposan nem lehet kimutatni. Ehhez képest 6 hónappal a műtét után készült CT felvételeken nem észleltünk hipertrófiás csontosodást és a posztoperatív felvételeken ábrázolódó, a feltöltésből származó diszlokálódott csontfragmentumok is jórészt felszívódtak. Hasonlóképpen ektópiás lokalizációban sem mutatkozott inadekvát csontképződés. Újcsont képződést tehát csak a feltöltött oszteotómiának megfelelően tapasztaltunk. Mivel mindezt albumin hozzáadásával tapasztaltuk, arra következtethetünk, hogy az alkalmazott allograft őrlemény BoneAlbumin formában sem okoz túlzott csontképződést, ezért használata ebből a szempontból is biztonságosnak tekinthető.

Felmerül ugyanakkor a kérdés, hogy milyen hatásmechanizmus állhat az albumin jobb, de mégsem túlzott csontosodást előidéző jelensége mögött. A bevezetésben bemutatásra került az a néhány tanulmány, ami az albumin csontosodást befolyásoló szerepét firtatja.

Yamaguchi és munkatársai in vivo állatkísérletek során igazolták, hogy csonttörést követően fokozódik a szérum albumin szint [176]. Egy másik vizsgálatban Ishida és Yamaguchi kísérletesen bizonyították, hogy az albumin fokozza az oszteoblasztok proliferációját [199]. Különböző munkacsoportok igazolták, hogy az albumin jelenléte fokozza az őssejtek kitapadását különböző tulajdonságú felületekhez, kedvező miliőt biztosítva későbbi sejtes regenerációhoz [172, 173, 180]. Munkacsoportunk korábbi konklúziója is az volt, hogy az albumin elősegíti őssejtek megtapadását, túlélését és szaporodását. Tapasztaltuk azt is, hogy az albumin különböző állatmodellekben is fokozottabb csontosodást eredményez. Yamaguchi munkája és a saját eredményeink alapján hipotézisünk az, hogy az albumin in vivo körülmények között is kedvezően hat a progenitor sejtek aktivációjára. Azt feltételezzük, hogy az albumin lokális koncentrációjának megemelése rekrutáló hatást eredményez, emiatt a környező, egyébként is aktív periosteális és csontvelői sejtek populációja gyarapszik. Mindez lehetővé teszi, hogy a szervezet által nehezebben, lassabban vagy egyáltalán nem gyógyuló csonthiányok regenerációját lényegesen magasabb számú progenitor sejt kezdje meg. Ezt támasztja alá Yamaguchi megállapítása is, mely szerint az albumin proliferatív hatással bír oszteoblasztokra, valamint az is, hogy az oszteoblasztok egyáltalán képesek albumint szintetizálni, pedig korábban úgy gondolták, hogy ez csupán a májsejtek tulajdonsága [199]. Ha tehát feltételezzük, hogy az albumin kezdetben megnövekedett koncentrációja *in vivo* körülmények között proliferatív hatást eredményez, fontos elemeznünk, hogy nem válik-e a folyamat túlzottá. Mivel sem jelen kísérletben, sem pedig korábbi *in vivo* kutatásaink során nem regisztráltunk ektópiás csontosodást, feltételezhetjük, hogy a kezdetben jelentkező proliferatív hatás lecseng.

Ismert, hogy az albumin könnyen oldódó molekula. Tudjuk azt is, hogy fagyasztva szárítás technikájával a graftokról 48 óra alatt leoldódik az albumin [179]. Weszl próbakísérlet gyanánt biolumineszcens albuminos allografotot varrt patkányokba szubkután lokalizációban. A tesztelt biolumineszcens eszköz mérései alapján kezdetben nagy lokális albumin jel mérhető, ami fokozatosan eloszlik az egész testben. Tizenkét óra elteltével még mindig mérhető az albumin biolumineszcens jele a beültetés helyén, azonban ennek mértéke a kezdetinél már alacsonyabb volt (20. ábra).



**20. ábra** Az albumin eloszlása a szervezetben 1, 2 és 12 óra után. Az albumin molekula csont allograft felületére történt liofilizálását követően leoldódik, és eloszlik a szervezetben.

Mindebből arra következtetünk, hogy az albumin proliferatív hatása csupán a regeneráció kezdeti gyulladásos fázisában, feltehetően néhány napig érvényesül. Feltehetően az albumin hatás lecsengését követően a differenciációs folyamatok kerülnek előtérbe, a lokálisan megemelkedett progenitorok oszteogén irányba fejlődnek. Ez a folyamat pedig a regeneráció következő fázisát, a szöveti remodellációt támogathatja, a megnövekedett sejtszám pedig lehetővé teszi nagyobb csonthiányok begyógyulását is. A proliferáció-differenciáció egyensúly tehát az albumin lokális koncentrációjának megemelésével előbbi javára billenhet, majd az albumin leoldódása és eliminálódása után a differenciáció kerülhet előtérbe, melynek során a regeneratív folyamtok teljes irányítását ismét a szervezet végzi el. A proliferáció-differenciáció elméletünket alátámasztja Yamaguchi észrevétele, is miszerint albumin hatására csökken az oszteoblasztok alkalikus foszfatáz (ALP) expressziója. Az ALP az *in vitro* technikákban a sejtek oszteogén differenciációjának markere. Yamaguchi eredményei tehát szintén arra utalnak, hogy az albumin hatására a proliferativ folyamatok erősödnek fel a differenciáció „kárára". Az albumin hatásmechanizmusát boncolgatja Horváthy összefoglaló közleménye, melyben felmerül a szelektív albumin recepor létezése is, mely direkt jelátviteli folyamatokat is feltételez [177].Tény azonban, hogy jelenleg minderre pontos választ nem tudunk adni, azonban az albumin kedvező lokális hatásai kellő indokot adnak arra, hogy további vizsgálatokat tervezzünk.

## 6. Következtetések

Jelen klinikai vizsgálat eredményeképpen a következő megállapításokra jutottunk.

1. A BoneAlbumin őrlemény technikailag alkalmas anyag a patella ínnal végzett elülső keresztszalag műtét csontos adó területeinek feltöltésére. Alkalmazásával összefüggésben káros mellékhatások és nem várt szövődmények nem jelentkeztek a 6 hónapos vizsgálati idő alatt.
2. A BoneAlbumin önállóan alkalmazva gyorsítja a patella ínnal végzett elülső keresztszalag műtét patella csonthiányának regenerációját, melyet a visszamaradó csonthiány mérete és a regenerálódott újcsont denzitása igazol. A BoneAlbumin, autológ csonthoz keverve javítja az újcsontképződést a tibiális adóterületek feltöltését követően is.
3. A patella ínnal végzett elülső keresztszalag műtétet követően keletkező csonthiányok BoneAlbuminos feltöltése jelentősen csökkenti a donor-területi panaszok mértékét térdelés és guggolás közben.

## 7. Összefoglalás

Az elülső keresztszalag szakadásának műtéti megoldása elengedhetetlen a térdízület degenerációtól való megóvásának érdekében. A két legismertebb és világszerte alkalmazott technika között irodalmi adatok alapján a térdízület stabilitását tekintve nincs lényeges különbség. A BPTB graft alkalmazásakor viszont lehetőség van korai, intenzív rehabilitációra, ami gyorsítja a felépülést és hamarabb lehetővé teszi a sporthoz való visszatérést. A BPTB graft esetében azonban jelentős arányban donor-területi panaszok lépnek fel, melyek korlátozzák a technika szélesebb körű használatát. A donor-területi panaszok kialakulásában a csontos adó területek elhúzódó gyógyulása is szerepet játszik, melynek csökkentését tűztük ki célul jelen vizsgálatunkban. Eredményeink szerint a BoneAlbumin-os feltöltés 6 hét elteltével 44%-kal, 6 hónap elteltével 75%-kal csökkenti a donor-területi panaszokat, miközben alkalmazása a műtéti technikát nem bonyolítja jelentősen és a szövődmények száma sem növekszik. A radiomorfológiai vizsgálatok rávilágítottak arra, hogy a csontos adó területek BoneAlbuminos feltöltése nagyobb mennyiségű, és jobb minőségű új csont képződését teszik lehetővé, ektópiás csontosodás nélkül. Mindez bizonyítja, hogy a csontos adóterületek regenerációjának javítása BoneAlbuminnal jelentősen csökkenti a donor-területi panaszokat BPTB keresztszalag pótlást követően, következményesen javítva a klinikai eredményeket is.

Jelen vizsgálatban igazolódott, hogy a BoneAlbumin biztonságos és hatékony csontpótló, ezért az indikációs kör további vizsgálatát tervezzük, főként olyan esetekre fókuszálva, ahol a csontosodás kontrollált fokozása és a teljes átépülés az elsődleges cél.

## 8. Summary

In order to prevent the knee joint from degeneration, surgical reconstruction is needed after anterior knee ligament rupture. According to literature data, there is no significant difference in postoperative knee stability between the two common, world wide used techniques. Additionally, BPTB technique enables early and more invasive rehabilitation, which results in faster return to sport activities. After using the BPTB graft, on the other hand, donor site discomfort appears in significant number of the cases, which decreases the wider application of the method. The donor site morbidity is influenced by the elongated regeneration of the bony defects, which we aimed to decrease by filling the them with BoneAlbumin. According to our results, donor site pain decreased by 44% after six weeks and 75% after six months with BoneAlbumin augmentation, while the surgical technique is not modified significantly and the number of complication remains the same. According to the radio morphologic studies, BoneAlbumin filling increased new bone quantity and quality, without ectopic bone formation. These results prove that the filling of the bone defects with albumin supports the regeneration of the area and decreases donor site pain, which consequently lead to better clinical results. Our study shows that BoneAlbumin is safe and effective bone substitute, for this reason we are planning to investigate further indications, focusing on cases in which controlled and more complete bone regeneration is needed.

## 9. Irodalomjegyzék


1. Steinbruck K. (1999) Epidemiology of sports injuries-25-year-analysis of sports orthopedic-traumatologic ambulatory care. Sportverletz Sportschaden, 13: 38-52.
2. Maes R, Andrianne Y, Remy P. (2002) Increasing incidence of knee ligament injuries in alpine skiing: epidemiology and etiopathogenetic hypotheses. Rev Med Brux, 23: 87-91.
3. Schafer FK, Order B, Bolte H, Heller M, Brossmann J. (2002) Sport injuries of the extensor mechanism of the knee. Radiologe, 42: 799-810.
4. Frank CB, Jackson DW. (1997) The science of reconstruction of the anterior cruciate ligament. J Bone Joint Surg Am, 79: 1556-76.
5. Giove TP, Miller SJ, 3rd, Kent BE, Sanford TL, Garrick JG. (1983) Non-operative treatment of the torn anterior cruciate ligament. J Bone Joint Surg Am, 65: 184-92.
6. Konrads C, Reppenhagen S, Plumhoff P, Hoberg M, Rudert M, Barthel T. (2016) No significant difference in clinical outcome and knee stability between patellar tendon and semitendinosus tendon in anterior cruciate ligament reconstruction. Arch Orthop Trauma Surg, 136: 521-5.
7. Goldblatt JP, Fitzsimmons SE, Balk E, Richmond JC. (2005) Reconstruction of the anterior cruciate ligament: meta-analysis of patellar tendon versus hamstring tendon autograft. Arthroscopy, 21: 791-803.
8. Kartus J, Stener S, Lindahl S, Engstrom B, Eriksson BI, Karlsson J. (1997) Factors affecting donor-site morbidity after anterior cruciate ligament reconstruction using bone-patellar tendon-bone autografts. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 5: 222-8.
9. Kartus J, Ejerhed L, Sernert N, Brandsson S, Karlsson J. (2000) Comparison of traditional and subcutaneous patellar tendon harvest. A prospective study of donor site-related problems after anterior cruciate ligament reconstruction using different graft harvesting techniques. Am J Sports Med, 28: 328-35.
10. Plancher KD, Steadman JR, Briggs KK, Hutton KS. (1998) Reconstruction of the anterior cruciate ligament in patients who are at least forty years old. A long-term follow-up and outcome study. J Bone Joint Surg Am, 80: 184-97.
11. Shaieb MD, Kan DM, Chang SK, Marumoto JM, Richardson AB. (2002) A prospective randomized comparison of patellar tendon versus semitendinosus and gracilis tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med, 30: 214-20.
12. Higuchi H, Kobayashi A, Ikeda K, Hatayama K, Yanagisawa S, Kato K. (2017) Efficacy of beta-Tricalcium Phosphate Graft into the Bone Defects after Bone-Patellar Tendon-Bone Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. J Knee Surg, 30: 467-473.
13. Seijas R, Rius M, Ares O, Garcia-Balletbo M, Serra I, Cugat R. (2015) Healing of donor site in bone-tendon-bone ACL reconstruction accelerated with plasma rich in growth factors: a randomized clinical trial. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 23: 991-7.

14. Cervellin M, de Girolamo L, Bait C, Denti M, Volpi P. (2012) Autologous platelet-rich plasma gel to reduce donor-site morbidity after patellar tendon graft harvesting for anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized, controlled clinical study. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 20: 114-20.
15. Samuelsson K, Andersson D, Karlsson J. (2009) Treatment of anterior cruciate ligament injuries with special reference to graft type and surgical technique: an assessment of randomized controlled trials. Arthroscopy, 25: 1139-74.
16. Aune AK, Holm I, Risberg MA, Jensen HK, Steen H. (2001) Four-strand hamstring tendon autograft compared with patellar tendon-bone autograft for anterior cruciate ligament reconstruction. A randomized study with two-year follow-up. Am J Sports Med, 29: 722-8.
17. O'Neill DB. (2001) Arthroscopically assisted reconstruction of the anterior cruciate ligament. A follow-up report. J Bone Joint Surg Am, 83-A: 1329-32.
18. Webster KE, Feller JA, Hameister KA. (2001) Bone tunnel enlargement following anterior cruciate ligament reconstruction: a randomised comparison of hamstring and patellar tendon grafts with 2-year follow-up. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 9: 86-91.
19. Persson A, Fjeldsgaard K, Gjertsen JE, Kjellsen AB, Engebretsen L, Hole RM, Fevang JM. (2014) Increased risk of revision with hamstring tendon grafts compared with patellar tendon grafts after anterior cruciate ligament reconstruction: a study of 12,643 patients from the Norwegian Cruciate Ligament Registry, 2004-2012. Am J Sports Med, 42: 285-91.
20. Baló E. SK, Hangody Gy., Abkarovits G., Bodó L., Hangody L. (2010) Izolált elülső keresztszalag sérülés ellátásánál felhasznált különböző autológ graft típusok összehasonlító vizsgálata. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet, 53: 13-24.
21. Kartus J, Movin T, Karlsson J. (2001) Donor-site morbidity and anterior knee problems after anterior cruciate ligament reconstruction using autografts. Arthroscopy, 17: 971-80.
22. Buss DD, Warren RF, Wickiewicz TL, Galinat BJ, Panariello R. (1993) Arthroscopically assisted reconstruction of the anterior cruciate ligament with use of autogenous patellar-ligament grafts. Results after twenty-four to forty-two months. J Bone Joint Surg Am, 75: 1346-55.
23. Hsieh YF, Draganich LF, Ho SH, Reider B. (2002) The effects of removal and reconstruction of the anterior cruciate ligament on the contact characteristics of the patellofemoral joint. Am J Sports Med, 30: 121-7.
24. Irrgang JJ, Harner CD. (1995) Loss of motion following knee ligament reconstruction. Sports Med, 19: 150-9.
25. Harner CD, Irrgang JJ, Paul J, Dearwater S, Fu FH. (1992) Loss of motion after anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med, 20: 499-506.
26. Kartus J, Magnusson L, Stener S, Brandsson S, Eriksson BI, Karlsson J. (1999) Complications following arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction. A 2-5-year follow-up of 604 patients with special emphasis on anterior knee pain. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 7: 2-8.

27. Sachs RA, Daniel DM, Stone ML, Garfein RF. (1989) Patellofemoral problems after anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med, 17: 760-5.
28. Aglietti P, Buzzi R, D'Andria S, Zaccherotti G. (1993) Patellofemoral problems after intraarticular anterior cruciate ligament reconstruction. Clin Orthop Relat Res, 195-204.
29. Muneta T, Sekiya I, Ogiuchi T, Yagishita K, Yamamoto H, Shinomiya K. (1998) Objective factors affecting overall subjective evaluation of recovery after anterior cruciate ligament reconstruction. Scand J Med Sci Sports, 8: 283-9.
30. Chambers GH. (1972) The prepatellar nerve. A cause of suboptimal results in knee arthrotomy. Clin Orthop Relat Res, 82: 157-9.
31. Poehling GG, Pollock FE, Jr., Koman LA. (1988) Reflex sympathetic dystrophy of the knee after sensory nerve injury. Arthroscopy, 4: 31-5.
32. Berg P, Mjoberg B. (1991) A lateral skin incision reduces peripatellar dysaesthesia after knee surgery. J Bone Joint Surg Br, 73: 374-6.
33. Mishra AK, Fanton GS, Dillingham MF, Carver TJ. (1995) Patellar tendon graft harvesting using horizontal incisions for anterior cruciate ligament reconstruction. Arthroscopy, 11: 749-52.
34. Kartus J, Lindahl S, Stener S, Eriksson BI, Karlsson J. (1999) Magnetic resonance imaging of the patellar tendon after harvesting its central third: a comparison between traditional and subcutaneous harvesting techniques. Arthroscopy, 15: 587-93.
35. Burks RT, Haut RC, Lancaster RL. (1990) Biomechanical and histological observations of the dog patellar tendon after removal of its central one-third. Am J Sports Med, 18: 146-53.
36. Coupens SD, Yates CK, Sheldon C, Ward C. (1992) Magnetic resonance imaging evaluation of the patellar tendon after use of its central one-third for anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med, 20: 332-5.
37. Svensson M, Kartus J, Ejerhed L, Lindahl S, Karlsson J. (2004) Does the patellar tendon normalize after harvesting its central third?: a prospective long-term MRI study. Am J Sports Med, 32: 34-8.
38. Bernicker JP, Haddad JL, Lintner DM, DiLiberti TC, Bocell JR. (1998) Patellar tendon defect during the first year after anterior cruciate ligament reconstruction: appearance on serial magnetic resonance imaging. Arthroscopy, 14: 804-9.
39. Koseoglu K, Memis A, Argin M, Arkun R. (2004) MRI evaluation of patellar tendon defect after harvesting its central third. Eur J Radiol, 50: 292-5.
40. Wiley JP, Bray RC, Wiseman DA, Elliott PD, Ladly KO, Vale LA. (1997) Serial ultrasonographic imaging evaluation of the patellar tendon after harvesting its central one third for anterior cruciate ligament reconstruction. J Ultrasound Med, 16: 251-5.
41. Jarvela T, Paakkala T, Kannus P, Toivanen J, Jarvinen M. (2004) Ultrasonographic and power Doppler evaluation of the patellar tendon ten years after harvesting its central third for reconstruction of the anterior cruciate ligament: comparison of patients without or with anterior knee pain. Am J Sports Med, 32: 39-46.

42. Yazdanshenas H, Madadi F, Madadi F, Washington ER, 3rd, Jones K, Shamie AN. (2015) Patellar tendon donor-site healing during six and twelve months after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. J Orthop, 12: 179-83.
43. Nixon RG, SeGall GK, Sax SL, Cain TE, Tullos HS. (1995) Reconstitution of the patellar tendon donor site after graft harvest. Clin Orthop Relat Res, 162-71.
44. Berg EE. (1992) Intrinsic healing of a patellar tendon donor site defect after anterior cruciate ligament reconstruction. Clin Orthop Relat Res, 160-3.
45. Battlehner CN, Carneiro Filho M, Ferreira Junior JM, Saldiva PH, Montes GS. (1996) Histochemical and ultrastructural study of the extracellular matrix fibers in patellar tendon donor site scars and normal controls. J Submicrosc Cytol Pathol, 28: 175-86.
46. Kartus J, Movin T, Papadogiannakis N, Christensen LR, Lindahl S, Karlsson J. (2000) A radiographic and histologic evaluation of the patellar tendon after harvesting its central third. Am J Sports Med, 28: 218-26.
47. Noyes FR, Butler DL, Grood ES, Zernicke RF, Hefzy MS. (1984) Biomechanical analysis of human ligament grafts used in knee-ligament repairs and reconstructions. J Bone Joint Surg Am, 66: 344-52.
48. Schatzmann L, Brunner P, Staubli HU. (1998) Effect of cyclic preconditioning on the tensile properties of human quadriceps tendons and patellar ligaments. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 6 Suppl 1: S56-61.
49. Woo SL, Hollis JM, Adams DJ, Lyon RM, Takai S. (1991) Tensile properties of the human femur-anterior cruciate ligament-tibia complex. The effects of specimen age and orientation. Am J Sports Med, 19: 217-25.
50. Bach BR, Jr., Jones GT, Sweet FA, Hager CA. (1994) Arthroscopy-assisted anterior cruciate ligament reconstruction using patellar tendon substitution. Two- to four-year follow-up results. Am J Sports Med, 22: 758-67.
51. Shelbourne KD, Beck MB, Gray T. (2015) Anterior cruciate ligament reconstruction with contralateral autogenous patellar tendon graft: evaluation of donor site strength and subjective results. Am J Sports Med, 43: 648-53.
52. Shelbourne KD, Klotz C. (2006) What I have learned about the ACL: utilizing a progressive rehabilitation scheme to achieve total knee symmetry after anterior cruciate ligament reconstruction. J Orthop Sci, 11: 318-25.
53. Shelbourne KD, Urch SE. (2000) Primary anterior cruciate ligament reconstruction using the contralateral autogenous patellar tendon. Am J Sports Med, 28: 651-8.
54. Bruck E, Ziring E, Giannadakis C, Gotzen L. (1998) [Morbidity after contralateral transplantation of the patellar ligament for cruciate ligament replacement]. Unfallchirurg, 101: 775-8.
55. Mastrokalos DS, Springer J, Siebold R, Paessler HH. (2005) Donor site morbidity and return to the preinjury activity level after anterior cruciate ligament reconstruction using ipsilateral and contralateral patellar tendon autograft: a retrospective, nonrandomized study. Am J Sports Med, 33: 85-93.
56. Drain O, Beaufils P, Thevenin Lemoine C, Boggione C, Katabi M, Charrois O, Boisrenoult P. (2007) [Mini-invasive double-incision for patellar tendon

harvesting in anterior cruciate ligament reconstruction]. Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot, 93: 836-41.
57. Drain O, Thevenin-Lemoine C, Boggione C, Charrois O, Boisrenoult P, Beaufils P. (2005) [Not Available]. Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot, 91: 55.
58. Gaudot F, Leymarie JB, Drain O, Boisrenoult P, Charrois O, Beaufils P. (2009) Double-incision mini-invasive technique for BTB harvesting: its superiority in reducing anterior knee pain following ACL reconstruction. Orthop Traumatol Surg Res, 95: 28-35.
59. Tsuda E, Okamura Y, Ishibashi Y, Otsuka H, Toh S. (2001) Techniques for reducing anterior knee symptoms after anterior cruciate ligament reconstruction using a bone-patellar tendon-bone autograft. Am J Sports Med, 29: 450-6.
60. Cerullo G, Puddu G, Gianni E, Damiani A, Pigozzi F. (1995) Anterior cruciate ligament patellar tendon reconstruction: it is probably better to leave the tendon defect open! Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 3: 14-7.
61. Brandsson S, Faxen E, Eriksson BI, Kalebo P, Sward L, Lundin O, Karlsson J. (1998) Closing patellar tendon defects after anterior cruciate ligament reconstruction: absence of any benefit. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 6: 82-7.
62. Caborn DN, Selby JB. (2002) Allograft anterior tibialis tendon with bioabsorbable interference screw fixation in anterior cruciate ligament reconstruction. Arthroscopy, 18: 102-5.
63. Asselmeier MA, Caspari RB, Bottenfield S. (1993) A review of allograft processing and sterilization techniques and their role in transmission of the human immunodeficiency virus. Am J Sports Med, 21: 170-5.
64. Shino K, Inoue M, Horibe S, Hamada M, Ono K. (1990) Reconstruction of the anterior cruciate ligament using allogeneic tendon. Long-term followup. Am J Sports Med, 18: 457-65.
65. Kraeutler MJ, Bravman JT, McCarty EC. (2013) Bone-patellar tendon-bone autograft versus allograft in outcomes of anterior cruciate ligament reconstruction: a meta-analysis of 5182 patients. Am J Sports Med, 41: 2439-48.
66. Kocher MS, Steadman JR, Briggs K, Zurakowski D, Sterett WI, Hawkins RJ. (2002) Determinants of patient satisfaction with outcome after anterior cruciate ligament reconstruction. J Bone Joint Surg Am, 84-A: 1560-72.
67. Boszotta H, Prunner K. (2000) Refilling of removal defects: impact on extensor mechanism complaints after use of a bone-tendon-bone graft for anterior cruciate ligament reconstruction. Arthroscopy, 16: 160-4.
68. Ferrari JD, Bach BR, Jr. (1998) Bone graft procurement for patellar defect grafting in anterior cruciate ligament reconstruction. Arthroscopy, 14: 543-5.
69. Sharkey NA, Donahue SW, Smith TS, Bay BK, Marder RA. (1997) Patellar strain and patellofemoral contact after bone-patellar tendon-bone harvest for anterior cruciate ligament reconstruction. Arch Phys Med Rehabil, 78: 256-63.
70. Bibbo C, Hatfield PS. (2010) Platelet-rich plasma concentrate to augment bone fusion. Foot Ankle Clin, 15: 641-9.

71. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. (2009) Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. Am J Sports Med, 37: 2259-72.
72. Mishra A, Woodall J, Jr., Vieira A. (2009) Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. Clin Sports Med, 28: 113-25.
73. Rehan N, Khanzada CEH, Volenec FJ, Bruder SP. *Cell Therapies for Bone Regenration* in *Principles of Regenerative Medicine*, A. Atala, Editor. 2008. p. 868-887.
74. Nkenke E, Neukam FW. (2014) Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival. Eur J Oral Implantol, 7 Suppl 2: S203-17.
75. Cricchio G, Lundgren S. (2003) Donor site morbidity in two different approaches to anterior iliac crest bone harvesting. Clin Implant Dent Relat Res, 5: 161-9.
76. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. (2005) Bone substitutes: an update. Injury, 36 Suppl 3: S20-7.
77. Misch CM. (1997) Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement. Int J Oral Maxillofac Implants, 12: 767-76.
78. Seiler JG, 3rd, Johnson J. (2000) Iliac crest autogenous bone grafting: donor site complications. J South Orthop Assoc, 9: 91-7.
79. Perry CR. (1999) Bone repair techniques, bone graft, and bone graft substitutes. Clin Orthop Relat Res, 71-86.
80. Lewandrowski KU, Gresser JD, Wise DL, Trantol DJ. (2000) Bioresorbable bone graft substitutes of different osteoconductivities: a histologic evaluation of osteointegration of poly(propylene glycol-co-fumaric acid)-based cement implants in rats. Biomaterials, 21: 757-64.
81. Olivier V, Faucheux N, Hardouin P. (2004) Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery. Drug Discov Today, 9: 803-11.
82. Oreffo RO, Driessens FC, Planell JA, Triffitt JT. (1998) Growth and differentiation of human bone marrow osteoprogenitors on novel calcium phosphate cements. Biomaterials, 19: 1845-54.
83. Rust PA, Kalsi P, Briggs TW, Cannon SR, Blunn GW. (2007) Will mesenchymal stem cells differentiate into osteoblasts on allograft? Clin Orthop Relat Res, 457: 220-6.
84. Bolland BJ, Partridge K, Tilley S, New AM, Dunlop DG, Oreffo RO. (2006) Biological and mechanical enhancement of impacted allograft seeded with human bone marrow stromal cells: potential clinical role in impaction bone grafting. Regen Med, 1: 457-67.
85. Pape HC, Evans A, Kobbe P. (2010) Autologous bone graft: properties and techniques. J Orthop Trauma, 24 Suppl 1: S36-40.
86. Summers BN, Eisenstein SM. (1989) Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion. J Bone Joint Surg Br, 71: 677-80.
87. Dodd CA, Fergusson CM, Freedman L, Houghton GR, Thomas D. (1988) Allograft versus autograft bone in scoliosis surgery. J Bone Joint Surg Br, 70: 431-4.

88. Costain DJ, Crawford RW. (2009) Fresh-frozen vs. irradiated allograft bone in orthopaedic reconstructive surgery. Injury, 40: 1260-4.
89. Nandi SK, Roy S, Mukherjee P, Kundu B, De DK, Basu D. (2010) Orthopaedic applications of bone graft & graft substitutes: a review. Indian J Med Res, 132: 15-30.
90. Li J, Wang Z, Pei GX, Guo Z. (2011) Biological reconstruction using massive bone allograft with intramedullary vascularized fibular flap after intercalary resection of humeral malignancy. J Surg Oncol, 104: 244-9.
91. Virolainen P, Mokka J, Seppanen M, Makela K. (2010) Up to 10 years follow up of the use of 71 cortical allografts (strut-grafts) for the treatment of periprosthetic fractures. Scand J Surg, 99: 240-3.
92. Santos AR, Lombello CB, Genari SC. *Technologies Applied to Stimulate Bone Regeneration*, in *Tissue Regeneration - From Basic Biology to Clinical Application*, J. Davies, Editor. 2012. p. 339-366.
93. Einhorn TA, Lane JM, Burstein AH, Kopman CR, Vigorita VJ. (1984) The healing of segmental bone defects induced by demineralized bone matrix. A radiographic and biomechanical study. J Bone Joint Surg Am, 66: 274-9.
94. Gruskin E, Doll BA, Futrell FW, Schmitz JP, Hollinger JO. (2012) Demineralized bone matrix in bone repair: history and use. Adv Drug Deliv Rev, 64: 1063-77.
95. Tiedeman JJ, Garvin KL, Kile TA, Connolly JF. (1995) The role of a composite, demineralized bone matrix and bone marrow in the treatment of osseous defects. Orthopedics, 18: 1153-8.
96. Keating JF, McQueen MM. (2001) Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma. J Bone Joint Surg Br, 83: 3-8.
97. Docquier PL, Delloye C. (2005) Treatment of aneurysmal bone cysts by introduction of demineralized bone and autogenous bone marrow. J Bone Joint Surg Am, 87: 2253-8.
98. Pietrzak WS, Perns SV, Keyes J, Woodell-May J, McDonald NM. (2005) Demineralized bone matrix graft: a scientific and clinical case study assessment. J Foot Ankle Surg, 44: 345-53.
99. Morone MA, Boden SD. (1998) Experimental posterolateral lumbar spinal fusion with a demineralized bone matrix gel. Spine (Phila Pa 1976), 23: 159-67.
100. Park HW, Lee JK, Moon SJ, Seo SK, Lee JH, Kim SH. (2009) The efficacy of the synthetic interbody cage and Grafton for anterior cervical fusion. Spine (Phila Pa 1976), 34: E591-5.
101. Kaiser LR. (1992) The future of multihospital systems. Top Health Care Financ, 18: 32-45.
102. Lee SH, Shin H. (2007) Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. Adv Drug Deliv Rev, 59: 339-59.
103. Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale FV, Jr., Ferrara N, Steinmetz H, Hoeffel J, Cleland JL, Daugherty A, van Bruggen N, Redmond HP, Carano RA, Filvaroff EH. (2002) Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. Proc Natl Acad Sci U S A, 99: 9656-61.

104. Urist MR, Strates BS. (1971) Bone morphogenetic protein. J Dent Res, 50: 1392-406.
105. Van de Putte KA, Urist MR. (1965) Osteogenesis in the interior of intramuscular implants of decalcified bone matrix. Clin Orthop Relat Res, 43: 257-70.
106. Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Gunther KP, Dehio C, Puhl W, Brenner RE. (2002) Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. Bone, 30: 472-7.
107. Orlandini M, Spreafico A, Bardelli M, Rocchigiani M, Salameh A, Nucciotti S, Capperucci C, Frediani B, Oliviero S. (2006) Vascular endothelial growth factor-D activates VEGFR-3 expressed in osteoblasts inducing their differentiation. J Biol Chem, 281: 17961-7.
108. Chen FM, Zhao YM, Wu H, Deng ZH, Wang QT, Zhou W, Liu Q, Dong GY, Li K, Wu ZF, Jin Y. (2006) Enhancement of periodontal tissue regeneration by locally controlled delivery of insulin-like growth factor-I from dextran-co-gelatin microspheres. J Control Release, 114: 209-22.
109. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. (1988) Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. Science, 242: 1528-34.
110. Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, Wozney JM. (1990) Identification of transforming growth factor beta family members present in bone-inductive protein purified from bovine bone. Proc Natl Acad Sci U S A, 87: 9843-7.
111. Erlebacher A, Filvaroff EH, Ye JQ, Derynck R. (1998) Osteoblastic responses to TGF-beta during bone remodeling. Mol Biol Cell, 9: 1903-18.
112. Geiger M, Li RH, Friess W. (2003) Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. Adv Drug Deliv Rev, 55: 1613-29.
113. Yoon BS, Lyons KM. (2004) Multiple functions of BMPs in chondrogenesis. J Cell Biochem, 93: 93-103.
114. Holland TA, Mikos AG. (2006) Biodegradable polymeric scaffolds. Improvements in bone tissue engineering through controlled drug delivery. Adv Biochem Eng Biotechnol, 102: 161-85.
115. Papakostidis C, Kontakis G, Bhandari M, Giannoudis PV. (2008) Efficacy of autologous iliac crest bone graft and bone morphogenetic proteins for posterolateral fusion of lumbar spine: a meta-analysis of the results. Spine (Phila Pa 1976), 33: E680-92.
116. Hussein KA, Zakhary IE, Hailat D, Elrefai R, Sharawy M, Elsalanty ME. (2013) Delayed versus immediate reconstruction of mandibular segmental defects using recombinant human bone morphogenetic protein 2/absorbable collagen sponge. J Oral Maxillofac Surg, 71: 1107-18.
117. Giannoudis PV, Tzioupis C. (2005) Clinical applications of BMP-7: the UK perspective. Injury, 36 Suppl 3: S47-50.
118. Friedlaender GE, Perry CR, Cole JD, Cook SD, Cierny G, Muschler GF, Zych GA, Calhoun JH, LaForte AJ, Yin S. (2001) Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. J Bone Joint Surg Am, 83-A Suppl 1: S151-8.

119. Cahill KS, Chi JH, Day A, Claus EB. (2009) Prevalence, complications, and hospital charges associated with use of bone-morphogenetic proteins in spinal fusion procedures. JAMA, 302: 58-66.
120. Williams BJ, Smith JS, Fu KM, Hamilton DK, Polly DW, Jr., Ames CP, Berven SH, Perra JH, Knapp DR, Jr., McCarthy RE, Shaffrey CI, Scoliosis Research Society M, Mortality C. (2011) Does bone morphogenetic protein increase the incidence of perioperative complications in spinal fusion? A comparison of 55,862 cases of spinal fusion with and without bone morphogenetic protein. Spine (Phila Pa 1976), 36: 1685-91.
121. Lee KB, Taghavi CE, Song KJ, Sintuu C, Yoo JH, Keorochana G, Tzeng ST, Fei Z, Liao JC, Wang JC. (2011) Inflammatory characteristics of rhBMP-2 in vitro and in an in vivo rodent model. Spine (Phila Pa 1976), 36: E149-54.
122. Muchow RD, Hsu WK, Anderson PA. (2010) Histopathologic inflammatory response induced by recombinant bone morphogenetic protein-2 causing radiculopathy after transforaminal lumbar interbody fusion. Spine J, 10: e1-6.
123. Paralkar VM, Weeks BS, Yu YM, Kleinman HK, Reddi AH. (1992) Recombinant human bone morphogenetic protein 2B stimulates PC12 cell differentiation: potentiation and binding to type IV collagen. J Cell Biol, 119: 1721-8.
124. Termaat MF, Den Boer FC, Bakker FC, Patka P, Haarman HJ. (2005) Bone morphogenetic proteins. Development and clinical efficacy in the treatment of fractures and bone defects. J Bone Joint Surg Am, 87: 1367-78.
125. Marusic A, Katavic V, Grcevic D, Lukic IK. (1999) Genetic variability of new bone induction in mice. Bone, 25: 25-32.
126. Marusic A, Grcevic D, Katavic V, Kovacic N, Lukic IK, Kalajzic I, Lorenzo JA. (2000) Role of B lymphocytes in new bone formation. Lab Invest, 80: 1761-74.
127. Ohgushi H, Goldberg VM, Caplan AI. (1989) Repair of bone defects with marrow cells and porous ceramic. Experiments in rats. Acta Orthop Scand, 60: 334-9.
128. Bruder SP, Kraus KH, Goldberg VM, Kadiyala S. (1998) The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. J Bone Joint Surg Am, 80: 985-96.
129. Puelacher WC, Vacanti JP, Ferraro NF, Schloo B, Vacanti CA. (1996) Femoral shaft reconstruction using tissue-engineered growth of bone. Int J Oral Maxillofac Surg, 25: 223-8.
130. Bruder SP, Kurth AA, Shea M, Hayes WC, Jaiswal N, Kadiyala S. (1998) Bone regeneration by implantation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells. J Orthop Res, 16: 155-62.
131. Kon E, Muraglia A, Corsi A, Bianco P, Marcacci M, Martin I, Boyde A, Ruspantini I, Chistolini P, Rocca M, Giardino R, Cancedda R, Quarto R. (2000) Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. J Biomed Mater Res, 49: 328-37.
132. Petite H, Viateau V, Bensaid W, Meunier A, de Pollak C, Bourguignon M, Oudina K, Sedel L, Guillemin G. (2000) Tissue-engineered bone regeneration. Nat Biotechnol, 18: 959-63.

133. He Y, Zhang ZY, Zhu HG, Qiu W, Jiang X, Guo W. (2007) Experimental study on reconstruction of segmental mandible defects using tissue engineered bone combined bone marrow stromal cells with three-dimensional tricalcium phosphate. J Craniofac Surg, 18: 800-5.
134. Shang Q, Wang Z, Liu W, Shi Y, Cui L, Cao Y. (2001) Tissue-engineered bone repair of sheep cranial defects with autologous bone marrow stromal cells. J Craniofac Surg, 12: 586-93; discussion 594-5.
135. Viateau V, Guillemin G, Bousson V, Oudina K, Hannouche D, Sedel L, Logeart-Avramoglou D, Petite H. (2007) Long-bone critical-size defects treated with tissue-engineered grafts: a study on sheep. J Orthop Res, 25: 741-9.
136. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A, Kon E, Marcacci M. (2001) Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. N Engl J Med, 344: 385-6.
137. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R. (2007) Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. Tissue Eng, 13: 947-55.
138. Braly HL, O'Connor DP, Brinker MR. (2013) Percutaneous autologous bone marrow injection in the treatment of distal meta-diaphyseal tibial nonunions and delayed unions. J Orthop Trauma, 27: 527-33.
139. Hernigou P, Mathieu G, Poignard A, Manicom O, Beaujean F, Rouard H. (2006) Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Surgical technique. J Bone Joint Surg Am, 88 Suppl 1 Pt 2: 322-7.
140. Salamanna F, Veronesi F, Maglio M, Della Bella E, Sartori M, Fini M. (2015) New and emerging strategies in platelet-rich plasma application in musculoskeletal regenerative procedures: general overview on still open questions and outlook. Biomed Res Int, 2015: 846045.
141. Filardo G, Kon E, Roffi A, Di Matteo B, Merli ML, Marcacci M. (2015) Platelet-rich plasma: why intra-articular? A systematic review of preclinical studies and clinical evidence on PRP for joint degeneration. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 23: 2459-74.
142. Laudy AB, Bakker EW, Rekers M, Moen MH. (2015) Efficacy of platelet-rich plasma injections in osteoarthritis of the knee: a systematic review and meta-analysis. Br J Sports Med, 49: 657-72.
143. Stanek G, Konrad K, Jung M, Ehringer H. (1987) Shulman syndrome, a scleroderma subtype caused by Borrelia burgdorferi? Lancet, 1: 1490.
144. Muchedzi TA, Roberts SB. (2018) A systematic review of the effects of platelet rich plasma on outcomes for patients with knee osteoarthritis and following total knee arthroplasty. Surgeon, 16: 250-258.
145. Gianakos A, Zambrana L, Savage-Elliott I, Lane JM, Kennedy JG. (2015) Platelet-Rich Plasma in the Animal Long-Bone Model: An Analysis of Basic Science Evidence. Orthopedics, 38: e1079-90.
146. Xie X, Zhang C, Tuan RS. (2014) Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. Arthritis Res Ther, 16: 204.

147. Yin W, Xu Z, Sheng J, Xie X, Zhang C. (2017) Erythrocyte sedimentation rate and fibrinogen concentration of whole blood influences the cellular composition of platelet-rich plasma obtained from centrifugation methods. Exp Ther Med, 14: 1909-1918.
148. Lee HR, Shon OJ, Park SI, Kim HJ, Kim S, Ahn MW, Do SH. (2016) Platelet-Rich Plasma Increases the Levels of Catabolic Molecules and Cellular Dedifferentiation in the Meniscus of a Rabbit Model. Int J Mol Sci, 17:
149. Pifer MA, Maerz T, Baker KC, Anderson K. (2014) Matrix metalloproteinase content and activity in low-platelet, low-leukocyte and high-platelet, high-leukocyte platelet rich plasma (PRP) and the biologic response to PRP by human ligament fibroblasts. Am J Sports Med, 42: 1211-8.
150. Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. (2011) Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. Am J Sports Med, 39: 2135-40.
151. Gaissmaier C, Fritz J, Krackhardt T, Flesch I, Aicher WK, Ashammakhi N. (2005) Effect of human platelet supernatant on proliferation and matrix synthesis of human articular chondrocytes in monolayer and three-dimensional alginate cultures. Biomaterials, 26: 1953-60.
152. Drengk A, Zapf A, Sturmer EK, Sturmer KM, Frosch KH. (2009) Influence of platelet-rich plasma on chondrogenic differentiation and proliferation of chondrocytes and mesenchymal stem cells. Cells Tissues Organs, 189: 317-26.
153. Kon E, Filardo G, Di Matteo B, Marcacci M. (2013) PRP for the treatment of cartilage pathology. Open Orthop J, 7: 120-8.
154. Lai LP, Stitik TP, Foye PM, Georgy JS, Patibanda V, Chen B. (2015) Use of Platelet-Rich Plasma in Intra-Articular Knee Injections for Osteoarthritis: A Systematic Review. PM R, 7: 637-48.
155. Price PJ, Gregory EA. (1982) Relationship between in vitro growth promotion and biophysical and biochemical properties of the serum supplement. In Vitro, 18: 576-84.
156. Elsadek B, Kratz F. (2012) Impact of albumin on drug delivery--new applications on the horizon. J Control Release, 157: 4-28.
157. Bertucci C, Domenici E. (2002) Reversible and covalent binding of drugs to human serum albumin: methodological approaches and physiological relevance. Curr Med Chem, 9: 1463-81.
158. Spector AA, John K, Fletcher JE. (1969) Binding of long-chain fatty acids to bovine serum albumin. J Lipid Res, 10: 56-67.
159. Yang F, Zhang Y, Liang H. (2014) Interactive association of drugs binding to human serum albumin. Int J Mol Sci, 15: 3580-95.
160. Evans TW. (2002) Review article: albumin as a drug--biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. Aliment Pharmacol Ther, 16 Suppl 5: 6-11.
161. Noszczyk BH, Kowalczyk T, Lyzniak M, Zembrzycki K, Mikulowski G, Wysocki J, Kawiak J, Pojda Z. (2015) Biocompatibility of electrospun human albumin: a pilot study. Biofabrication, 7: 015011.

162. Nseir N, Regev O, Kaully T, Blumenthal J, Levenberg S, Zussman E. (2013) Biodegradable scaffold fabricated of electrospun albumin fibers: mechanical and biological characterization. Tissue Eng Part C Methods, 19: 257-64.
163. Gallego L, Junquera L, Garcia E, Garcia V, Alvarez-Viejo M, Costilla S, Fresno MF, Meana A. (2010) Repair of rat mandibular bone defects by alveolar osteoblasts in a novel plasma-derived albumin scaffold. Tissue Eng Part A, 16: 1179-87.
164. Mueller B, Koch D, Lutz R, Schlegel KA, Treccani L, Rezwan K. (2014) A novel one-pot process for near-net-shape fabrication of open-porous resorbable hydroxyapatite/protein composites and in vivo assessment. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 42: 137-45.
165. Hess U, Hill S, Treccani L, Streckbein P, Heiss C, Rezwan K. (2015) A mild one-pot process for synthesising hydroxyapatite/biomolecule bone scaffolds for sustained and controlled antibiotic release. Biomed Mater, 10: 015013.
166. Herrmann M, Vaudaux PE, Pittet D, Auckenthaler R, Lew PD, Schumacher-Perdreau F, Peters G, Waldvogel FA. (1988) Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. J Infect Dis, 158: 693-701.
167. Kinnari TJ, Peltonen LI, Kuusela P, Kivilahti J, Kononen M, Jero J. (2005) Bacterial adherence to titanium surface coated with human serum albumin. Otol Neurotol, 26: 380-4.
168. McDowell SG, An YH, Draughn RA, Friedman RJ. (1995) Application of a fluorescent redox dye for enumeration of metabolically active bacteria on albumin-coated titanium surfaces. Lett Appl Microbiol, 21: 1-4.
169. An YH, Stuart GW, McDowell SJ, McDaniel SE, Kang Q, Friedman RJ. (1996) Prevention of bacterial adherence to implant surfaces with a crosslinked albumin coating in vitro. J Orthop Res, 14: 846-9.
170. Naves P, del Prado G, Huelves L, Rodriguez-Cerrato V, Ruiz V, Ponte MC, Soriano F. (2010) Effects of human serum albumin, ibuprofen and N-acetyl-L-cysteine against biofilm formation by pathogenic Escherichia coli strains. J Hosp Infect, 76: 165-70.
171. del Prado G, Ruiz V, Naves P, Rodriguez-Cerrato V, Soriano F, del Carmen Ponte M. (2010) Biofilm formation by Streptococcus pneumoniae strains and effects of human serum albumin, ibuprofen, N-acetyl-l-cysteine, amoxicillin, erythromycin, and levofloxacin. Diagn Microbiol Infect Dis, 67: 311-8.
172. Bernards MT, Qin C, Jiang S. (2008) MC3T3-E1 cell adhesion to hydroxyapatite with adsorbed bone sialoprotein, bone osteopontin, and bovine serum albumin. Colloids Surf B Biointerfaces, 64: 236-47.
173. Liu X, Zhou X, Li S, Lai R, Zhou Z, Zhang Y, Zhou L. (2014) Effects of titania nanotubes with or without bovine serum albumin loaded on human gingival fibroblasts. Int J Nanomedicine, 9: 1185-98.
174. Gallego L, Junquera L, Meana A, Garcia E, Garcia V. (2010) Three-dimensional culture of mandibular human osteoblasts on a novel albumin scaffold: growth, proliferation, and differentiation potential in vitro. Int J Oral Maxillofac Implants, 25: 699-705.

175. Gallego L, Junquera L, Meana A, Alvarez-Viejo M, Fresno M. (2010) Ectopic bone formation from mandibular osteoblasts cultured in a novel human serum-derived albumin scaffold. J Biomater Appl, 25: 367-81.
176. Yamaguchi M, Igarashi A, Misawa H, Tsurusaki Y. (2003) Enhancement of albumin expression in bone tissues with healing rat fractures. J Cell Biochem, 89: 356-63.
177. Horvathy DB, Simon M, Schwarz CM, Masteling M, Vacz G, Hornyak I, Lacza Z. (2017) Serum albumin as a local therapeutic agent in cell therapy and tissue engineering. Biofactors, 43: 315-330.
178. Weszl M, Skaliczki G, Cselenyak A, Kiss L, Major T, Schandl K, Bognar E, Stadler G, Peterbauer A, Csonge L, Lacza Z. (2012) Freeze-dried human serum albumin improves the adherence and proliferation of mesenchymal stem cells on mineralized human bone allografts. J Orthop Res, 30: 489-96.
179. Horvathy DB, Vacz G, Szabo T, Szigyarto IC, Toro I, Vamos B, Hornyak I, Renner K, Klara T, Szabo BT, Dobo-Nagy C, Doros A, Lacza Z. (2016) Serum albumin coating of demineralized bone matrix results in stronger new bone formation. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 104: 126-32.
180. Horvathy DB, Vacz G, Cselenyak A, Weszl M, Kiss L, Lacza Z. (2013) Albumin-coated bioactive suture for cell transplantation. Surg Innov, 20: 249-55.
181. Skaliczki G, Schandl K, Weszl M, Major T, Kovacs M, Skaliczki J, Szendroi M, Dobo-Nagy C, Lacza Z. (2013) Serum albumin enhances bone healing in a nonunion femoral defect model in rats: a computer tomography micromorphometry study. Int Orthop, 37: 741-5.
182. Goldberg VM. (2003) The biology of bone grafts. Orthopedics, 26: 923-4.
183. Calori GM, Mazza E, Colombo M, Ripamonti C. (2011) The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs? Injury, 42 Suppl 2: S56-63.
184. Klara T, Csonge L, Janositz G, Csernatony Z, Lacza Z. (2014) Albumin-coated structural lyophilized bone allografts: a clinical report of 10 cases. Cell Tissue Bank, 15: 89-97.
185. Enneking WF, Mindell ER. (1991) Observations on massive retrieved human allografts. J Bone Joint Surg Am, 73: 1123-42.
186. Enneking WF, Campanacci DA. (2001) Retrieved human allografts : a clinicopathological study. J Bone Joint Surg Am, 83-A: 971-86.
187. Intini G. (2009) The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. Biomaterials, 30: 4956-66.
188. Spindler KP, Kuhn JE, Freedman KB, Matthews CE, Dittus RS, Harrell FE, Jr. (2004) Anterior cruciate ligament reconstruction autograft choice: bone-tendon-bone versus hamstring: does it really matter? A systematic review. Am J Sports Med, 32: 1986-95.
189. Roe J, Pinczewski LA, Russell VJ, Salmon LJ, Kawamata T, Chew M. (2005) A 7-year follow-up of patellar tendon and hamstring tendon grafts for arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction: differences and similarities. Am J Sports Med, 33: 1337-45.
190. Holm I, Oiestad BE, Risberg MA, Gunderson R, Aune AK. (2012) No differences in prevalence of osteoarthritis or function after open versus endoscopic

technique for anterior cruciate ligament reconstruction: 12-year follow-up report of a randomized controlled trial. Am J Sports Med, 40: 2492-8.
191. Meuffels DE, Poldervaart MT, Diercks RL, Fievez AW, Patt TW, Hart CP, Hammacher ER, Meer F, Goedhart EA, Lenssen AF, Muller-Ploeger SB, Pols MA, Saris DB. (2012) Guideline on anterior cruciate ligament injury. Acta Orthop, 83: 379-86.
192. Feller JA, Webster KE. (2003) A randomized comparison of patellar tendon and hamstring tendon anterior cruciate ligament reconstruction. Am J Sports Med, 31: 564-73.
193. Beynnon BD, Johnson RJ, Fleming BC, Kannus P, Kaplan M, Samani J, Renstrom P. (2002) Anterior cruciate ligament replacement: comparison of bone-patellar tendon-bone grafts with two-strand hamstring grafts. A prospective, randomized study. J Bone Joint Surg Am, 84-A: 1503-13.
194. Holzmann P, Niculescu-Morzsa E, Zwickl H, Halbwirth F, Pichler M, Matzner M, Gottsauner-Wolf F, Nehrer S. (2010) Investigation of bone allografts representing different steps of the bone bank procedure using the CAM-model. ALTEX, 27: 97-103.
195. Leitgeb J, Kottstorfer J, Schuster R, Kovar FM, Platzer P, Aldrian S. (2014) Primary anterior cruciate ligament reconstruction in athletes: a 5-year follow up comparing patellar tendon versus hamstring tendon autograft. Wien Klin Wochenschr, 126: 397-402.
196. Filardo G, Di Matteo B, Di Martino A, Merli ML, Cenacchi A, Fornasari P, Marcacci M, Kon E. (2015) Platelet-Rich Plasma Intra-articular Knee Injections Show No Superiority Versus Viscosupplementation: A Randomized Controlled Trial. Am J Sports Med, 43: 1575-82.
197. Even J, Eskander M, Kang J. (2012) Bone morphogenetic protein in spine surgery: current and future uses. J Am Acad Orthop Surg, 20: 547-52.
198. Fu R, Selph S, McDonagh M, Peterson K, Tiwari A, Chou R, Helfand M. (2013) Effectiveness and harms of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine fusion: a systematic review and meta-analysis. Ann Intern Med, 158: 890-902.
199. Ishida K, Yamaguchi M. (2004) Role of albumin in osteoblastic cells: enhancement of cell proliferation and suppression of alkaline phosphatase activity. Int J Mol Med, 14: 1077-81.

## 10. Saját publikációk jegyzéke

### I. Az értekezés témájában megjelent eredeti közlemények listája:

**Schandl K**, Horváthy DB, Doros A, Majzik E, Schwarz CM, Csönge L, Abkarovits G, Bucsi L, Lacza Z. Bone-Albumin filling decreases donor site morbidity and enhances bone formation after anterior cruciate ligament reconstruction with bone-patellar tendon-bone autografts. Int Orthop. 2016 Oct; 40(10):2097-2104. **IF: 2.520**

Skaliczki G, **Schandl K**, Weszl M, Major T, Kovács M, Skaliczki J, Szendrői M, Dobó-Nagy C, Lacza Z. Serum albumin enhances bone healing in a nonunion femoral defect model in rats: a computer tomography micromorphometry study. Int Orthop. 2013 Apr;37(4):741-5. **IF: 2,019**

Skaliczki G, Weszl M, **Schandl K**, Major T, Kovács M, Skaliczki J, Redl H, Szendrői M, Szigeti K, Máté D, Dobó-Nagy C, Lacza Z. Compromised bone healing following spacer removal in a rat femoral defect model. Acta Physiol Hung. 2012 Jun;99(2):223-32. **IF:0,882**

Baló E., **Schandl K.**, Hangody Gy., Abkarovits G., Bodó L., Hangody L. Izolált elülső keresztszalag sérülés ellátásánál felhasznált különböző autológ graft típusok összehasonlító vizsgálata. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet (2010) **IF:0**

Weszl M, Skaliczki G, Cselenyák A, Kiss L, Major T, **Schandl K**, Bognár E, Stadler G, Peterbauer A, Csönge L, Lacza Z. Freeze-dried human serum albumin improves the adherence and proliferation of mesenchymal stem cells on mineralized human bone allografts. J Orthop Res. 2012 Mar;30(3):489-96 **IF:2,875**

Skaliczki G., Weszl M., **Schandl K**., Major T., Kovács M., Skaliczki J., Szendrői M., Dobó-Nagy Cs, Lacza Zs. Új típusú interpozíciós csontdefektus modell. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet (2012) **IF:0**

### II. Egyéb - nem az értekezés témájában megjelent - eredeti közlemények listája:

Bikov A, Lazar Z, **Schandl K**, Antus BM, Losonczy G, Horvath I. Exercise changes volatiles in exhaled breath assessed by an electronic nose. Acta Physiol Hung. 2011 Sep;98(3):321-8. **IF:0,821**

D. B. Horvathy, P. P. Nardai, T. Major, **K. Schandl**, A. Cselenyak, G. Vacz, L. Kiss, M. Szendroi, Z. Lacza: Muscle regeneration is undisturbed by repeated polytraumatic injury, Accepted for publication in *Eur J Trauma Emerg Surg* on May 31, 2010 **IF: 0.328**

## 11. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőmnek, Dr. Lacza Zsombornak a sok segítséget és útmutatást, melyet a munkám során tőle kaptam.

Örök hálával tartozom régi egyetemi barátomnak, sógoromnak Dr. Horváthy Dénes Balázsnak. Mint tiszteletbeli témavezetőm mindig segített, ha elakadtam, irányított, ha arra volt szükségem, mindig volt ideje a kutatás során felmerült gondokkal foglalkozni. Semmi kétségem nincs afelől, hogy maximálisan visszaéltem a köztünk lévő baráti, rokoni kötelékkel.

Köszönettel tartozom Dr. Szendrői Miklósnak Professzor Úrnak, hogy a Klinikai Doktori Iskolában vezetett programjába történő felvételemet támogatta.

Nagybátyámnak, Dr. Abkarovits Gézának is nagyon köszönöm a támogatást, aki közvetlen munkahelyi vezetőmként végigkísérte munkámat és rendelkezésemre bocsájtotta a Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Sportsebészeti Részlegének beteganyagát. Nélküle biztosan nem jutottam volna idáig.

Nagyon sokat köszönhetek Dr. Bucsi László Tanár Úrnak, aki mindig támogatta ambícióimat és minden segítséget megadott ahhoz, hogy ahogy mondani szokta
“ közkórházból indulva doktori fokozatot szerezhessek”.

Szintén nagyon hálás vagyok a Dr. Csönge Lajos által vezetett Nyugat-magyarországi Regionális Szövetbanknak a munkánk során felhasznált oltványok biztosításáért.

Hálás vagyok a Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézetben működő Szövetépítő Munkacsoport valamennyi tagjának. Külön köszönet illeti Dr. Weszl Miklóst és Dr. Vácz Gabriellát, akik az in vitro kísérletekben nyújtottak pótolhatatlan segítséget.

Köszönettel tartozom még a Fejér Megyei Szent György Egyetemi Oktató Kórház Sportsebészeti Részleg valamennyi dolgozójának és 2-es műtő csapatának a munkám során tanúsított türelmükért és önzetlen segítőkészségükért.

Végül, de semmiképpen sem utolsó sorban, hatalmas köszönettel tartozom a családomnak, feleségemnek, két gyermekemnek, szüleimnek, akik mindvégig támogattak és elfogadták, hogy sokszor kevesebb idő jutott rájuk. Külön hálás vagyok nekik egyedülálló támogatásukért.