

# **TDK DOLGOZAT**

**Szaniszló Réka**

**2017**

**ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM**  
**SEBÉSZETI ÉS SZEMÉSZETI TANSZÉK**

**Könyökízület-artrózisban szenvedő kutyák intraartikuláris  
kezelése zsíreredetű, allogén őssejtekkel**

Készítette: Szaniszló Réka

V. évfolyamos hallgató

Témavezető:

Dr. Diószegi Zoltán  
kisállatgyógyász klinikus szakállatorvos

2017

# 1. Tartalomjegyzék

1. Tartalomjegyzék.....	1
2. Rövidítések jegyzéke.....	2
3. Bevezetés és célkitűzések.....	3
4. Szakirodalmi áttekintés.....	5
4.1. Könyök-ízület anatómiája húsevőkben.....	5
4.2. Könyökízületi dysplasia.....	6
4.3. Könyökízületi artrózis.....	8
4.4. Össejt típusai.....	9
4.5. Szöveti össejtek.....	10
4.6. Mezenchimális össejtek (MSC).....	11
4.7. MSC-k klinikai alkalmazása.....	12
4.8. Könyökízületi artrózisok kezelése MSC-vel.....	13
5. Anyag és módszer.....	13
5.1. Zsír eredetű mesenchimalis össejtek izolálása és tenyésztése.....	13
5.1.1. A SVF elkészítése.....	13
5.1.2. Az MSC szaporítása.....	14
5.2. Könyökízületi arthrosisos kutya kiválasztásának szempontjai.....	16
5.3. A zsír eredetű mesenchimalis össejtek terápiás alkalmazása.....	17
5.4. Az esetek utókövetése és az értékelési rendszer.....	18
5.5. Statisztika.....	21
6. Eredmények.....	21
6.1. Saját eredmények.....	21
6.2. Eredmények kiértékelése.....	30
7. Megbeszélés.....	32
8. Összefoglalás.....	33
9. Summary.....	34
10. Irodalom jegyzék.....	36
11. Köszönetnyilvánítás.....	40

## 2. Rövidítések jegyzéke

a. = arteria

ACD = aszimmetrikus sejtosztódás

ACP = autologous conditioned plasma

CFU-F = colony-forming unit fibroblast

EPI = epiblaszt

ESC = embrionális őssejt

FBS = Foetal Bovine Serum Heat Inactivated

FCP = fragmentált processus coronoideus medialis, fragmented coronoid process

ICM = belső embriócsomó, inner cell mass

iPSC = indukált pluripotens őssejt

ISCT = International Society for Cellular Therapy

Kb = körülbelül

lig. = ligamentum

m. = musculus

med. = medialis

MSC = mesenchimális őssejt

mtsai = munkatársai

n. = nervus

NSAID = nem szteroid gyulladáscsökkentő, Nonsteroidal antiinflammatory drug

OCD = osteochondritis dissecans

p = oldal, page

PE = primitív endoderma

proc. = processus

PRP = vérlemezkékben gazdag plazma, platelet rich plasma

SVF = stroma vascular fraction

UAP = izolált processus anconaeus, ununited anconeal process

v. = vena

### 3. Bevezetés és célkitűzések

Kutyákban a könyökízületi dysplasia, az alap illeszkedési zavar (inkongruencia) mellett mindhárom klinikai formája - izolált processus anconaeus, fragmentált processus coronoideus mediális, a karcsontr medialis condylusának ízületi felületén kialakuló osteochondrosisa - artrózissal jár. "Az arthrosis vagy degeneratív ízületi betegség az ízületek valamennyi szövettípusát érintő, az elfajulás mellett kifejezett proliferatív és kisebb mértékben gyulladásos folyamatokat is magába foglaló irreverzibilis elváltozás." (DIÓSZEGI, 2007). A nagy növekedési eréjű, kan kutyáknál gyakrabban és súlyosabb formában fordul elő, mint a nőstényeknél (GRANDALEN és mtsai, 1991).

Az artrózis kezelésénél nélkülözhetetlen a betegség korai felismerése, melyet fizikális vizsgálat mellett röntgen vizsgálattal kell megerősíteni.

Kezelési lehetőségek sebészi úton:

- csúsztatott karcsontr oszteotómia, (YEADON, 2009)
- proximális abdukciós ulna oszteotómia, (NESS, 1998)
- könyökízület arthrodesise: a beavatkozás elfogadható funkciót eredményez, de a rendellenes járás megmarad (J.J. DE HAAN és mtsai, 1996)
- teljes könyökízület protézise: nemzetközileg sikeres eseteket írtak le felnőtt kutyákban, de a postoperatív időszakban előfordultak problémák pl: osteomyelitis (MICHAEL G. és mtsai, 2001)
- artroszkópos operáció: az ízület diagnosztikai célból történő áttükrözése mellett, az ízületben keletkező sérülések kezelésére szolgál, amely során eltávolítják az inkongruencia okozta rendellenes terhelődés miatt keletkező fragmenteket és a porc felszínét kezelik. U.n. minimálisan invazív műtét, ezért a gyógyulás folyamata gyors. Dolgozatomban olyan kutyákról lesz szó, amelyek előzetesen artroszkópos műtéten estek át és azon belül is subtotal medialis coronoidectómiát végeztek rajtuk. A subtotal medialis coronoidectomia során eltávolítják a fragmenteket és a jövőben arthrosissra hajlamosító, kopott területeket a processus coronoideus medialison (FITZPATRICK és mtsai, 2009).

Sebészeti kezelés utáni konzervatív terápia lehetőségei:

- NSAID-ok alkalmazása: Kis adagban gyulladáscsökkentők, nagyobb dózisban gyulladáscsökkentő- és fájdalomcsillapító hatásuk van. (SILVERSTEIN és mtsai, 2000).
- Hialuronsav: intraartikularisan injektálva az ízületi folyadék viszkozitását növeljük, ami rövid távú gyulladáscsökkentésre és fájdalomcsillapításra alkalmas
- ACP (autologous conditioned plasma) PRP (vérlimezkékben gazdag plazma): a kutya saját véréből készíthető trombocita koncentrátum, amelyben a vérlimezkékből felszabaduló növekedésfaktoroknak és citokineknek köszönhetően anabolikus és gyulladáscsökkentő hatása van. Intraartikularisan alkalmazzák (FRANKLIN és mtsai, 2013).
- Mozgáskorlátozás, testsúly kontroll, táplálék kiegészítők, chondroprotektív szerek: glukozamin szulfát, kondroitin szulfát, hialuronsav, E-vitamin (alfa tokoferol), metil-szulfonil-metán, hidrolizált kollagén
- Zsíreredetű allogén őssejtterápia: intraartikularisan injektálva, a regenerációs hatáson túl, hosszútávú gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító képességgel rendelkeznek, melyet az általuk termelt interleukinoknak köszönhető, melyek között jelentős túlsúlyban vannak a gyulladást segítő citokineket antagonizálók, illetve a kifejezett gyulladáscsökkentő citokinek és növekedési faktorok (lásd később).

A sok eljárás közül dolgozatomban a zsíreredetű allogén őssejtterápiát fogom részletesen kifejteni. A véges sebészeti lehetőségek, NSAID-ok, és rendelkezésre álló egyéb gyógyszerek és gyulladáscsökkentők kimerülése folytán alternatív módszerek bevezetése szükséges és ezek egyike a mesenchimális allogén őssejt terápia. Ez a fajta őssejt terápia lehetőség azáltal vált klinikum számára elérhetővé, hogy kifejlesztették azokat a szeparálási és tenyésztési módszereket, amellyel nagy tisztaságú és jelentős mennyiségű őssejtet lehet szaporítani, előállítani és korlátlan időre tárolni. Az is egy igen előnyös tulajdonságuk az őssejteknek hogy a felszíni antigén struktúrájuk nem vált ki idegen test reakciót az azonos fajba tartozó állatok egyedeinél, tehát fajon belül szabadon adható (allogén immunitás). A mai klinikai gyakorlatban az MSC terápiát 80 százalékban regeneratív folyamatok gyorsítására és a reparációs szövet tökéletesebbé

tétele érdekében használják (pl. lovak ín-porc- és szalagsérülései), de mivel az MSC-k hosszútávú és erőteljes analgetikus és gyulladáscsökkentő hatással is rendelkeznek, ezért érdemes őket kipróbálni ilyen indikációban is (pl. szemészeti kezelések, hagyományos eljárásokkal befolyásolhatatlan fájdalmas, gyulladásos artrózisok).

Szakirodalmi források szerint az irreverzibilis átalakuláson átesett ízületekben (ahol nagyon jelentős anatómiai és struktúrális átépülés történt az ízületben, azaz súlyos az artrózis, az őssejtektől sem várható lényeges regeneratív szerep. Viszont a hosszútávú gyulladáscsökkentés és fájdalomcsillapítás még jelentős életminőség javulást idézhet elő a krónikus fájdalommal kinlódó ízületi betegek esetében.

E vizsgálattal az volt a célunk, hogy egységes protokollon átesett kutyákat megfigyelve bizonyítsuk a zsíreredetű, allogén mesenchimalis őssejtek pozitív hatásait a könyök ízületi artrózis hosszútávú kezelésében.

## **4. Szakirodalmi áttekintés**

### **4.1. A könyökízület anatómiája húsevőkben**

A könyökízületet (articulatio cubiti) három csont alkotja: karcson (humerus), orsócsont (radius) és a könyökcsont vagy singcsont (ulna), melyek a mozgás passzív szerveiként funkcionálnak.

Alkarcsonnak nevezik együttesen a radiust és az ulnat. Az ulna a vékonyabb csont és a többi állatfajjal ellentétben a húsevőkben teljesen kifejlődött. A radius és az ulna által alkotott forgóízületben mozgás is lehetséges a húsevőknél.

Összetett ízület, melynek részei: karcson ízületi hengere, a radius ízületi árka és az ulna proximális végdarabja. Működése alapján csuklóízület, ezért hajlításra és nyújtásra alkalmas (KÖNIG és LIEBICH, 2005; FEHÉR, 2006).

Vegyes ízület: humeroradialis, humeroulnaris és proximalis radioulnaris ízületből.

Szalagjai húsevőkben:

1. Ligamentum collaterale laterale, a lateralis oldalsó szalag, a humerus hengerének külső szalagdudorán ered és a radius illetve az ulna szalagdudorán tapad,

2. Ligamentum collaterale mediale, a medialis oldalsó szalag a humerus hengerének belső szalagdudorán ered és a radius illetve ulna szalagdudorán tapad.
3. Ligamentum olecrani, könyöknyúlványról ered és a karcsonthoz tér
4. Radius és ulna saját szalagjai: lig. anulare radii, amely gyűrűként öleli körbe a radius (FEHÉR, 2006; CONSTANTINESCU és mtsai, 2009)

Izmok húsevőkben:

Brachiális izomcsoportba tartozik:

1. m. biceps brachii, azaz a kétfejű karizom ,2. m. brachialis, a karizom, 3. m. triceps brachii, a háromfejű karizom, 4. m. anconeus, 5. m. tensor fasciae antebrachii, az alkarpólya feszítőizma (m. triceps brachii-t borítja).

Antebrachialis izomcsoportba tartozik:

1. m. brachioradialis, 2. m. extensor carpi radialis, 3. m. extensor digitorum communis, 4. m. extensor digitorum lateralis, 5. m. extensor carpi ulnaris, 6. m. flexor digitorum profundus ulnaris feje és humerális feje, 7. m. flexor carpi ulnaris ulnaris és humeralis feje , 8. m. flexor digitorum superficialis, 9. m. flexor carpi radialis, 10. m. pronator teres, a görgeteg borító, 11. m. pronator quadratus, a négyszögű borító, 12. m. supinator longus, 13. m. supinator brevis.

A pronatorok befelé, a supinatorok kifelé forgatják a könyököt. (CONSTANTINESCU és mtsai, 2009)

Idegek:

n. medianus, n. radialis, n. ulnaris

## **4.2. Könyökízületi dysplasia**

Kutyákban a csípődiszplázia után a leggyakoribb örökletes fejlődési rendellenesség, amely során pontatlan illeszkedés alakul ki az ízületben. Az össze nem illőséget latinul inkongruenciának nevezzük, amely a könyökízületi diszplázia legfontosabb oka (REMY és mtsai 2004, GEMMILL és mtsai, 2005; KRAMER és mtsai, 2006). Kialakulásában külső behatás nem játszik szerepet. A leggyakoribb probléma a laposabb, elliptikus incisura semilunaris ulnae, ami emiatt túl szűk ahhoz, hogy befogadja a trochlea humerit.



Emiatt a trochlea humeri cranialisabban fog elhelyezkedni, amelynek hatására az incisura semilunaris két végpontjára proc. anconeusra és a proc. coronoideusra nyomást fejt ki, és a porc kopását eredményezi, ez a folyamat okozza a később kialakuló arthrosist.

Másik kialakulási módja a könyökízületi dysplasiának, hogy a processus coronoideus medialis szintje alacsonyabban, vagy magasabban fekszik a vele összefekvő radius ízületi felületénél, ebben az esetben is olyan szintű inkongruencia jön létre, ami artrózishoz vezet.

Amennyiben az össze nem illőség 5 hónaposnál fiatalabb korban alakul ki, azaz még a fejlődés kezdeti szakaszában, akkor az arthrosis mellett kialakulhat a három jellegzetes klinikai forma közül valamelyik (DIÓSZEGI, 2007).

A három klinikai forma:

1. Izolált processus anconaeus = ununited anconeal process – UAP: a dysplasia miatt kialakuló inkongruencia nem engedi az önálló csontosodási magból fejlődő processus anconeust összezsontosodni az olecranonnal, a folyamat előrehaladtával a proc. anconeus le is válhat a helyéről (DIÓSZEGI, 2007). A csontosodás hiánya miatt az ízület elveszíti stabilitását és instabillá válik (STEVENS és SANDE, 1974). A klinikai formák közül elsőként németjuhászokban diagnosztizálták (CAWLEY és ARCHIBALD, 1995).
2. Fragmentált processus coronoideus medialis= fragmented coronoid process – FCP: inkongruencia miatt a nyúlvány túlterhelődik, repedések keletkezhetnek és kisebb darabok le is törhetnek (BOULAY, 1998; DIÓSZEGI, 2007).
3. Karcsony condylusának mediális ízületi felületén kialakuló osteochondrosisa, ha további terhelés hatására a porcfelszín bereped és az érintett terület elvál alapjától, mikortól osteochondritis dissecansnak = OCD nevezzük.

A könyökízületi dysplasia örökletes betegségek közé tartozik. Leggyakrabban közepes és a nagy testű kutyafajtákban találkozhatunk könyökízületi dysplasiával, pl.: németjuhász kutyák (REMY és mtsai 2004), labradorok, rottweilerek, golden retrieverek (PODADERA és mtsai, 2010)

Klinikai tünetek megjelenhetnek 4-6 hónaposan, ekkor fejeződik be a csontok fúziója (FALUVÉGI,2000), vagy az is lehetséges, hogy a tünetek csak három éves kor után jelentkeznek pl.: sántaság.

Mindkét könyököt érintheti a probléma, minden esetben van egy fájósabb oldal, ezen a lábon tapasztalhatjuk a tüneteket (sántaságot) a vizsgálat folyamán. Fiatal állatban aszeptikus ízületgyulladás, míg idősebbekben az artrózis tüneteit láthatjuk. A mancsok enyhén kifelé, míg a könyökök befelé fordulnak. A beteg járását rövid tipegő járás jellemzi és sántaság. “Tapintással az ízületi gyulladást kísérő ízületi folyadékgyülem érezhető, a feszülésig telt dorsalis recessus feszesen hullámzó, nem fájdalmas duzzanatként tapintható. A könyök hajlítása, nyújtása, esetleg a med. collateralis szalag területének megnyomása fájdalmas lehet.” (DIÓSZEGI, 2007).

### **4.3. Könyökízületi artrózis**

GRANDALEN és mtsai (1991) kutatásokat végzett rottweilerekkel, berni pásztorokkal, újfundlandikkal, akiknél a könyök artrózis 30-50 százalékban fordult elő, kan kutyaokban gyakrabban és súlyosabban, mint nőstényekben.

Már a bevezetés és célkitűzésekben említett definícióban említettem, hogy az artrózis kimondottan proliferatív, illetve kisebb részben gyulladásos folyamatokat tartalmazó irreverzibilis elváltozás. Elsődleges formája- a porcszövetben meginduló degeneratív folyamatok- az öregedéssel hozhatók összefüggésbe, vagy idiopathicus komponensek hatására alakulnak ki, ritkán fordul elő. A másodlagos formája gyakori, kialakulásáért felelős az összes olyan kórfolyamat, amely az ízület élettani működését akadályozza, ilyen pl.: trauma, fejlődési zavar, gyulladás. Az ízület működésekor a kórfolyamatok hatására a csontvégek mozgása közben emelkedik a súrlódás, emiatt károsodik a porcszövet felszíni rétege, mélyebb, kollagént tartalmazó rétegek kerülnek a felületre. A synoviába hialuronsavat bontó hialuronidáz kerül, valamint a megváltozott felszínen mélyebb rétegekbe jutva az ízületi nedv fellazítja a kollagénrost hálózatot, más enzimikus folyamatok felaprítják a proteoglikánokat.

Makroszkóposan eleinte tompább fényű területek jelennek meg (esetleg sárgás) a porcrétegen. Chondromalattia miatt felpuhul a porcállomány, porcfekélyek jönnek létre, amelyek egyre mélyülnek, és alapjukban megjelenik a subchondrális csontállomány, a fekélyvel érintkező másik csont porcfelszíne is sérül, ún. “kissing lesion” alakul ki. Befejezésül, az eburnatió folyamata során a subchondralis csontfelszínnek elefáncsont-

szerűen tömörre alakulnak. A rostos ízületi tok vascularisatiója rosszabbodik, a vérállás romlik, állománya megvastagszik, sclerotikusan átalakul. Gyakori a periarticularis csontfelrakódás.

Tünetek: a megvastagodás tapintató, ízület hajlításakor és nyújtásakor a szöveti fibrosis miatt korlátozott mozgás észlelhető, "hóropogásra" emlékeztető érzet a durva felszínű ízületi felszínnek súrlódása és az osteophyták miatt.

Röntgen: csontvégek körvonalának változása látható a subchondrális csont kopása miatt, a fekély körül a fokozott igénybevétel miatt a csont állománya sűrűsödik, amely a röntgenen fehéres udvarként mutatkozik. A röntgen képen az ízületi rés a porcrétegnek felel meg, porcokopás miatt az artrózis képen beszűkült ízületi rés látható. Osteophyták is látszódnak megfelelő beállítás mellett (DIÓSZEGI, 2007).

#### **4.4. Össejt típusai**

Az össejtek az emlős embrió fejlődésének korai szakaszában fellelhető, továbbá a felnőtt szervezetben is permanensen résztvevő, végtelen számú osztódásra és önmegújulásra képes, nem elköteleződött sejtek. (APÁTI és mtsai) Aszimmetrikus osztódásra képesek, ami annyit jelent, hogy az össejtek önmagukkal majdnem megegyező sejteket hoznak létre és olyan utódsejteket is, amelyek specializálódni képesek a test különféle funkcióit ellátó szomatikus sejtekké.

A korai embriófejlődés folyamán a zigóta és a 4- és 8-sejtes stádiumú blasztomérák még totipotensek, a totipotens össejtek valamennyi embrionális és extraembrionális szövetet és szervet differenciálódásra képesek (KOVÁCS-HAÁSZ és mtsai, 2016). Következő stádiumban létrejön a korai blasztociszta, amin belül kialakul a belső embriócsomó (ICM), amiből lesz az embrió. Ezen sejtek in vitro tenyésztését nevezzük embrionális össejteknek (ESC). Ezek pluripotens össejtek, mivel mindhárom csíralemez sejtjeit megalkothatják, de extraembrionális szövetet (pl.: placenta) nem tudnak létrehozni (APÁTI és mtsai). EVANS és KAUFMAN (1981) izoláltak elsőként ESC-t egerek ICM-jeiből. Pár évvel később elvégezték a kísérletet patkányokkal is, ezzel sikeresen nyertek más állatfajból is ESC-t (IANNACCONE és mtsai, 1994). THOMSON és mtsai (1994) írták le elsőnek a humán embriónális össejtek izolálását, 4-5 hónapnyi in vitro differenciálatlan proliferáció után ezek a sejtek továbbra is fenntartották a képességüket, miszerint mindhárom csíralemez képzésére alkalmasak maradtak.

A késői blasztocisztában már egyértelműen elválik két különböző sejtsor az ICM-en belül. Az egyik sejtfajlódási sor az epiblaszt (EPI), másik a primitív endoderma (PE) (UHER, 2017).

TAKAHASHI és mtsai (2006) szerint sikeresen átprogramozhatók már differenciálódott testi sejtek, differenciálatlan állapotba, és az így nyerhető őssejtek hasonlítanak az embrionális őssejtekhez, ilyen őssejteket hívjuk indukált pluripotens őssejteknek (iPSCs). A kísérlet folyamán egér fibroblaszt tenyészetekből, meghatározott tényezők hozzáadásával hoztak létre pluripotens őssejteket.

A továbbiakban a már kifejlett szervezetben is fellelhető őssejtekről lesz szó, a szöveti őssejtekről, melyek már multipotensek és differenciáltak.

#### **4.5. Szöveti őssejtek**

Szöveti őssejtnek hívjuk az összes olyan sejtet, amely felnőtt szervezet szöveteiben és szerveiben is fellelhető klonogén sejtek, amelyek önfenntartásra képesek és egy vagy több különféle testi sejttypussá válhatnak. Multipotens őssejtek, mivel mérsékelt lehetőségük van a differenciálódásra, mert elhivatottak a tartózkodási helyükre jellemző szövetek sejttypusainak megalkotására. Élettani állapotban felelnek az érintett szövet állandó megújulásáért, leváltják az elhalt testi sejteket, és károsodás alkalmával hozzájárulnak a károsodott szerv regenerációjához (UHER, 2017).

A szöveti őssejteket aszimmetrikus sejtosztódás (ACD) jellemzi, azaz a mitózist követően a leánysejtekre különböző sors vár. Tipikus kimenetele az ACD-nek, hogy egy ős- és progenitor sejt (elődsejt) önmagának egy tökéletesen ugyanolyan példányát hozza létre, amely megőrzi önmegújító képességet és a differenciálódási potenciált, és egy leánysejtet amely elindul a differenciálódás útján (GÓMEZ-LÓPEZ és mtsai, 2014). ACD eredményességéhez különösen fontos, hogy miként hoznak létre polaritást az intracelluláris determinánsok (fehérjemolekulák, mRNS) a sejten belül és a determinánsok lokalizációja, továbbá a G protein jelátvitelért és a citoszkeleton-szabályozásáért felelős mitotikus (osztódási) orsó megfelelő irányultsága és a kromoszómák elkülönültsége, végül a sejtosztódás (ROEGIERS, 2004).

A szöveti őssejtnek élete folyamán 4 lehetőség közül kell választania: önfenntartás, apoptózis, migráció, differenciálódás. A differenciálódás irányát az őssejt genom szerkezete és működése szabja meg, továbbá az őssejtet körülvevő mikrokörnyezet azaz a niche (UHER, 2017).

Szöveti őssejtek találhatóak a bőrben, bélhámában, a vérben (haemopoetikus őssejtek), és a különféle kötőszöveti elemekben (mesenchimalis őssejtek) (CAPLAN, 1991). Következő fejezetben a mezenchimális őssejteket részletezném, mivel a vizsgálatunk során allogén, zsíreredetű mezenchimális őssejteket használtunk.

#### **4.6. Mezenchimális őssejtek (MSC)**

FRIEDENSTEIN és mtsai (1976) mutattak ki elsőként kifejezett egerek csontvelejéből, lépéből és thymusából klonogén fibroblaszt prekursor sejteket (CFU-F), amelyek meghatározott tényezők hozzáadásával csont illetve porc fejlődési irányba terelhetők Embrióból és felnőtt egyedből is izolálhatók, és a következő kötőszöveti sejtekké differenciálódhatnak: osteoblaszt, chondrocita, adipocita, tendocita, mioblaszt (CAPLAN, 1991). Mivel a kutatók különböző módszerekkel izolálták a sejteket és a sejtek jellemzésére más-más megközelítést alkalmaztak, ezért szükség volt egy egységes kritérium rendszer létrehozására, amelyet az ISCT (International Society for Cellular Therapy) állított össze. Humán mesenchimalis őssejt populációk kritériumai:

1., standard tenyésztési állapotok között letapadnak a tenyésztedény aljára és növekednek. 2., az MSC-nek expresszálnia kell a CD105, CD73, CD14 antigén törzseket és hiányzik a felületükről a CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a, CD19, HLA-DR molekula expressziója. A 3. harmadik feltétel, hogy az MSC in vitro osteoblasttá, adipocitává és chondroblasttá ugyancsak tudjon differenciálódni (DOMINICI és mtsai 2006). HODGKISS-GEERE és mtsai (2012) kihasználva az MSC-k többvonalas differenciálódási képességét, regeneratív terápia céljából kutya csontvelő aspirátumokból izoláltak MSC-eket. A tanulmány azt mutatta, hogy hasonlóak voltak a korábban leírt (humán) MSC-hez és képesek voltak chondrocitákká differenciálódni.

KISIEL és mtsai (2012) hét kutyatetemet vizsgálva MSC-eket különítettek el csontvelőből, zsírszövetből, izomból, perioszteumból, hisztokémiai vizsgálatokkal ellenőrizték, hogy megfelelnek-e a kritériumoknak. Eltérő fajok MSC markerei különfélék, még szöveten és szervben belül is lehetséges a differencia. A kutatásban a csontvelő bizonyult a fő MSC forrásnak, de a többi szövetféleségből is sikeresen izoláltak. KANG és mtsai (2012) azt vizsgálták, hogy milyen a zsírszövetből, köldökzsinórvérből és Wharton-kocsonyából nyert és in vitro tenyésztett MSC-k

osteogén potenciája, majd in vivo beültették kutyákba. Eredményeik szerint mindhárom eredetű sejt vonal használható klinikai csontépítési eljárásokhoz, a zsíreredetűek magasabb proliferációs potenciállal rendelkeztek.

Az MSC-k jelentős hatást gyakorolnak az immunválaszban szereplő sejtekre.

In vitro:

- gátolják: a monociták és hemopoetikus ősz-, illetve elődsejtek dendritikus sejt irányú differenciálódását, a gyulladásos citokinek (IL-12 és  $TNF\alpha$ ) termelését, mitogénekkal és anti-CD3 és anti-CD28 ellenanyaggal vagy alloantigénnel aktivált T-sejtek proliferációját (citokin termelésük átformálódik:  $IFN-\gamma$ ,  $TNF-\alpha$ , IL-6, IL-17 csökken, IL-4 és IL-10 mennyisége nő)
- MSC-k befolyására a dendritikus sejtek antigen bemutató és gyulladáskeltő képessége csökken, emellett az immunválaszt gátló dendritikus sejtek száma nő.
- Az immunválaszt segítő (helper) T-sejtek proliferációja és citokin termelése ( $TGF\beta 1$ , IL-10, IL-35) növekszik
- Kevesebb gyulladásos citokint termelnek a természetes NK-sejtek (ölősejtek)
- Makrofágok M2-es fenotípust jelenítenek meg (gyulladásgátló citokineket: IL-10, IL-4, IL-13,  $TGF-\beta 1$  és VEGF-et és EGF-et termelnek, és jobb a fagocitáló képessége), hatékonyan fagocitáló és gyulladásgátló sejtek lesznek belőlük pl.: neutrophil granulocyták.

In vivo: artrózisban állatokban csökkentik a gyulladásos citokinek termelését és megelőzik a csontok és porcok károsodását (UHER, 2017).

#### 4.7. MSC-k klinikai felhasználása

Előnye, hogy könnyen izolálható, többféle szövet jöhet létre belőlük, parakrin hatásúak (nem kerülnek be a véráramba, közelben hatás jellemző rájuk) in vitro körülmények között jól szaporíthatók, immunmoduláló tulajdonsággal bírnak, in vivo rendkívül jó a migrációs képességük, valamint megemlítendő, hogy az ESC-hez képest etikailag kevésbé aggályos. Ezeknek a tulajdonságoknak köszönhetően ígéretes terápiás lehetőségnek tartják az orvostudomány számára (BROOKE és mtsai, 2007).

YUN és mtsai (2016) 24 beagle kutyán vizsgálták az MSC és PRP hatását, a térd elülső kereszteződő szalag szakadás okozta osteoarthritis kezelés céljából. A kutyákat négy egyenlő csoportra osztották, az első a kontroll csoport foszfáttal pufferolt

sóoldatot, a második csoport PRP-t, a harmadik MSC-t, a negyedik csoport MSC-t és PRP-t kapott. A sántaság pontszámai alacsonyabbak lettek, valamint MSC és/ vagy PRP-vel kezeltékben a gyulladáscsökkenés Mankin pontozással jelentősen javult és a gátló hatásnak köszönhetően a gyulladáscsökkenés fehérjék expressziója csökkent. Összességében az MSC és a PRP az extracelluláris mátrix és a chondrocyták proliferációjának stimulálásával és a gyulladáscsökkenés reakciók gátlásával kedvező hatást vált ki.

#### **4.8. Könyökízületi artrózisok kezelése MSC-vel**

BLACK és mtsai (2008) autológ zsírszövet eredetű mesenchimális őssejt terápiát végeztek, 14 osteoarthritisben szenvedő kutyán. Az őssejteket a könyökízületbe injektálták és fájdalomcsillapítás volt a céljuk. Statisztikailag szignifikáns javulást bizonyítottak.

KRISTON-PÁL és mtsai (2017) rutin ovariektómia során nyert zsírszövetből nyert MSC-eket transzplantáltak terápiás célból 30 könyök arthrosisos és diszpláziás kutya könyökízületébe. Az MSC-eket 0,5%-os hialuronsavval szuszpendálták. A felvételi kritériumok: visszatérő sántaság és fájdalom megléte volt. A beadás előtt 10 nappal gyulladáscsökkenőt (caprofen vagy meloxicam) kaptak a kezelendő kutyák. A felmérés alatt 6-9-12. hónapban voltak esedékesek a kontroll vizsgálatok, melyeken a tulajdonosok értékelését is figyelembe vették. A sántaság jelentősen javult gyógyszeres kezelés nélkül ezzel igazolva a fájdalomcsillapító hatást. Az egyik kutyában arthroszkópos operáció segítségével bizonyították, hogy a porc regenerálódott, amelynek hyalin típusú szerkezetét biopsziával megerősítették.

### **5. Anyag és módszer**

#### **5.1. Zsír eredetű mesenchimalis őssejtek izolálása és tenyésztése**

##### **5.1.1. A SVF elkészítése**

A zsírszövetet egészséges, fiatal, vakcinázott, és a nem megelőzhető fertőző betegségekre (pl.: babesia, dirofilariosis, CHV-1, anaplasmosis) szűrt, nőtény kutyák rutin ivartalanítása során a hasüregből, a ligamentum falciforme hepatisből gyűjtöttük (30-100 ml). A zsírt 50 ml-s steril centrifuga csövekbe osztottuk el és a csöveket teli

töltöttük steril 1x-s PBS oldattal és 8 percig, 600/p-n, fék nélkül centrifugáltuk. Ezt új eszközökkel és PBS-sel még egyszer megismételtük.

Ezt követően steril laminális boxban a zsírt egy Petri-csészébe téve, steril olló és csipesz segítségével pépesre aprítottuk. Egy steril kanállal a zsírt egy újabb 50 ml-s centrifuga csőbe tettük és PBS-sel felöntve ugyanazokkal az értékekkel centrifugáltuk, mint az elején olvasható.

Ezután a csőben felül lévő zsírból kb. 10 cm<sup>3</sup>-t áttettük egy ún. tenyésztőedénybe (25 cm<sup>3</sup>) és hozzáadtunk ugyanolyan térfogatú 0.2%-s kollagenáz oldatot (Collagenase Type IV port DPBS oldatban oldottunk és 0,22-s szűrőn átszűrtük).

Ezután 30 percig, 37 °C-on, 250 rpm frekvenciával rázógépen hagytuk, parafilmmel lezárva.

30 perc elteltével 10 ml, 10%-s FBS-t (Foetal Bovine Serum Heat Inactivated) tartalmazó DMEM-F12 komplett sejtenyésztési tápfolyadékkal (450 ml DMEM-F12 tápfolyadék + 50 ml FBS + 2,5 ml penicillin + streptomycin) blokkoltuk a kollagenáz hatását. Majd a keveréket egy 50 ml centrifuga csőbe tettük és hozzáadtunk 20 ml 1xPBS puffert és 10 percig, 1500/p, fékkel centrifugáltuk. A felülúszót elöntöttük és a továbbiakban a cső alján maradt sejttöredékekkel foglalkoztunk.

Az üledéket 2x kimostuk HBBS (Hank's) oldattal és miután leöntöttük a második HBBS-t, az üledéket 1ml-re öntöttük fel 10% FBS-t tartalmazó DMEM-F12 tápfolyadékkal.

Ezt nevezzük SVF (Stroma Vascular Fraction) –nek, aminek kb. 1%-a MSC, amire igazából szükségünk van. Bürker kamrában, Türk oldattal festve meghatároztuk az SVF szuszpenzió sejtszámát és ezután kezdődhetett az MSC-k szelektív tenyésztése.

### **5.1.2. Az MSC szaporítása**

Sejtszámtól függően 25 vagy 75 cm<sup>2</sup>-s steril, előkezelte aljú tenyésztőedénybe tettük a sejteket (SVF) és 37 °C-ra, 5% CO<sub>2</sub> párasításos termosztátban helyeztük az edényeket. Ha nem szellőzős az edény, akkor a zárókupakot félig ki kell nyitni.

3-4 nap után a le nem tapadt sejteket leöntöttük, majd HBBS (Hank's) oldatot mérve a helyébe és kimostuk a maradék le nem tapadt sejtet. Ezután újra tenyésztő



folyadékot mértünk a letapadt sejtekhez és 3-4 naponként mostuk, amíg a sejtek összefüggően be nem nőttek az edény alját, amit inverz mikroszkóp alatt ellenőrtünk.

Ezután a tenyésztőfolyadék leöntöttük és Hank's oldatos mosást követően az edényekbe 0,25%-s steril Tripsin-Edta oldatot mértünk és 10 percre 37 °C-ra, 5% CO<sub>2</sub>-be inkubáltuk a sejteket (ennyi idő alatt oldódik a tenyészedény és az őssejtek közötti kapcsolat, de maguk a sejtek nem károsodnak az enzimes behatástól). A sejtek enyhe rázogatás mellett planktonikus állapotba kerülnek, azaz szuszpendálódnak a folyadékban. Ezt követően hőinaktivált FBS (2 illetve 4 ml a 25- illetve a 75 cm<sup>3</sup>-s tenyészedénynek megfelelően) hozzáadásával leállítottuk a proteolízist. Az összerázott sejtsuszpenziót egy 50 ml-s centrifugacsőbe tettük, amit felöntöttünk Hank's oldattal és 10 percig, 1500/p fordulattal, fékkel centrifugáltuk. A felülúszó elöntése után a sejteket DMEM-F12+ 10% FBS tápfolyadékba helyeztük és sejtyszámolást követően 2 millió sejt adagokban szétosztottuk (szaporítás) újabb tenyészedényekbe. A mosások, "etetések" és a tripszines felszedések ugyanúgy zajlottak, mint ahogy a korábbiakban már leírtuk.

A szaporítást addig végeztük, amíg az őssejtek morfológiája (differenciálódási jelektől mentes, egységesen az őssejtekre jellemző nyúlványos struktúra) és szaporodási üteme megfelelő (általában nem több, mint 3-4 szétoltás). Ezt követte az MSC-k fagyasztása, tárolása.

A sejteket ugyanúgy szedtük fel tripszinnel, mint egy átoltáshoz, csak a végén tiszta FBS-ben szuszpendáltuk azokat. A sejtsszámot 1 ml FBS-ben 3-4 millióra állítottuk be és ehhez még 10%-ban DMSO-t kevertünk. A fagyasztó ampullákba adagolt sejtsuszpenziót 24 órára -70 °C fokra (szárzajég), majd folyékony N<sub>2</sub>-be merítettük (-196 °C), amiben felhasználásig korlátlan ideig tárolható (1. ábra).

A sejtek kiolvasztása hirtelen melegítéssel történik, azaz a nitrogénből azonnal 37 °C-s vízfürdőbe kell helyezni az ampullákat, majd a felolvadás után PBS-s pufferrel többször át kell mosni a sejteket, tökéletesen eltávolítva belőlük a savót és a DMSO-t (centrifugacsőben, többször alacsony fordulaton centrifugálva és felülúszót elöntve). Ezt követően a sejteket a beadandó izület, vagy egyéb anatómia hely méretének megfelelő mennyiségben és térfogatban készítjük elő (a könyökizületbe 4 millió sejt, 1,5-2 ml térfogatban).



1. ábra . – Az MSC-k tárolására alkalmas tartály, ahol folyékony,  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os  $\text{N}_2$ -ben tároljuk a sejteket

## 5.2. Könyökízületi arthrosisos kutyák kiválasztásának szempontjai

1. Korábban artroszkópos műtéten átesett, de ismét tüneteket mutató egyedeket kerestünk.

Minden artroszkópos műtétet dr. Diószegi Zoltán végzett. Az artroszkópia során az operatőr steril műtéti körülmények között, egy bemetszésen keresztül az ízület üregébe bevezetett, merev fémhüvelybe foglalt lencserendszer-artroszkópos optika segítségével a könyökízületet megtekintette és a fragmentumokat eltávolította. Csak azokat a kutyákat válogattuk be a tanulmányba, amelyeknél subtotal medialis coronoidectomia is történt.

2. Tünetek: mozgáskorlátozottság a mellső végtagon vagy végtagokon, sántítás, merev járás, bicegés, kelletlen mozgás, fekvő helyzetből történő nehézkes felállás, munka végzés hatására súlyosbodó sántaság jelentkezése. Kifelé forduló mancs, míg befelé forduló könyök, fájdalom jelei a könyökízület mozgásakor.
3. Részletes ortopédiai, fizikális vizsgálaton kellett átesniük, amely során mindkét könyököt vizsgáltuk, a vizsgálat során folyadékgyülemet (synovia gyülem) kerestünk tapintással és megtekintéssel. Az ízületeket átmozgattuk, ahol mozgáskorlátozottságot kerestünk, esetleg “hóropogás” szerű hangot hallhattunk.

Az ízületi fájdalmat pontozással vizsgáltuk. Végző diagnózist a röntgen felvétel eredménye alapján mondtuk ki.

4. Röntgen: digitalis röntgengéppel készült. A felvételeket két beállításban készítettük, rács nélkül: egy cranio-caudalis és egy medio-lateralis 45°-ban hajlított végtaggal. A cranio-caudalis beállításnál, az alkart befelé forgatjuk kb.: 10-15°-al. A röntgenkép elemzésekor arthrosisra jellemző, különböző nagyságú csontos felrakódásokat kerestük.
5. Az egyedek kiválasztásakor és az utókövetésakor végzett valamennyi fizikális vizsgálatot dr. Diószegi Zoltán végezte.

### **5.3. A zsír eredetű mesenchimalis őssejtek intraartikuláris alkalmazása**

1. A zsír eredetű mesenchimális őssejtek (=MSC) befecskendezése bódításban történt. A kutyák kanülálás után 2%-os Propofol (2,5 mg/ 10 kg) és Dormicum-ot (0,5 mg / 10 kg) kaptak intravénásan.
2. Az artrósisos könyököt borotváltuk és fertőtlenítettük (3-szor chlorhexidine szappannal lemosva, majd 3-szor Bradoderm alkoholos bőrfertőtlenítővel lepermetezve)
3. A fertőtlenítés után következett a kb. 4 millió MSC (1 ml Salsolban szuszpendálva) befecskendezése az ízületbe. A szúráshoz a könyök pozíciója: lábvég pronálva és az ízület 90 fokban meghajlítva (2. ábra).



2. ábra. – MSC injektálása a könyökízületbe

#### **5.4. Az esetek utókövetése és az értékelési rendszer**

Első-, második-, és negyedik hónapban történtek a kontroll vizsgálatok, melyek során a kezelő állatorvos dr. Diószegi Zoltán megvizsgálta a beteget, különösen figyelemmel volt az esetleges sántaság meglétére, mértékére, az ízület kiteltségére és a könyök mozgásakor jelentkező fájdalomra. A tulajdonos a beadás időpontja előtt, majd a controlok időpontjában kérdőívet töltött ki, amely alapvetően sántaság és fájdalomértékelő pontozó rendszer volt.

##### **Kérdőív:**

Tisztelt hölgyem/uram!

Kérem segítse munkánkat a kérdőív kitöltésével, mely a „könyökízületi-artrózisban szenvedő kutyák intraartikularis kezelése zsíreredetű, allogén őssejtekkel” munkacímet viseli. A témával kapcsolatban megbízható és érvényes információkat szeretnénk gyűjteni, ezért arra kérem, hogy a lehető legpontosabb válaszokat adja.

Köszönöm a segítségét!

Adatok:

- Gazda neve:
- Állat neve, egyetemi törzsszáma:

1. Milyen a kutya hangulata?

- Nagyon éber
- éber,
- se nem éber, se nem közömbös
- közömbös
- nagyon közömbös

2. Hogyan játszik a kutya?

- Nagyon szívesen magától
- Szívesen magától
- a gazda biztatására
- vonakodva
- nem játszik egyáltalán

3. Hogyan sétál a kutya?

- Nagyon könnyedén
- könnyedén
- kötött a mozgása
- kicsit sánta
- nagyon sánta

4. Hogyan fut a kutya? (nagy sebességű futás)

- Nagyon könnyedén
- könnyedén
- kötött a mozgása
- kicsit sánta
- nagyon sánta

5. Hogyan ugrik a kutya? (pl. gépkocsiba, kanapéra, ágyra ...)

- Nagyon könnyedén
- könnyedén

- nehézkesen
  - nagyon nehézkesen
  - nem hajlandó ugrani
6. Hogyan fekszik le a kutya?
- Nagyon könnyedén
  - könnyedén
  - kicsit nehézkesen
  - nehézkesen
  - nagyon nehézkesen
7. A kutya hogyan emelkedik fel fekvő helyzetéből?
- Nagyon könnyedén
  - könnyedén
  - kicsit nehézkesen
  - nehézkesen
  - nagyon nehézkesen
8. Hogy mozog a kutya hosszú pihenés után?
- Nagyon könnyedén
  - könnyedén
  - kötött a mozgása
  - kicsit sánta
  - nagyon sánta
9. Hogyan mozog a kutya nehéz feladat vagy hosszabb gyakorlás után?
- Nagyon könnyedén
  - könnyedén
  - kötött a mozgása
  - kicsit sánta
  - nagyon sánta

---

Tulajdonos aláírása

## 5.5. Statisztika

Az eredmények kiértékelésénél a szignifikancia bizonyítására kétmintás T-próbát használtunk.

## 6. Eredmények

### 6.1. Saját eredmények

A terápia értékelése során figyelembe vett szempontok: a fizikális vizsgálat és a tulajdonos által kitöltött kérdőív. A javulásokat sárgával jelöltem a táblázatokban.

Első eset egy 5 éves zsemle színű cane corso szuka kutya volt, a beavatkozás előtt 4 hónappal mindkét könyökét arthroscoposan operálták, de a jobb elülső láb sántaság megmaradt, (1/4-es fokozatú). Effusio egyik könyöknél sem volt érezhető, se a hajlítások, se a medialis terület nyomása nem fájt. A bal könyök hajlításakor recsegés volt érezhető. Punkcióval mindkét könyökből 1ml, tiszta ízületi nedv volt nyerhető. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt/ könyök intraarticularisan. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek a terápia után a kutya élénk volt, egyértelmű sántaságot nem mutatott, de kissé asszimmetrikus volt a járása. Mindkét könyök burkolt, de effusion-mentes volt, a teljes halításra kissé érzékenyek voltak. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (1. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Nagyon éber	Nagyon éber	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától
<b>Séta</b>	Kicsit sánta	Könnyedén	Könnyedén	Kötött a mozgása, kicsit sánta
<b>Futás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Kötött a mozgása

<b>Ugrás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Nehézkesen
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen
<b>Felemelkedés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	<b>Könnyedén</b>	Kicsit nehézkesen
<b>Mozgás pihenés után</b>	Nagyon sánta	<b>Könnyedén</b>	<b>Kicsit sánta</b>	<b>Kicsit sánta</b>
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kicsit sánta	<b>Könnyedén</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta

1. táblázat. – Az elsőnek kezelt cane corso pontozásos értékelése

A második eset egy 2 éves, barna, keverék szuka kutya volt, a beavatkozás előtt 5 hónappal mindkét könyökét arthroscoposan operálták, a bal oldali könyöke sokat javult, de továbbra is kifejezett jobb első sántaságot lehetett látni, főleg felkelés után (1/4-es). Mindkét könyök duzzadt volt, hajlításra fájt, a jobb oldalon közel felére, míg bal oldalon is 30%-al csökkent a mozgáspálya. Punkcióval 1-1 ml tiszta synoviát lehetett nyerni. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek a kutya élénk volt, bár könnyedebben mozgott, a sántasága nem javult megfelelően. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (2. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Nagyon éber	Nagyon éber	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától
<b>Séta</b>	Kicsit sánta	<b>Könnyedén</b>	<b>Könnyedén</b>	<b>Könnyedén</b>
<b>Futás</b>	Kicsit sánta	<b>Könnyedén</b>	<b>Könnyedén</b>	<b>Könnyedén</b>
<b>Ugrás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén



<b>Mozgás pihenés után</b>	Nagyon sánta	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kicsit sánta
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Nagyon sánta	Könnyedén	Kicsit sánta	Kicsit sánta

2. táblázat.- A második kutya pontozásos eredményei

Harmadik eset egy 2 éves, csokoládé színű, szuka labrador retriever volt, a beavatkozás előtt 6 hónappal a jobb könyökét arthroscoposan operálták.

A vizsgálat alatt a jobb könyök hajlítására fájdalom jeleit mutatta, a könyök kitélt volt és 1/4-es sántaságot lehetett tapasztalni. A medialis terület nyomásra érzékeny volt. Punkcióval 1 ml synoviát lehetett nyerni. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, szívesen mozgott 1/4-es sántasága a 2. havi kontroll után már alig volt észlelhető. Könyök már nem volt kitélve, de a hajlításra kissé érzékeny volt. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (3. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Éber	Éber	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Nagyon Szívesen magától
<b>Séta</b>	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Futás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Ugrás</b>	Nehézkesen	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Mozgás pihenés után</b>	Nagyon sánta	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Kicsit sánta

3. táblázat.- A harmadik páciens pontozásos eredményei

Negyedik eset egy 4 éves őzbarna, magyar vizsla kan kutya volt, a beavatkozás előtt 7 hónappal a bal könyökét arthroscoposan operálták.

Vizsgálat során a bal könyök kissé kitelt, a medialis terület nyomása és hajlítása egyértelműen fájdalmas volt. 1/4-es bal első sántaság volt látható. Punkcióval kb.: 1 ml synoviát lehetett nyerni. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, látható sántaság nem volt, a bal könyök minimálisan burkoltabb volt, a könyök hajlításra kissé érzékenyebb volt. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (4. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Nagyon éber	Nagyon éber	Éber	Nagyon éber
<b>Játék</b>	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától
<b>Séta</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Nagyon könnyedén	Könnyedén
<b>Futás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Ugrás</b>	Nagyon könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Nagyon könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Nagyon könnyedén	Könnyedén	Nagyon könnyedén	Nagyon könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Nagyon könnyedén	Nagyon könnyedén
<b>Mozgás pihenés után</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Könnyedén	Könnyedén
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Könnyedén	Könnyedén

4. táblázat.- A negyedik eb pontozásos eredményei

Ötödik eset egy 7 éves, arany színű golden retriever kan kutya, a beavatkozás előtt 2 évvel mindkét könyökét arthroscoposan operálták, a bal könyökében enyhébben, a jobb könyökében kifejezettebben látható volt a karcsontr medialis condylusának és a vele érintkező proc. coronoideus medialisnak a kopása. A kopott felületeket kürettálták, és a jobb oldalon subtotal coronoidectomiát végeztek.

Vizsgálat során élénk volt, szívesen mozgott, a jobb könyök burkolt volt, medialis terület nyomása és a könyök hajlítása fájt. 1/4-es jobb első sántaságot tapasztaltunk. Punkcióval kb.: 1 ml synoviát lehetett nyerni. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan a jobb könyöközületbe. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, 1/4-es sántaság a jobb első lábán még látható volt, de hajlításra mérséklődött a fájdalom és a medialis terület nem volt nyomás érzékeny. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (5.táblázat) :

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Nagyon éber	Nagyon éber	Nagyon éber	Nagyon éber
<b>Játék</b>	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Nagyon szívesen magától
<b>Séta</b>	Kicsit sánta	<b>Kötött a mozgása</b>	<b>Kötött a mozgása</b>	Kicsit sánta
<b>Futás</b>	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Kicsit sánta	Kicsit sánta
<b>Ugrás</b>	Nehézkesen	Nehézkesen	Nehézkesen	Nehézkesen
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen
<b>Mozgás pihenés után</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit sánta
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Nagyon sánta	Nagyon sánta	Nagyon sánta	Nagyon sánta

5. táblázat.- Az ötödik eset pontozásos eredményei

Hatodik eset egy 6 éves, vizsla kan kutya, a beavatkozás előtt 1,5 évvel arthroscoposan operálták a bal könyökét.

A vizsgálat során a bal könyök hajlítása fájdalmas volt, mindkét könyök burkolt volt de a bal kifejezettebben. Röntgennel mindkét könyök artrotikus volt. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan a bal könyökízületbe. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, egyértelmű sántaság nem volt, de tipegett mindkét lábával. Mindkét könyök kifejezetten artrotikus, hajlításuk fájdalmas, de kiteltség nem volt tapintható. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (6. táblázat)

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Éber	Éber	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától
<b>Séta</b>	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kicsit sánta
<b>Futás</b>	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kicsit sánta
<b>Ugrás</b>	Nehézkesen	Nehézkesen	Könnyedén	Nehézkesen
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Könnyedén	Kicsit nehézkesen
<b>Felemelkedés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen
<b>Mozgás pihenés után</b>	Kicsit sánta	Könnyedén	Könnyedén	Kötött a mozgása
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kicsit sánta	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása

6. táblázat. - A hatodik kutya pontozásos eredményei

A hetedik eset egy 4 éves golden retriever kan kutya, a beavatkozás előtt 1 évvel arthroscoposan operálták mindkét könyökízületét.

A vizsgálat során élénk volt, egyértelmű sántaságot nem mutatott, de a bal könyök hajlításra érzékeny volt. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan a bal könyökízületbe. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, látható sántaság nem volt, mindkét könyök érezhetően artrotikus, a jobb könyök hajlítása kissé érzékeny volt, a bal nem. Kiteltség nem volt tapintható. A tulajdonos elmondása szerint nagyon élénk, szívesen mozog, csak az oldalirányú cselező mozgásoknál érzékelhető, hogy nem szereti. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (7. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Éber	Éber	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Szívesen magától	Nagyon szívesen magától
<b>Séta</b>	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Futás</b>	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Ugrás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Könnyedén	Könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Könnyedén	Könnyedén
<b>Mozgás pihenés után</b>	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Nagyon sánta	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén

7. táblázat.- A hetedik számú eset pontozásos eredményei

A nyolcadik eset egy 5 éves fekete labrador retriever nőstény kutya (3. ábra), a beavatkozás előtt 5 hónappal arthroscoposan operálták mindkét könyökét.

A vizsgálat során a jobb első lábára mutatott tüneteket, továbbra is kimélte időnként. Élénk volt, látható sántaságot nem mutatott, a jobb lapockaizmok vékonyabbak. Mindkét könyöke burkolt, és hajlításuk érzékeny volt, a jobbnál kisméretű ízületi folyadék gyülemet is lehetett tapintani. A jobb könyökből punkcióval 2,5 ml enyhén opalizáló ízületi nedvet lehetett nyerni. Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan a jobb könyökízületbe. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, 1/4-es jobb első láb sántaságot tapasztaltunk, könyökök nem voltak kitéve, de hajlításukra kissé érzékeny volt. A medialis terület nyomásra nem volt érzékeny. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (8. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Éber	Se nem éber, se nem közömbös	Se nem éber, se nem közömbös	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától	Szívesen magától
<b>Séta</b>	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit sánta	Könnyedén
<b>Futás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit sánta	Könnyedén
<b>Ugrás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Könnyedén
<b>Felemelkedés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Könnyedén
<b>Mozgás pihenés után</b>	Kötött a mozgása	Nagyon sánta	Kicsit sánta	Kötött a mozgása
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kötött a mozgása	Kicsit sánta	Nagyon sánta	Kötött a mozgása

8. táblázat. - A nyolcadik állat pontozásos eredményei



4. ábra.- A nyolcadik és kilencedik beteg az ébredéskor

A kilencedik eset egy 3 éves „nőstény fekete labrador retriever (3. ábra), a beavatkozás előtt 7 hónappal arthroscoposan operálták mindkét könyökét.

A vizsgálat során könyökei kiteltek, hajlításuk korlátozott és fájdalmasak voltak (1/4-es sántaság mindkét oldalon). Terápia: 4 millió mesenchimalis őssejt intraarticularisan mindkét könyökizületbe. A kontrollokon, amelyek 1,2, és 4 hónap múlva voltak esedékesek élénk volt, könyökei nem voltak kitelve, hajlításuk korlátozott és érzékeny volt. A 2. és 4. havi kontrollon látható sántaság nem volt, de mindkét lábvégét kifelé fordítva tartotta. A könyökök burkoltak, de nincsenek kitelve, a medialis terület nem volt nyomásérzékeny, a teljes hajlítást nem engedi. A gazda által kitöltött pontozó rendszer eredményeit az alábbi táblázatban foglaltam össze (9. táblázat):

	<b>Beavatkozás előtt</b>	<b>1.hónap</b>	<b>2.hónap</b>	<b>4.hónap</b>
<b>Hangulat</b>	Éber	Se nem éber, se nem közömbös	Éber	Éber
<b>Játék</b>	Szívesen magától	Szívesen magától	Nagyon szívesen magától	Szívesen magától

<b>Séta</b>	Kötött a mozgása	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Futás</b>	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása
<b>Ugrás</b>	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén	Könnyedén
<b>Lefekvés</b>	Könnyedén	Könnyedén	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen
<b>Felemelkedés</b>	Kicsit nehézkesen	Kicsit nehézkesen	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása
<b>Mozgás pihenés után</b>	Kicsit sánta	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása
<b>Mozgás nehéz feladat után</b>	Kicsit sánta	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása	Kötött a mozgása

9. táblázat. - A kilencedik eset pontozási eredményei

## 6.2. Eredmények kiértékelése

Statisztikai próbaként két-mintás T-próbát használtunk:

- Nullhipotézis: a két vizsgát változó statisztikai szempontból megegyezik,  $t < t_p$
- Alternatív hipotézis: a két vizsgált változó statisztikai szempontból nem egyezik meg,  $t > t_p$

A vizsgálatunkban  $t_p = 1,86$  és  $p = 0,05$

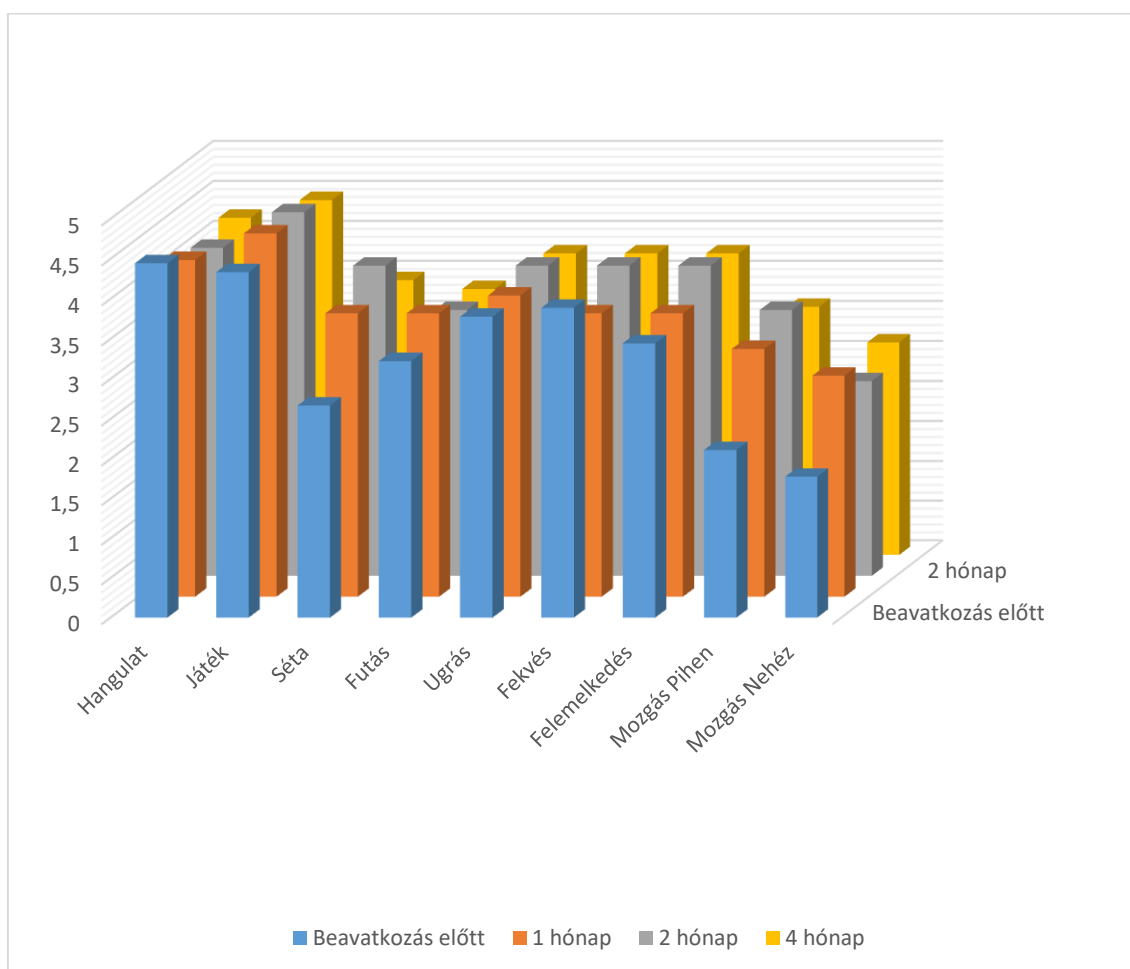
	t = beadásl-1.hónap	t = beadás-4.hónap
Hangulat	0,67612340378	0,97014250015
Játék	0,91766293548	0,45883146774
Séta	2,63038379689	2,06418738617
Futás	0,90453403373	0,27735009811
Ugrás	-	-
Fekvés	0,93704257133	0,32444284226
Felemelkedés	0,44721359550	1,17669681083
Mozgás pihenés után	2,01246117975	2,28600228600
Mozgás nehéz feladatoknál	2,34340039765	2,21880078490

10. táblázat.- A kétmintás T-próba eredményei



A séta, a pihenés utáni- és a nehezebb feladatok közbeni mozgás változásban szignifikáns javulás látható, a beadás előtti és az 1.-4. hónap között. ( $p = 0,05$ -ös szignifikancia szint mellett). (10. táblázat)

Az összesített átlagokat vizsgálva is érzékelhető a javulás a mozgással kapcsolatos cselekvések közben, főleg a séta, felemelkedés, pihenés utáni mozgás, nehéz feladatok közben mozgás esetén. (4. ábra)



4. ábra.- Diagramm a beavatkozás előtt, és után 1-2- és 4 hónappal a tulajdonosok által kitöltött kérdőív eredményei alapján az átlagokat ábrázolja (szempontok: hangulat, játék, séta, futás, ugrás, fekvés, felemelkedés, mozgás pihenés után, mozgás nehéz feladatok közben).

## 7. Megbeszélés

A könyökízületi dyspalsia következtében kialakuló artrózis, még a korán, minimálisan invazív módon elvégzett műtéti gyógykezelés ellenére is elkerülhetetlen, a folyamat csak lassítható, nem fordítható vissza. Az élethosszig tartó kezelésben fontos szerepet játszik a testsúlykontroll. A dysplasia következtében kialakult arthrosist mozgás csökkentéssel, komolyabb munka végzés kerülésével, nem szteroid gyulladáscsökkentők adagolásával és porcvédők folyamatos adásával kezelik. Bizonyos egyedekben sajnos a kezelési lehetőségek egy idő múlva hatástalanná válnak és a csillapíthatatlan fájdalom nagymértékben rontja az állat életminőségét. Ez a helyzet, mind újabb és újabb terápiás eljárások fejlesztésére sarkallja a kutatókat és így kerültek képbe az erős gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatással rendelkező őssejtek, mint a természetes anyagokkal történő terápia zászlóshajói. Mióta kifejlesztésre került a mesenchimális őssejtek szeparálásának, szaporításának és tárolásának biztonságos módszere, azóta kezdődtek el az ezirányú kutatások. Lendületet adott az alkalmazásra az is, hogy az MSC-k fajon belül adva nem váltanak ki idegentest reakciót, valamint alkalmazásukkor nem tapasztaltak mellékhatásokat, mint sok szintetikus gyógyszervegyület esetében. Munkámban egységes elvek mentén kiválasztott betegekben szerettem volna bizonyítani az MSC kezelés jótékony hatását, amit most elsősorban a közvetlenül észlelhető klinikai változások megfigyelésével és értékelésével igyekeztem megvilágítani. A molekuláris szintű változások vizsgálata nem lehet része ennek a dolgozatnak, az alapkutatási feladat, amin számos kutató intézet szorgoskodik. Vizsgálataimmal sikerült igazolnom, hogy a könyökízületbe injektált zsíreredetű mesenchimalis őssejt kezelés alkalmas módszer az artrózis okozta fájdalom-és gyulladás enyhítésére, méghozzá meghatározóan hosszú ideig (4-6 hónap). Ezzel tartósan szabadabb, mozgásban gazdagabb, gyógyszer mentes, fájdalom mentes életet biztosítva az arthrosisban szenvedő kutyák számára. A vizsgálatunk során mellékhatást nem tapasztaltunk, a tulajdonosok általában elégedettek voltak és határozottan észleltek a pozitív változásokat. Nagyon súlyos és előrehaladott artrózisban szenvedő kutyák esetében előfordulhat, hogy nem használ a kezelés, de sohasem ront a kutya állapotán. Nemzetközi viszonylatban igen ígéretesek a kutatások és az eredmények. Hazánkban még kevés az esetszám, a nemzetközi kutatások szélesebb körben folynak és nagy

érdeklődésre tartanak számot. Érdemes lenne hasonló egységes kutatást végezni más ízületek arthrosisának pl.: csípőízület arthrosis kezelésére is.

## 8. Összefoglalás

A kutyák elülső láb sántaságának leggyakoribb oka a könyökízületi dysplasia. A betegségnek az alap inkongruencia mellett három klinikai formája létezik: az izolált processus anconaeus, a fragmentált processus coronoideus medialis és a karcsony medialis condylusának ízületi felületén kialakuló osteochondrosis. Mind a négy forma arthrosissal jár. Jelen vizsgálatban arra kerestük a választ, hogy hatásos kezelés-e a könyökízületbe adott, zsíreredetű, allogén mesenchimalis őssejt (AD-MSC) szuszpenzió, az arthrosis tüneteinek csökkentése céljából, főleg a fájdalom enyhítésére és az életminőség javítására. Az intraartikuláris őssejt injekcióval az őssejteknek igen jelentős gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatásának kihasználása volt a célunk. Első fázisban kiválasztottuk az őssejt izolálásra alkalmas fiatal, vakcinázott kutyákat, amelyek szűrővizsgálaton estek át a vakcinával nem megelőzhető fertőző betegségekre. A kutyákból rutin ivartalanítás során zsírszövetet vettünk és ebből állítottuk elő az ún. SVF (stroma vascular fractio) nevű sejtsuszpenziót, aminek kb. 1% pericyta-endothel típusú mesenchimalis őssejt. Ezt követte az a szelektív tenyésztés, amivel tiszta őssejtenyészetet kaptunk, amit többszöri továbboltással szaporítottunk megfelelő mennyiségűre. A mikroszkópos vizsgálattal és festéssel azonosított MSC-eket, 3-4 milliós adagokban folyékony nitrogénben tároltuk felhasználásukig. A kezelendők kiválasztásának az volt a feltétele, hogy már túl legyenek a sebészi ellátás lehetőségein (subtotal medialis coronoidectomia, artroszkópos módszerrel, ugyanazon operatőr által végezve). A kiválasztott kutyák a beavatkozás előtt részletes ortopédiai fizikális vizsgálaton estek át és két irányú röntgen felvétel is készült a könyökízületükről, ami igazolta az arthrosist. A vizsgálatba 9 kutyát vontunk be, és az injektálás után 1-2- és 4 hónappal végeztük a kontroll vizsgálatokat. Minden kontroll alkalmával - a fizikális vizsgálat mellett - a tulajdonosok kérdőívet töltöttek ki. A kezelt kutyák gazdáinak pontozásos értékeléseinek statisztikai elemzése alapján ( két mintás T-próba) mindhárom időpontban szignifikáns javulás volt bizonyítható a séta, a hosszabb pihenés utáni és a nehezebb feladatok során végzett mozgás esetén a kiindulási állapothoz képest ( $p < 0,05$ ). Összefoglalva kimondható, hogy az intraartikuláris őssejt-terápia ígéretes módszer, a már semmiféle sebészi módszerrel nem kezelhető és konzervatív kezelésre sem

reagáló, fájdalmas arthrosisos ízületi betegségben szenvedő kutyák életminőségének viszonylag hosszú ideig történő javítására mellékhatásmentesen, és a gazdák messzemenő megalégedettségével társulva.

## **9. Summary**

Elbow dysplasia is the commonest cause of forelimb lameness in dogs. In addition to the basic articular incongruence, the condition has 3 distinct clinical forms: ununited anconeal process, fragmented medial coronoid process, and osteochondrosis developing on the articular surface of the medial humeral condyle. All 4 forms involve arthrosis. The objective of this study was to determine whether an injection of allogenic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (AD-MSC) administered into the elbow joint is effective in alleviating the signs of arthrosis, with particular regard to relieving pain and improving the quality of life. We used intraarticular stem cell injection to utilize the very pronounced anti-inflammatory and analgesic effects of stem cells. As a first step, we selected young vaccinated dogs suitable for stem cell isolation, which had previously been screened for the absence of infectious diseases that cannot be prevented by vaccination. During routine neutering, adipose tissue was taken from the dogs and used for obtaining the so-called stromal vascular fraction (SVF) cell suspension, about 1% of which is constituted by mesenchymal stem cells of pericyte/endothelial type. This was followed by selective culture resulting in a pure stem cell culture, which was then propagated to the required quantity through multiple passages. The MSCs identified by microscopy and staining were distributed into doses of 3–4 million cells each and stored in liquid nitrogen until used. When selecting dogs for the study, we considered it important that all dogs should meet the same criteria. Dogs eligible for the treatment had to be past the possibility of surgical management (subtotal medial coronoidectomy by an arthroscopic procedure, performed by the same surgeon). Before the intervention, the selected dogs were subjected to detailed orthopaedic examination and two-way radiographs were taken of their elbow joint, which demonstrated the presence of arthrosis. A total of 9 dogs were included in the study, and check-up examinations were performed 1, 2 and 4 months after the injection. At each check-up examination the dogs were subjected to physical examination and their owners were asked to complete a questionnaire. Statistical analysis (2-sample t-test) of the evaluation made by the dog

owners by scoring demonstrated a significant improvement ( $P < 0.05$ ) compared to the baseline status in the dogs' mobility during walk, after a long rest and during the performance of difficult tasks at all the three time points tested. In summary, it can be stated that intraarticular stem cell therapy is a promising method which enables us to improve the quality of life of dogs suffering from painful arthrosis no longer amenable to any type of surgical management and not responding to conservative treatment either, for a relatively long time. The method does not have any side effects and ensures maximum owner satisfaction.

## 10. Irodalom jegyzék

Apáti Á., Uher Ferenc, Sarkadi Balázs : Össejtek a kutatásban és az orvosi gyakorlatban  
[http://eduvital.net/files/biol-hatteranyag/Uher\\_Ossejtek.pdf](http://eduvital.net/files/biol-hatteranyag/Uher_Ossejtek.pdf)

Caplan A. I., 1991: Mesenchymal Stem Cells, Journal of Orthopaedic Research 9:641-650 p

Boulay P. J., 1998: Fragmented Medial Coronoid Process of Ulna in the Dog, Vet Clinics of North America: Small Animal Practice 28: 51-72 p

Black L. L., Gayner J., Adams C., Dhupa S., Sams A. E., Taylor R., Harman S., Gingerich D.A., Harman R., 2008: Effect of intraarticular injection of autologous adipose-derived mesenchymal stem and regenerative cells of clinical signs of chronic osteoarthritis of elbow joint of dogs, Vet Ther. 9:192-200 p

Brooke G., Cook M., Blair C., Han R., Heazlewood C., Jones B., Kambouris M., Kollar K., McTaggart S., Pelekanos R., Rice A., Rossetti T., Atkinson K., 2007: Threapeutic applications of mesenchymal stromal cells, Seminars in Cell and Development Biology 18: 846-858 p

Cawley J., Archibald J., 1995: Ununited Anconeal Process of the Dog. JAVMA 134: 454-458 p

Constantinescu G. M., Constantinescu I.A., 2009: A Clinically Oriented Comprehensive Pictorial Review of Canine Elbow Anatomy, Veterinary Surgery 38: 135-143 p

Cook C. R., Cook J. L., 2009: Diagnostic Imaging of Canine Elbow Dysplasia: A Review, Veterinary Surgary 38: 144-153 p

Diószegi Z., 2007: Kisállatortopédia, Budapest, Melania Kft., 38-44 p, 57-60 p, 122 p

Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F. C., Krause D. S., Deans R. J., Keating A., Prockop D. J., Horwitz E. M., 2006: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement, 8: 315-317 p

Evans M. J., Kaufman M. H., 1981: Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos, Nature 292: 154-156 p

Faluvégi A., 2000: A könyökízületi dysplasia kórformái és előfordulásuk Magyarországon, szakdolgozat, Budapest, SZIE Állatorvos-tudományi Kar

Fehér Gy., 2006: Háziállatok funkcionális anatómiája 1., Budapest, Mezőgazda Kiadó, 46-51 p

Fitzpatrick N., Smith T. J., Evans R. B., O’Riordan J., Yeadon R., 2009: Subtotal Coronoid Ostectomy for Treatment of Medial Coronoid Disease in 263 Dogs, *Veterinary Surgery* 38: 233-245 p

Franklin S. P., Cook J. L., 2013: Prospective trial of autologous conditioned plasma versus hyaluronan plus corticosteroid for elbow osteoarthritis in dogs, *The Canadian Veterinary Journal*, 54: 881-884 p

Gómez-López S., Lerner R. G., Petritsch C., 2014: Asymmetric cell division of stem and progenitor cells during homeostasis and cancer, *Cell. Mol. Life Sci.* 71: 575-597 p

Gemill T. J., Mellor D. J., Clementes D. N., Clarke S. P., Farrell M., Bennett D., Carmichael S., 2005: Evaluation of elbow incongruency using reconstructed CT in dogs suffering fragmented coronoid process, *Journal of Small Animal Practice* 46: 327-333 p

Grandalen J., Lingaas F., 1991: Arthrosis in the elbow joint of young rapidly growing dogs: a genetic investigation, *Journal of small animal practice BSAVA* 32: 460-464 p

Hodgkiss- Geere H. M., Argyle D. J., Corcoran B. M., Whitelaw B., Milne E., Bennett D., Argyle S. A., 2012: Characterisation and differentiation potential of bone marrow derived canine mesenchymal stem cells, *The Veterinary Journal* 194: 361-368 p

Iannaccone P. M., Taborn G. U., Garton R. L., Caplice M. D., Brenin D. R., 1994: Pluripotent Embryonic Stem Cells from the Rat are Capable of Producing Chimeras, *Developmental Biology* 163: 288-292 p

J. J. de Haan, S. C. Roe, D. D. Lewis, W. C. Renberg, S. C. Kerwin, T.N. Bebhuck, 1996: Elbow arthrodesis in twelve dogs, *Veterinary and comparative orthopedics and traumatology* 3: 25-26 p

Kang B. J., Ryu H. H., Park S. S., Koyama Y., Kikuchi M., Woo H.-M., Kim W. H., Kweon O-K., 2012: Comparing the osteogenic potential of canine mesenchymal stem cells derived from adipose tissues, bone marrow, umbilical cord blood, and Wharton’s jelly for treating bone defects, *Journal of Veterinary Science* 13: 299-310 p

Kisiel A. H., McDuffee L., Masaoud E., Bailey T., Esparza Gonzalez B. P., Nino-Fong R., 2012: Isolation, characterization, and in vitro proliferation of canine mesenchymal

stem cells derived from bone marrow, adipose tissue, muscle, and periosteum; American Journal of Veterinary Research 73: 1305-1317 p

Kovács-Haász V., Dulka B., Pöstényi Z., Polyák A., Matula Zs., Szigeti A., A. Ivanovska, Thuróczy J., Uher F., Német K., Balogh L., 2016: A mesenchymalis őssejtek felhasználásának lehetőségei az állatorvosi kutatásokban és gyógyításban, Magyar Állatorvosok Lapja 6/ 138. évfolyam: 349- 360 p

König H.E., Liebich H-G. , 2005: Anatomie der Haussaugetiere Lehrbuch und Farbatlas und Praxis, Stuttgart, Shattauer GmbH. 161-163 p

Kramer A, Holsworthy I. G., Wisner E. R., Kass P. H., Schultz K. S., 2006: Computed tomographic evaluation of canine radioulnar incongruence in vivo, Veterinary Surgery, 35: 24-29 p

Kriston-Pál É., Czibula Á., Gyuris Z., Balka Gy., Seregi A., Sükösd F., Süth M., Kiss-Tóth E., Haracska L., Uher F., Monostori É., 2017: Characterization and therapeutic application of canine adipose mesenchymal stem cells to treat elbow osteoarthritis, Canadian Journal of Veterinary Research 81:73-78 p

Michael G. C., Rhonda L. Aper, Christopher M. Hill, 2001: Evaluation of a Canine Total-Elbow Arthroplasty System: A Preliminary Study in Normal Dogs, Veterinary Surgery 30: 11-20 p

Ness M. G., 1998: Treatment of fragmented coronoid process in young dogs by proximal ulnar osteotomy, Journal of small animal practice BSAVA, 39: 15-18 p

Podadera J. M., Manuel J., Robin J.W., 2010: Canine elbow dysplasia, ANZ nuclear medicina ,41:1324-1335 p

Remy D., Neuhart L., Fau D., Genevois J. P., 2004: Canine elbow dysplasia and primary lesions in German shepherd dogs in France, Journal of small animal practice BSAVA 45: 244-248

Roegiers F., Nung Jan Y., 2004: Asymmetric cell division, Current Opinion in Cell Biology 16: 195-205

Silverstein F. E., Gerald Faich, Jay L. Goldstein, 2000: Gastrointestinal Toxicity With Celecoxib vs Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Osteoarthritis and Rheumatoid Arthritis, JAMA 284:1247-1255 p



Stevens R. D. , Sande D. R., 1974: An elbow Dysplasia Syndrome in the dog, JAVMA 165: 1065-1069 p

Takahashi K., Yamanaka S., 2006: Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors, Cell 126: 663-676 p

Thomson J. A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S. S., Waknitz M. A., Swiergiel J. J., Marshall V. S., Jones J. M., 1998: Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts, Science 282: 1145-1147 p

Uher F., 2017: Óssejt-biológia, Budapest, Medicina könyvkiadó Zrt., 9-15 p , 45-89 p

Yeadon R., Fitzpatrick N., Smith T. , Schulz K., 2009: Techniques of Application and Initial Clinical Experience with Sliding Humeral Osteotomy for Treatment of Medial Compartment Disease of Canine Elbow, Veterinary Surgery 38: 261-278 p

Yun S., Ku S.-K., Kwon Y-S., 2016: Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs, Journal of Orthopaedic Surgery and Research 11:9 2-12 p

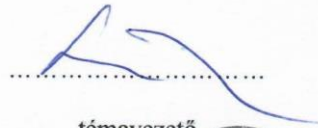
## 11. Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni témavezetőmnek **Dr. Diószegi Zoltánnak**, szakmai segítségét, valamint, hogy észrevételeivel és tanácsaival segítette munkámat. Köszönöm a **Sebészeti és Szemészeti tanszék munkatársainak** a segítségét. Köszönöm a **Budaörsi Állatorvosi Rendelő és Laboratórium munkatársainak** a közreműködését (különösen Dr. Szaniszló Ferencnek) az MSC-kel kapcsolatos feladatok elvégzésében. Továbbá köszönöm **Deák Gergely** segítségét a statisztikai elemzésben.

## Témavezetői nyilatkozat

Alulírott ...Diószegi Zoltán....., mint témavezető nyilatkozom, hogy Szaniszló Réka..... állatorvostan-hallgató „Könyökízületi-arthrózisban szenvedő kutyák intraartikularis kezelése zsíreredetű, allogén őssejtekkel.....” c. dolgozata részt vehet az Állatorvostudományi Egyetem 2017. évi Tudományos Diákköri Konferenciáján.

Budapest, 2017. október hó 16. nap.



témavezető



5. melléklet Nyilatkozat TDK- és diplomamunka azonosságáról

NYILATKOZAT

Alulírott SZANISZLÓ REKA..... nyilatkozom, hogy diplomamunkám,  
melynek címe KÖNYÖKTÉZLETT-ARTRÓZISBAN SZENVEDŐ KUTYÁK  
INTRAARTIKULÁRIS KEZELÉSE ZSÍREREDETŰ, ALLOGÉN ÖSSEJTŐKKEL  
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a .....2017.....  
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2018. 11. 10......

SZANISZLÓ REKA Szaniszló Reka

a hallgató neve és aláírása

**HuVetA**  
**ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT\***

Név: SZANISZLÓ RÉKA  
Elérhetőség (e-mail cím): REEKUSKA@GMAIL.COM  
A feltöltendő mű címe: KÖNYVTÁRI ÉS KÖNYVTÁRSZABÁLYZATI SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT  
A mű megjelenési adatai: DIPLOMA MUNKÁK  
Az átadott fájlok száma: 2

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyeznek, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyag rész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címekre) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélné.

Budapest, 2018. év ... 11. ... hó ... 10. ... nap

*Szancsics Rezső*

aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

*A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltatassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

*A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén*

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*