

Válasz Dr. Poór Gyula professzor úr, az MTA doktora opponensi bírálatára

Tisztelettel köszönöm Professzor Úrnak, hogy elvállalta MTA Doktori értekezésem bírálatát. Köszönöm kritikai megjegyzéseit, kérdéseit és támogató szavait. Az alábbiakban szeretnék válaszolni a bírálatában tett megjegyzésekre és kérdésekre.

Opponensi vélemény: *Fölösleges a dolgozatban több fejezet tematikus publikációs listáját feltüntetni, mivel a munka végén minden megjelenés egyébként is felsorolásra kerül.*

Válasz: Ezt a dolgozat szerkesztési stílust, a közelmúltban védett állatorvosi MTA doktori értekezések mintájára alakítottam ki. Egyetértek professzor úrral, hogy ilyen formában egyes publikációim az adott fejezetnél, majd a dolgozat végén összesítve is felsorolásra kerülnek, mindazonáltal fontosnak éreztem külön is feltüntetni az adott fejezethez tartozó publikációk jegyzékét a jobb áttekinthetőség érdekében.

Köszönöm, hogy opponensem felhívta figyelmemet az elütésekre, melyek közül értelmileg zavarónak csak néhányat talált.

Opponensi vélemény: *Hiányzik a disszertációból a rövidítések jegyzéke.*

Válasz: Teljesen egyet értek opponensem kritikájával. Elkészítettem a disszertációmban található rövidítések jegyzékét, amelyet válaszomhoz mellékelek. Köszönöm, hogy opponensem felhívta erre a hiányosságra a figyelmemet.

Opponensi vélemény: *Professzor úr helyteleníti, hogy dolgozatomban az „osteoarthritis” terminológiát használom, mivel ez a folyamat nem tekinthető priméren gyulladásos folyamatnak. A magyar humán orvosi terminológia az „arthrosis/osteoarthrosis” kifejezést tartja alkalmasabbnak a folyamatok leírására.*

Válasz: Lovak esetében az ízületi degenerációhoz vezető folyamatok szintén igen összetettek. Kimutatták, hogy az emberhez viszonyítva lovon nagyobb jelentőséggel bír a gyulladás, nevezetesen a synovitis és capsulitis az ízületi porc degenerációjának kialakításában (Palmer and Bertone 1994a; McIlwraith 1996, Grauw és mtsai 2009a, Frisbie 2012). Az ízületben kialakult synovitis (és capsulitis) fájdalmat, diszkomfortot okoz lovakban, e mellett megnövekedett gyulladásos mediátorok termelését indítja el, mint pl. metalloproteinázok, aggreganáz, prosztaglandin-E2, szabad gyökök, interleukin-1, vagy a TNF α (Frisbie és mtsai 2002, Kamm és mtsai 2010).

A synovitis még enyhe ízületi gyulladások esetén is jelentős szerepet játszik az ízületi porc matrix integritásának destrukciójában lovon (Gineyts *et al.* 2004; Sutton *et al.* 2009). Ez az oka annak, hogy a humán terminológiával ellentétben lovak ízületi elváltozásainál kizárólag az „osteoarthritis” terminológia terjedt el. Ez indokolta azt, hogy doktori értekezésemben is ezt használtam.

Köszönöm, hogy bírálóm felhívta a figyelmemet a 12. ábra aláírásában lévő elírásra, „split-line pattern” a helyes kifejezés.

Opponensi vélemény: *Nem elfogadható az általam mozaikplasztikával műtött sikeres esetek életkori határának (hét év) éles meghúzése, mivel az átültetések lokalizációja és technikája egyaránt vegyes volt.*

Válasz: Sajnos lovak esetében az esetszám nemzetközi publikációkban is gyakran túl alacsony ahhoz, hogy megfelelő statisztikai számításokat végezhessünk. Végigfuttatva a Fisher exact tesztet külön-külön a csüdízületi, valamint térdízületi mozaikplasztikás eseteimnél, egyértelmű, hogy az esetszám kevés szignifikáns különbségek kimutatásához.

A két ízület eseteinek korcsoportonkénti összevonásával lehetett csak a Fisher exact teszt segítségével szignifikáns különbséget kimutatni az általam elvégzett összes mozaikplasztika műtét esetében. Teljesen egyetértek opponensem bírálatával, miszerint ízületenként éles életkor határ nem húzható meg ilyen esetszám mellett. Az eddigi adatokból jelenleg viszont egy tendencia úgy gondolom meghatározható, miszerint a hét évesnél fiatalabb korosztály esetében a műtét kifejezetten javasolható az eddigi adatok tükrében.

Összefoglalva köszönöm, hogy bírálóm kiemelte, miszerint az eddigi esetszám nem elegendő egyértelmű éles életkorhatár meghúzásához az ízületenkénti bontásban.

Kérdés: *Hogyan zajlott a 3.1.2.4. alfejezetben leírt radiológiai vizsgálatok objektív pontozása és a két független vizsgáló eredményeinek összehasonlítása (interobserver error)?(ez nem lett részletezve a doktori értekezésben)*

Válasz: Az anyag és módszer leírásánál hivatkozok Husby és mtsai cikkére a radiológiai kiértékelés részletes leírását illetően. Saját vizsgálatainkat az ő általuk használt, de más szerzőknél is (pl. Frisbie és mtsai 1999) fellelhető radiológiai kiértékeléseknek megfelelően végeztük. Periartikuláris osteophyták megjelenése, az ízfelszín ellaposodása, a subchondralis sclerosis mértéke, lucens területek a subchondralis csontban, ill. az ízületi rés beszűkülése voltak azok a Husby és mtsai által meghatározott kritériumok, amelyeket mi is vizsgáltunk. Nulla értéket az elváltozás nélküli, 1-es értéket az enyhe, 2-est a közepes fokú, míg a 3-as értéket a súlyos fokú elváltozások kaptak. Az általunk vizsgált ízületek esetében mindegyik műtött térd ízület a radiológiai kiértékelés során az elváltozás nélküli kategóriába esett 12 hónappal a műtétek után. Ezen eredményeket a makroszkópos ízület boncolások is megerősítették, ezért nem kerültek további részletezésre a szövegben. Egy esetben sem találtunk a műtéteket követően osteoarthritisre utaló radiológiai, ill. kórbonctani elváltozásokat 12 hónap elteltével. A két független vizsgáló értékelése közötti egyetértés 100% volt ebben az esetben, ezért további elemzésre nem volt szükség.

Kérdés: *A CS846 és C1,2C biomarkerek mért szintjének változása mennyire tekinthető az osteochondralis beavatkozásokra nézve specifikusnak, hiszen a vakműtött kontroll csoport esetében is megemelkedtek az értékek?*

Válasz: Az ízületi folyadékban mért CS846 epitóp koncentráció az ízületi porc extracelluláris mátrixának egyik fő alapelemét képező aggregátum szintézissel kapcsolatban nyújt számunkra információt.

Több, lovon végzett tudományos munka elemzi a CS846 szintjének megemelkedését lipopolysacharid indukálta synovitis követően. De Grauw és mtsai (2009b) hatszoros CS846 szintemelkedést tapasztaltak 24 órával a synovitis indukciót követően.

Billinghurst és mtsai (2003) megállapították egy 5 hónapon keresztül végzett kísérlet során csikókban, hogy az intenzív mozgás összehasonlítva a szigorú bokszt pihenővel szintén enyhén megemelkedett CS846 szintet eredményezett a synoviában.

Az általunk végzett vizsgálatoknál mind a vak műtéteknél, mind pedig az átültetések során csak enyhe, maximum 1-2 szeres érték emelkedést tapasztaltunk a CS846 esetében. Mivel kísérletesen indukált synovitis esetében az általunk mért emelkedésnek többszörösét mérték pl. de Grauw és mtsai, ebből arra következtethetünk, hogy az általunk végzett műtéteknél kialakult

átmeneti synovitis enyhébb formában hatott a porc aggregán szintézisére, mint egy mesterségesen indukált synovitis esetében.

Ezt támasztja alá a C1,2C értékek átmenti, de nagyobb mértékű emelkedése az általunk végzett átültetések során 3 nappal a műtéket követően. A 14. napra a C1,2C értékek visszatértek a műtétek előtt mért szintre mind a vak, mind pedig a transzplantált eseteinknél egyaránt.

A mozaikplasztika műtéket követően megemelkedett, porc specifikus CS846 epitóp szint a porcban történő aggregán szintézis kismértékű átmeneti növekedését eredményezte. A vak műtéteknél tapasztalt hasonló emelkedés azt támasztja alá, hogy az ízületet ért sebészi inzultus önmagában hasonló átmeneti változást okoz a porc aggregán metabolizmusában, mint a transzplantált ízületek esetében.

A C1,2C neoepitóp értékek az ízületi porc II. típusú kollagén rostjainak lebontásakor, valamint az ízületi folyadékban, ízületi tokban, ill. a szalagokban található kollagén I. típusú rostok lebontásakor is megemelkednek (Billinghurst és mtsai 1997, Celeste és mtsai 2005).

Összefoglalva az általunk vizsgált biomarkerek nem specifikusak az általunk végzett osteochondralis beavatkozásokkal kapcsolatban, viszont mindenképp korai és érzékeny értékmérői az ízületen belül folyó átépüléseknek illetve degeneratív folyamatoknak.

Köszönöm, hogy opponensem felhívta a figyelmemet két elírásra a dolgozatban. Az 56. és a 69. oldalon szereplő 15 beültetés száma helyesen 14. A kilenc ló 18 térdízületéből 14 esetben végeztünk beültetéseket a mediális femur condylusba, a maradék négy ízület vakműtétként került megnyitásra. A recipiens mediális femorotibialis ízületek esetében az artrotómiát valamint ízület öblítést végeztünk majd zártuk az ízületet, a donor vak műtétek esetében az artroszkópos optikával, valamint a csontvészővel hatoltunk be a femoropatellaris ízületbe a megfelelő portálokon keresztül.

Kérdés: *Hosszú távon milyen biomechanikai ellenállással bírhatnak a beültetett graftok körüli interface területek, ha a graft és a környéki porc nem nőtt teljesen össze egymással lovon?*

Válasz: Teljesen egyetértek bírálómmal, az interface területek jelentik a legérzékenyebb pontját az átültetéseknek ló esetében. Ez indokolta azt, hogy egészséges környéki porc esetén igyekeztem minél több porcot megtartani a fűrt csatornáknak peremszélén. Ezek a területek optimálistól történő nagyobb eltérése mindenképp kiinduló pontját jelentheti a későbbi degeneratív ízületi elváltozásoknak. Kísérleteinkben egy éves utánkövetést végeztünk, ahol nem tapasztaltunk ilyen degeneratív elváltozásokat az előbb említett interface területeken, de ebből a rövid-közép távú utánkövetésből nem vonhatunk le messzemenő következtetéseket. Klinikai eseteink kapcsán nem vettünk biopsziákat, de a kevés utánkövethető esettel kapcsolatban elmondhatjuk, hogy egyik-másik már 10-15 éves teljes sport pályafutását leélte anélkül, hogy ismét jelentkeztek volna nála klinikai tünetek. Ezen néhány eset alapján azt tudjuk mondani, hogy a ló esetében hosszú távúnak mondható 5-15 éves pályafutások ideje alatt a transzplantációk nem generáltak degeneratív elfajulást. Mindenképp nagyobb számú eset hosszú távú utánkövetésére van szükség ahhoz, hogy tudományosan megalapozott választ adhassunk erre a kérdésre.

Kérdés: *Hány esetben végeztünk ortopédiai ultrahang vizsgálatot a 20 klinikai esettel kapcsolatban, és mennyire váltható ki a röntgen vizsgálat az ultrahang segítségével?*

Válasz: A 20 klinikai eset kapcsán hat esetben végeztünk ultrahang vizsgálatot. Mind a hat lónál mediális femur condylus ciszta volt az elváltozás. A 12 MHz-es lineáris fej segítségével jól megjeleníthető a subchondralis csont defektusának nagysága a ciszta beszájadásánál, valamint az ízületi porc vastagsága. Nem kapunk viszont információt a ciszta kiterjedésével kapcsolatban. Az ultrahang nagy segítséget nyújt viszont egyéb ízületi elváltozások, mint például meniscus vagy kollaterális szalag sérülések, illetve periartikuláris osteophyta képződés diagnosztizálásában. Mivel a ciszta nagyságának meghatározása igen fontos része a műtét előtti tervezésnek, az ultrahang nem tudja kiváltani a radiológiai vizsgálatokat, de azoknak igen jó kiegészítő eleme.

Kérdés: *Milyen esély van a csánk ízület mozaikplasztika eljárással történő gyógykezelésére kis kiterjedésű elváltozás esetén?*

Válasz: Saját esetekről nem tudok beszámolni ezen a téren, de Janicek és mtsai 2010-ben publikálták az első csánk ízületben végzett autológ osteochondralis transzplantációt lovon, mely munkát röviden említék doktori értekezésem 2.2.2.5. fejezetében a 33. oldalon. Ennél az esetről a mediális talus trochlea proximális teherviselő felszínére ültettek át három darab 6 mm átmérőjű osteochondralis graftot, melyeket a laterális talus trochlea külső felszínéről nyertek, egy reining western lovaglásban versenyző quarter ló esetében. A műtét előtt 4/5 fokú sántaságot mutató ló 10 hónappal a műtét után visszatért az aktív versenyzésbe, amit két évvel a műtétet követően is aktívan folytatott. Ezen leírás alapján a mozaikplasztika műtéti eljárás jó eséllyel kiterjeszthető a csánk ízület teherviselő felszín sérüléseinek gyógykezelésére.

Kérdés: *Mennyire terjedt el ez a műtéti eljárás Magyarországon, ill. Európában ló esetében?*

Válasz: A műtétet, annak lehetőségét és korlátait Magyarországon jól ismerik a lóval foglalkozó állatorvosok. Nehézség, hogy egy térdízületi elváltozást gyakran már túl későn diagnosztizálnak az állatorvosok lovak esetében. Ennek oka a kinti körülmények adta lehetőségek, behatárolt diagnosztikai eljárások, valamint annak gyakori hiánya, hogy az első jelekre hozzá értő állatorvoshoz forduljanak a tulajdonosok. Ezt mutatja a disszertációmban szereplő több olyan ló, amely igen súlyos fokú elváltozásokkal került csak diagnosztizálásra. Másik szempont, hogy adott esetben évek telnek el a konzervatív kezeléssel, mire a műtéti lehetőséggel megkeresnek bennünket a tulajdonosok, ill. beteget referáló állatorvosok. Ennek ellenére azt mondhatjuk, hogy a mozaikplasztika műtéti eljárás iránti bizalom a sikeres esetek következtében megvan a magyarországi állatorvosokban.

Ez az ízfelszín transzplantációs műtét Európában is ismert lósebész specialista körökben. Jőmagam Svájcban, Belgiumban valamint Kanadában műtöttem felkérésre lovakat ezzel az eljárással.

A Cornell Egyetem és a Coloradói Egyetem munkatársai (Alan Nixon, W. McIlwraith, D. Frisbie stb.) vezető pozíciót foglalnak el lovak ízületi porc rekonstrukciós kutatásaiban. A kutatási irány elsősorban az őssejtek és az autológ chondrocyta implantáció, valamint különböző növekedési faktorok kombinációjának irányába tolódott el. Annak ellenére, hogy jelenleg nem sikerült átütő eredményt elérni ezekkel az eljárásokkal ló esetében, a mozaikplasztika, nehéz technikai kivitelezése miatt nem terjedt el széles körben szerte a világon. Ennek elsődleges okát abban látom, hogy a humán gyakorlatban használt műszerek gyakran nem alkalmasak minden tekintetben a műtét sikeres kivitelezésére lovon.

Nagyon remélem, hogy a közeljövőben sikerül a Metrimed Műszergyártó cég fejlesztőivel közös együttműködésben kialakítanunk egy olyan lóra adaptált műtéti szettet, ami nagyban hozzájárulhat a mozaikplasztika szélesebb körben történő elterjedéséhez lovon.

Végezetül szeretném megköszönni Poór Gyula professzor úr értékes lektori munkáját, bírálatát és munkámat értékelő szavait. Bízom benne, hogy válaszaimat elfogadja és munkámat továbbra is támogatni tudja.

Szakirodalom

R. C. Billingham, R.C., Brama, P.A.J., van Weeren, P.R., Knowlton, M.S., McIlwraith, C.W. (2003): Significant exercise-related changes in the serum levels of two biomarkers of collagen metabolism in young horses. *OsteoArthritis and Cartilage*. **11**, 760–769.

Billinghurst, R. C., Dahlberg, L., Ionescu, M., Reiner, A., Bourne, R., Rorabeck, C., Mitchell, P., Hambor, J., Diekmann, O., Tschesche, H., Chen, J., Van Wart, H. and Poole, A. R. (1997): Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage. *J. Clin. Invest.* **99**, 1534–1535.

Celeste, C., Ionescu, M., Robin, P. A. and Laverty, S. (2005): Repeated intraarticular injections of triamcinolone acetonide alter cartilage matrix metabolism measured by biomarkers in synovial fluid. *J. Orthop. Res.* **23**, 602–610

Frisbie, D.D. (2012): *Synovial Joint Biology and Pathobiology*. in: Auer and Stick: *Equine Surgery*. 4th Ed. Elsevier Saunders

Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, Evans CH, McIlwraith CW. (2002): Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther.* **9**, 12–20.

Frisbie, D.D., Trotter, G.W., Powers, B.E., Rodkey, W.G., Steadman, J.R., Howard, R.D., Park, R.D., McIlwraith, C.W. (1999): Arthroscopic Subchondral Bone Plate Microfracture Technique Augments Healing of Large Chondral Defects in the Radial Carpal Bone and Medial Femoral Condyle of Horses. *Vet. Surg.* **28**, 242-255.

Gineyts, E., Mo, J.A., Ko, A., Henriksen, D.B., Curtis, S.P., Gertz, B.J., Garnero, P. Delmas, P.D. (2004): Effects of ibuprofen on molecular markers of cartilage. and synovium turnover in patients with knee osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **63**, 857-861.

de Grauw, J.C., van de Lest, C.H., Brama, P.A.J., van Weeren, R. (2009a): In vivo effects of meloxicam on inflammatory mediators, MMP activity and cartilage biomarkers in equine joints with acute synovitis. *Equine Vet. J.* **41**, 693-699.

de Grauw, J.C., van de Lest, C.H., van Weeren, R. (2009b): Inflammatory mediators and cartilage biomarkers in synovial fluid after a single inflammatory insult: A longitudinal experimental study. *Arthritis Res. Ther.* **11**, R35. doi: 10.1186/ar2640.

Kamm, J.L., Nixon, A.J., Witte, T.H. (2010): Cytokine and catabolic enzyme expression in synovium, synovial fluid and articular cartilage of naturally osteoarthritic equine carpi. *Equine Vet. J.* **42**, 693–699.

McIlwraith, C.W. (1996): General pathobiology of the joint and response to joint injury. In: *Joint Disease in the Horse*, Eds: C.W. McIlwraith and G.W. Trotter, W.B. Saunders, Philadelphia. pp 40-70.

Palmer, J.L. and Bertone, A.L. (1994): Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. *Equine vet. J.* **26**, 263-277.

von Rechenberg, B., Guenther, H., McIlwraith, C.W., Leutenegger, C., Frisbie, D.D., Margarete, K.A., Auer, J.A. (2000): Fibrous tissue of subchondral cystic lesions in horses produce local mediators and neutral metalloproteinases and cause bone resorption in vitro. *Vet. Surg.* **29**, 420-429.

Sutton, S., Clutterbuck, A., Harris, P., Gent, T., Freeman, S., Foster, N., Barrett-Jolley, R. Mobasheri, A. (2009): The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis. *Vet. J.* **179**, 10-24.

Budapest, 2018. április 22.

Aláírás:

.....
Dr Bodó Gábor

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACI	-	Autológ Chondrocyta Implantáció
BMAC	-	Bone Marrow Apsirate Concentrate
BMP	-	Bone Morphogenic Protein
BMSCs	-	Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells
CS846	-	Chondroitin Sulphate 846 epitóp
C12C	-	C12C neoepitóp
ECM	-	Extracellularis Matrix
FP	-	FP
FT	-	Femorotibiális
GAG	-	Glükózaminoglikán
ICRS	-	International Cartilage Repair Society
im.	-	intramuscularis
iv.	-	intravénás
MACI	-	Matrix-induced Autologous Chondrocyte Implantation
McIII.	-	Metacarpus III.
MFC	-	Medialis Femur Condylus
MFT	-	Mediális Femorotibiális ízület
MFT _r	-	Mediális Femur Trochlea
MSCs	-	Mesenchymal Stem Cells
MtIII.	-	Metatarsus III.
NSAID	-	Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug
OATS	-	Osteochondral Autograft Transfer System
OC	-	Osteochondrosis
OCD	-	Osteochondritis Dissecans
OARSI	-	Osteoarthritis Research Society International
PDGF	-	Platelet-derived Growth Factor
PDS	-	Polydioxanon
SBC	-	Subchondral Bone Cyst
TGF-β	-	Transforming Growth Factor-β