

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Kovács Ágnes Éva

**AKTUÁLIS MECHANO-BIOLÓGIAI KÉRDÉSEK A MOZGÁSSZERVI
SEBÉSZETBEN**

**DEBRECENI EGYETEM
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA
DEBRECEN, 2024**

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**AKTUÁLIS MECHANO-BIOLÓGIAI KÉRDÉSEK A MOZGÁSSZERVI
SEBÉSZETBEN**

Kovács Ágnes Éva

Témavezető: Dr. Manó Sándor



**DEBRECENI EGYETEM
KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA
DEBRECEN, 2024**

TARTALOMJEGYZÉK

Tartalomjegyzék.....	3
Rövidítések jegyzéke	5
1. Bevezetés.....	6
2. Irodalmi áttekintés	8
2.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	8
2.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	13
2.2.1. Titán és ötvözetek	19
3. Célkitűzések	27
3.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	27
3.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	27
4. Anyagok és módszerek	29
4.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	29
4.1.1. A relatív kenőképesség mérése	29
4.1.2. A kenőanyagoknak az implantátumok stabilitására kifejtett hatásának mérése	32
4.1.3. Statisztikai analízis	33
4.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	33
4.2.1. Etikai engedély	33
4.2.2. Az implantátumok tervezése és előállítása.....	34
4.2.3. A modellállat kiválasztása, állatkísérlet.....	36
4.2.3.1. A műtési terület kijelölése, implantátumok rendszerezése	38
4.2.3.2. Műtési technika	39
4.2.3.3. Terminálás	40
4.2.4. Mechanikai vizsgálat.....	42
4.2.5. Szövettani elemzés.....	43
4.2.5.1. A metszetek feldolgozása	43
4.2.6. Manuális képfeldolgozás	44
4.2.7. Hisztomorfológiai vizsgálat.....	46
4.2.8. Statisztikai analízis	46
5. Eredmények	48
5.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	48
5.1.1. A relatív kenőképesség meghatározása	48
5.1.2. Stabilitási mérések.....	49
5.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	51
5.2.1. A műtési terület kijelölése.....	51

5.2.2. Műtéti technika.....	51
5.2.3. A műtéthez készült egyedi célzó	53
5.2.4. Szövettani elemzés.....	54
5.2.5. Képfeldolgozó algoritmus	54
5.2.6. Mechanikai vizsgálat eredményei	57
5.2.7. A képfeldolgozó algoritmus és a manuális berajzolás eredményeinek összehasonlítása – a csontbenövés mértékének meghatározása.....	58
5.2.8. A hisztomorfológiai vizsgálat eredményei.....	59
5.2.9. A csontbeépülés mértékének hatékonysága – a rácsstípus és a beültetés után eltelt idő függvényében	59
6. Megbeszélés	62
6.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	62
6.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	64
7. Új eredményeim	67
7.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata	67
7.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata.....	67
8. Összefoglalás	68
9. Summary	70
Köszönetnyilvánítás.....	72
Irodalomjegyzék.....	74
Az értekezés alapjául szolgáló és a további közlemények.....	88
Tárgyszavak	91
Függelék	92

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AM	Additive Manufacturing (additív gyártástechnológia)
AO	Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (Oszteosztézissel kapcsolatos kérdésekkel foglalkozó munkacsoport)
ASTM	American Society for Testing and Materials (Amerikai Anyagvizsgáló Társaság)
AUV	ad usum veterinarium (állatgyógyászati célra)
CAD	Computer-Aided Design (számítógéppel segített tervezés)
DMLS	Direct Metal Laser Sintering (Direkt fém lézerszinterezés)
DNS	Dezoxiribonukleinsav
EDTA	Etilén-Diamin-Tetraecetsav
FDM	Fused Deposition Modeling (szálolvasztásos modellezés)
HE	Hematoxin-Eozin
im.	injectio intramuscularis (befecskendezés az izomba)
inj.	injectio (injekció)
iv.	intra venam (vénába adott)
LPBF	Laser Powder Bed Fusion (lézeres porágy fúzió)
p	szignifikanciaszint
PMMA	Poly(methyl methacrylate) (poli(metil-metakrilát))
PVA	Poly(Vinyl-Alcohol) (poli(vinil-alkohol))
SBF	Simulated Body Fluid (szimulált testfolyadék)
SLM	Selective Laser Melting (szelektív lézeres olvasztás)
Ti6Al4V	Titanium-Aluminum-Vanadium (titán-alumínium-vanádium)
UHMWPE	Ultra-High Molecular Weight Polyethylene (ultranagy molekulatömegű polietilén)

1. BEVEZETÉS

Az orvosi gyakorlat számos betegség esetén igényli a szervezet szöveteinek, szerveinek pótlását. Ennek folytán az élő környezetben elhelyezett fémek hatásának feltárása számos kutatót megihletett, köztük minket is. A csontegyesítési megoldások értékelése során merültek fel mechano-biológiai kérdések, melyek felkeltették érdeklődésünket.

Disszertációm – mely az „Aktuális mechano-biológiai kérdések a mozgásszervi sebészetben” címet viseli – két részre osztható fel, melyek közös pontja az élő környezetben elhelyezett fémek hatásának elemzése.

A dolgozat első felében az általunk tervezett gerinccsavarokat érintő biotribológiai vizsgálatoktól számolok be. A hátsó feltárásból behelyezett gerincimplantátumok kapcsán *in vitro* vizsgálatokat terveztünk, melyek során arra kerestük a választ, hogy melyik az az ipari kenőanyag, amely tribológiai szempontból a leginkább hasonlít a műtéti területen előforduló biológiai anyagok viselkedéséhez. Egy ilyen anyag használata egységesíthetné, és a valóságoshoz közelíthetné az *in vitro* mechanikai tesztek módszereit.

A mérések során a következő kérdésekre kerestük a válaszokat:

- A valós, élő környezetben előforduló biológiai anyagok jelenléte mennyiben befolyásolja az egyébként száraz körülmények között vizsgált csavar-rúd összeköttetéseket?
- Az élő szervezetben megtalálható súrlódáscsökkentő anyagok mely ipari kenőanyagokkal helyettesíthetők?

A kutatás másik témája a 3D nyomtatóval előállított, különböző alakú lokális rácsszerkezetek alkalmazásának értékelése titán egyedi implantátumok előállí-

tása kapcsán, amely alapja lehet annak, hogy a jelenleginél lényesen idő- és költséghatékonyabb módszerekkel, Additive Manufacturing (AM) technológiával állítsunk elő olyan implantátumokat, melyek az emberi szervezet számára magasabb fokú biofunktionalitást jelentenek, gyorsabb gyógyulás és jelentősen hosszabb élettartam mellett.

Az értekezés második részében az általunk tervezett és 3D nyomtatással előállított rácsos szerkezetű implantátumok biológiai, csontos környezetben való viselkedésének vizsgálatát mutatom be. Az alábbi fő kérdésre kerestük a választ:

- Hogyan befolyásolja csontos környezetben a fémből készült implantátumok rácsos szerkezetének geometriája a csontbenövési hajlamot?

A dolgozatban szereplő orvosi kifejezéseket a Brencsán Orvosi szótár szerint használtam és tüntettem fel (1).

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

A *biotribológia* szót először D. Dowson használta és határozta meg 1970-ben a következőképpen "*a tribológia azon aspektusa, amely biológiai rendszerekkel kapcsolatos*" (2). A biorendszerek súrlódásával, kopásával és kenésével kapcsolatban azonban már jóval a biotribológia fogalmának bevezetése előtt számoltak be vizsgálatokról, bár maga a téma a mai napig a kevésbé feltárt kutatási területek közé tartozik. A biotribológián belül az ízületek tribológiáját tekintve az emberi mozgásszervrendszerből adódó problémákat vesszük szemügyre, melynek egyik legfontosabb funkciója a mozgásképeség, ami közvetlenül befolyásolja az életminőséget. A mozgásszervrendszer egyik legfontosabb összetevője a synovialis ízület, ilyen a csípő és a térd. Ezek az ízületek mérnöki szempontból csukló-szerű szerkezeteknek feleltethetők meg; az emberi testben egy életen át működnek, miközben jelentős dinamikus terhelést továbbítanak és a mozgások széles skálájának végrehajtására képesek. Az ízület súlyos kopása szükségessé teszi, hogy azokat mesterségesen előállított endoprotézissel helyettesítsék (3). A tribológiai elvek fontos szerepet játszanak az emberi szervezet ízületeinek működésének és funkcióvesztésének megértésében, valamint annak kiderítésében is, hogy hogyan lehet a mesterséges ízületeket a lehető legmegfelelőbben megtervezni.

A synovialis ízületek tribológiai vizsgálatait általában a súrlódás, kopás, kenhetőség szempontjából végzik, különös tekintettel az ízületi rendszer biológiai természetének figyelembevételével. Az ízületek kiváló példái a tribológiai rendszereknek. A csuklószerű felületek az ízületi porc megfelelői, míg a kenőanyag a synovialis folyadék. Az ízületi porcok általában kétfázisúak; szilárd (pl. kollagénszálakban és proteoglikánban gazdag alapanyagból) és folyékony fázisból állnak. Ez az egyedülálló kétfázisú tulajdonság fontos tényező a kenési mechanizmusok szempontjából az ízületben.

Súrlódási, kenési és kopási vizsgálatok esetén a mesterséges ízületekkel kapcsolatban fontos a teljesítmény optimalizálása a klinikai eredmények és a funkcionalitás javításának érdekében. Jelenleg a mesterséges ízületekkel kapcsolatos fő klinikai probléma a protézisek meglazulása, amely főként a kopás okozta káros biológiai reakciók következménye. A protézis egymáson mozgó felszínei között súrlódás jelentkezik. A súrlódás következtében a felszínről kopási termékek válnak le, ún. partikulumok. A levált partikulumok hatására a szervezet immunreakciója következtében a polietilén darabok csont felszívódást indítanak, amely végül a protézis kilazulásához vezethet. A hagyományos polietilén-fém kombináció mellett ezért terjedtek el a kevesebb kopási terméket produkáló kerámia-kerámia, kerámia-polietilén kombinációk (4).

A korrózió következtében fémionok szabadulhatnak fel. Mindezek kedvezőtlen biológiai reakciókat eredményezhetnek, amelyek potenciálisan csontvesztéshez, csonttritkuláshoz és pszeudotumorhoz is vezethetnek. Ezen tények ismeretében fontos, hogy a tribológiai kutatásokat összekapcsolják a mesterséges ízületekkel kapcsolatos biológiai és klinikai vizsgálatokkal (5).

Az élő szervezetbe ültetett implantátumok mechanikai szempontból négy fő csoportra oszthatóak:

1. mozgó szerkezetek (ízületi protézisek) megfelelően kialakított csúszófel-színekkel
2. önálló implantátumok (csavarok, cerclage-ok stb.)
3. kombinált szerkezetek, montázsok, melyek dominálónan nyíróerőket gyakorolnak egymásra (lemezes-csavaros osteosynthesisek, elrekesztelt velőűrsze-gek)
4. egymás mentén nem kívánatos elcsúszásra képes implantátumok, ahol az elmozdulás kivédésére különböző szorító vagy csavaros mechanizmusok létez-nek (bizonyos gerincimplantátumok).

Az első csoportban a megfelelő kenés a kívánatos, a második és harmadik csoportban gyakorlatilag ez indifferens, a negyedik csoportban – a hátsó feltárásból alkalmazott rudas gerincstabilizáló rendszerek esetében – mindez kifejezetten hátrányos.

A szerelt, hátsó feltárásból behelyezett, hosszú rudakhoz rögzített csavarokkal és horgokkal működő gerincimplantátumok *in vitro* mechanikai vizsgálataira vonatkozólag az American Society for Testing and Materials (ASTM) meglepő módon nem ad határozott iránymutatást:

‘12.5 In developing this test method, significant debate revolved around the question of whether to test in saline, in a simulated body fluid, or in air. Because it was impossible to define a fluid that exactly simulates the in vivo environment and because implants must be compared to one another until performance standards are defined, the test environment is left to the individual investigator.’ (6)

A kerámia csípőprotézisek kenését vizsgáló valamennyi korábbi tanulmány feltetelezte, hogy az érintkező terület megfelelő mennyiségű synovialis folyadékkal van ellátva. Ez nem mindig igaz, mivel több tényező befolyásolja a protézis érintkezési területére jutó synovialis folyadék mennyiségét, pl. a synovialis folyadék mennyisége egyénenként nagymértékben, 0,7 és 11,6 ml között változik (7). Tehát lehetséges, hogy a rendelkezésre álló synovialis folyadék mennyisége önmagában nem elegendő a folyadékfilm felépítéséhez. Meng és munkatársai a kerámia csípőprotézisekre vonatkoztatott kenési modellt mutattak be. Az eredmények a fentieket megerősítendő azt mutatták, hogy a kerámia anyagú protézisek folyadékfilmjének vastagságát befolyásolták a folyadékellátás körülményei (8).

Yarimitsu és munkatársai szerint a magas víztartalmú poli(vinil-alkohol) (PVA) hidrogélek a szintetikus porcok előállításának potenciális alapanyagai. Kutatásuk során a különféle módszerekkel előállított hidrogélek kopással és súrlódással kapcsolatos viselkedését tanulmányozták. A súrlódási vizsgálathoz ultra

tiszta vizet és szimulált ízületi folyadékot használtak kenőanyagként. A tesztelt anyagok közül a PVA hibrid gél kiemelkedett, esetében az ultra tiszta víz kenőanyagként való alkalmazása alacsony súrlódási tényezőt eredményezett, felületi szerkezete a súrlódási vizsgálat után is érintetlen maradt. A szimulált synovialis folyadék hozzájárult az összes PVA hidrogél kenési tulajdonságának javulásához; a PVA hibrid hidrogél mutatta a legalacsonyabb súrlódási együtthatót és egyben minimális mértékű kopást. Ezek az eredmények azt jelezték, hogy a PVA hibrid hidrogél nagy potenciállal rendelkezik a mesterséges ízület anyagaként való további fejlesztésben és alkalmazásban (9).

Sapawe és munkatársai a pálmaolajos kenésnek a protézis fej és a vápa közötti teljesítményének tisztázását tűzték ki célul. A csípőimplantátumok tribológiájában a pálmaolajnak az emberi ízületek természetes kenőanyagaként való felhasználása óriási potenciált mutat, a pálmaolaj jelentős értéket képvisel alternatív biokenőanyagként. Kutatásaik eredményeképpen kimutatták, hogy a pálmaolaj fizikai és egyedi kémiai tulajdonságai optimalizálhatják a súrlódás és kopás mértékét a fém acetabularis csészén, így egy stabil implantátumot eredményeznek (10).

Rahman és kutatócsoportja a vízalapú kenőanyagokat vizsgálta. Közleményükben a viszkozitást, sűrűséget, nedvesíthetőséget és oldhatóságot tárgyalják annak megállapítása érdekében, hogy a kőolajalapú kenőanyagokkal összehasonlítva a vízalapú nanokenőanyagok felhasználhatók-e a súrlódás és a kopás csökkentésére. A vízalapú kenőanyagok a fém alapú rendszerek esetében (pl. protézisek) gyakran gyenge teljesítményt mutatnak a kőolajalapú kenőanyagokhoz képest. A kutatások azt mutatják, hogy a nano adalékok javítják a víz kenési tulajdonságait. A kenőanyag atomszerkezete a felhasznált adalékanyag típusa alapján változik: az ionos folyadékok, a bioadalékok, a titánalapú nano-adalék, a vízzoldható olajalapú szulfonát, a grafén alapú nanorészecskék és a nanoszerkezetű borítók mind olyan potenciális adalékanyagok, amelyek a vízalapú folyé-

kony kenőanyagokhoz használhatók a kenőanyag viselkedésének és tulajdonságainak javítása érdekében. Ezek az adalékok azon felül, hogy javítják a tribológiai tulajdonságokat, segítenek a súrlódás, a kopás és a korrózió csökkentésében. A vízalapú folyékony kenőanyagok környezetvédelmi előnyökkel is rendelkeznek a kőolajalapúakkal szemben (11).

Munkánk során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a szerelt, hátsó feltárásból behelyezett, hosszú rudakhoz rögzített csavarokkal és horgokkal működő gerincimplantátumok mechanikai tesztelésénél miképpen lehetne standardizált módon, mindenki által könnyen reprodukálhatóan, és a jelenlegi szabályozásnál határozottabb, a valóságot jobban modellező körülményeket teremteni a preklinikai laboratóriumi tesztelések során.

A kopást alapvetően a kenőfilm és az anyagtulajdonságok határozzák meg. Ezért fontos megérteni a kenőanyag viselkedését a teljes járási ciklus során, beleértve a kenőanyag mennyiségét és eloszlását a terhelt-érintkezési zónában. A mesterséges ízületek a működés során különböző terhelési és kinematikai körülményeknek vannak kitéve. A kinematika összetett, mivel a terhelés, a csúszási sebesség és a csúszás iránya mind változik a cikluson belül. A járási ciklus során működő kenési mechanizmus azonosítása a legmegbízhatóbb alapot nyújtja a kopás előrejelzéséhez, és biztosítja az implantátum- és anyagfejlesztés optimalizálásához szükséges ismereteket (12).

Az emberi vér természetes kenőanyagunk, kenési tulajdonsága nem csak a makrorheológiai tulajdonságaival kapcsolatos, hanem szorosan kapcsolódik a hemociták rheológiai tulajdonságaival is, továbbá a deformálhatósággal, az aggregációs viselkedéssel, a hemolízissel, a vér adhéziós tulajdonságával és további tényezőkkel (13).

A vért, mint kenőanyagot mechanikai szempontból homogén, folyékony kenőanyagnak tekintjük. Orvosi szempontból a vér egyfajta életjelekkel rendelkező

anyag, kenőanyagként való felhasználásakor annak élettani mutatói nem sérülhetnek, ezért a vér kenési mutatóinak meghatározásakor teljes mértékben figyelembe kell venni a súrlódás és a kenés károsító hatását a vér összetevőire. Jelenleg a vér súrlódási és kenési tulajdonságának vizsgálata még mindig feltáró szakaszban van (14).

2.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata

Az elmúlt évtizedekben az emberek átlagéletkora világszerte gyorsan emelkedett. A népesség előregedésével a teljes ízületi csere indikációinak száma folyamatosan növekszik (15, 16). 2017-ben az ortopédiai beavatkozások száma világszerte megközelítőleg 22.3 millió volt, ami az egyik leggyorsabban növekvő sebészeti beavatkozás-kategóriává teszi ezt a területet (17). Csak az Egyesült Államokban évente több mint 77,5 millió ortopédiai implantációt hajtanak végre (pl. ízületi, csípő, gerinc régió). 2018-ban az ortopédiai implantátumok piacát 46.5 milliárd USA dollárra becsülték (18). Az ortopédiai implantátumok globális piaca az előrejelzések szerint 2030-ra eléri a 79,5 milliárd USA dollárt (19).

Az ortopédiai implantátumok iránti növekvő kereslet különböző területekről érkező szakembereket vonz, hogy tudásukat a legmegfelelőbb implantátumanyagok kifejlesztésére használják (15). Bár különböző anyagokat, például kerámiákat, fémeket és polimereket vezettek be az ipari kereslet kielégítésére, az orvosi biológiai ágazat a fémek és ötvözeik elfogadását jelölte meg az orvosi implantátum-alkalmazásokra (20). Az ortopédiai implantátumok közé tartoznak a különböző ízületi protézisek (csípő, térd, váll, könyök) és a csontegyesítő anyagok (drótok, csapok, csavarok, lemezek). Az ortopédiai implantátumokhoz különböző bioanyagokat terveztek. Az alkalmazott fémek a titánötvözetek (pl. Ti6Al4V), a kobaltötvözetek (pl. CoCrMo) és a rozsdamentes acél. Használják

továbbá polimereket: poli(metil-metakrilát) (PMMA), ultranagy molekulatömegű polietilén (UHMWPE) és kerámiákat (alumínium-dioxid, cirkónium-dioxid és hidroxipatit) (21).

Ahogy az ortopédiai sebészeti kezelések területe és köre bővült, úgy fejlődött az ezekhez a kezelésekhez használt bioanyagok fejlesztése is (22). Az emberi szervezetbe beültetett különböző típusú fém implantátumok száma így egyre növekszik (23), melyek minőségével szemben támasztott követelmények miatt azok tulajdonságai is jelentős javulást mutatnak (24, 25). Napjainkban az emberi szervezetbe beültetni kívánt anyagoknak a következő követelményeknek kell megfelelnie:

a) Mechanikai követelmények

Az implantátum anyaga ideális esetben a csont rugalmassági modulusával egyenértékű modulussal rendelkezik. A jelenleg használt implantátumanyagok – amelyeknek a csontnál nagyobb a merevsége – megakadályozzák a szükséges feszültség átvitelét a szomszédos csontra, ami az implantátum körüli csontfelszívódáshoz és emiatt az implantátum kilazulásához vezethet. Ezt a csontsejtek pusztulásához vezető biomechanikai inkompatibilitást, *stress shielding* hatásnak nevezik (24, 26-29). Az implantátum kilazulásból eredő revíziós műtétek elkerülése érdekében olyan anyagot kell használni az implantációhoz, amely a nagy szilárdság és a csonthoz közelebbi alacsony modulus megfelelő kombinációjával rendelkezik. Ez a megoldás hosszú távon a csont fiziológiáshoz hasonló terhelését eredményezi, ami miatt a *stress shielding* hatás révén okozott csont resorptio mértéke csökkenthető, ebből pedig az implantátumok hosszabb *in vivo* élettartama következik (22).

b) Biokompatibilitás

A bioanyagok kutatása az orvosi innováció egyik fő mozgatórugója, az alkalmazástól függően *bioaktív*nak, *bioinert*nek vagy *bioadaptív*nek kell lenniük. A *bioaktív* anyagok kölcsönhatásba lépnek a környező biológiai rendszerekkel, például elősegítik a szövetek regenerálódását vagy a specifikus sejtváltozásokat, míg az úgynevezett *bioinert* anyagok minimális kölcsönhatást mutatnak a környező szövetekkel vagy sejtekkel, és nem váltanak ki idegen testre adott reakciót. A *bioadaptív* vagy *biorezisztens* anyagok reagálnak és alkalmazkodnak egy adott biológiai ingerhez/környezethez (30).

A beültetni kívánt anyagnak a szövetekkel való kompatibilitása kritikus fontosságú az implantátum szempontjából. Az implantátumnak nem szabad káros hatást gyakorolnia a szövetekre, nem okozhat gyulladást vagy allergiás reakciót. Az adott bioanyag sikere az emberi szervezetnek az implantátumra adott reakciójától függ (31).

c) Nagyfokú kopásállóság és magas korrózióállóság

A mozgásszervi implantátumok élettartamát elsősorban a súrlódási és a kopási ellenállása határozza meg. Az alacsony kopásállóság az implantátum meglazulását is eredményezheti, a kopási törmelékek számos kedvezőtlen szöveti reakciót okozhatnak (32). A fém csípőprotézisek hosszú élettartamúak és alacsony a ficamok előfordulási aránya is, régebben ezek voltak a standard műtéti kezelések. Ezen protézisek okozta szövődményekről azonban széles körben számoltak be (33). A fémtörmelékkel kapcsolatos kedvezőtlen reakciók, mint például a metallózis, a fémfelület fokozatos degradációjából és a környező szövetekben lerakódó fémionokból erednek. Ezen protézisek eltávolítása után előfordult, hogy "pszeudotumorok" alakultak ki.

Ha alacsony egy implantátum kopás -és korrózióállósága az nem kompatibilis fém ionok szervezetbe jutását eredményezheti. A felszabaduló ionok allergiás és toxikus reakciókat válthatnak ki, ezáltal károsítva az implantátum környezetében lévő szöveteket és csontokat (29).

A teljes arthroplastika esetén a műtét során bekövetkező szennyeződés vagy bakteriális fertőzés következtében a protézis fertőzéséhez is vezethet, ami a protézishez nem kapcsolódó bakteriális fertőzés (34).

A fentiek miatt a magas korrózió- és kopásállóságú implantátumok kifejlesztése elsődleges fontosságú az anyag hosszú élettartama szempontjából.

d) Oszteointegráció

Az implantátum csonthoz való közvetlen kötődése. Ha az implantátum felülete és a környező csontok között a mikromozgások miatt nem tud létrejönni a csontos integráció, az az implantátum kilazulását eredményezheti. Ezért a megfelelő felülettel rendelkező anyagok rendkívül fontosak ahhoz, hogy az implantátum jól integrálódjon a csontba. Az implantátumot alkotó anyag összetétele, a felületi érdesség és a felületi topográfia, adott esetben a rácsos szerkezet mind nagy szerepet játszik a megfelelő mértékű oszteointegráció kialakulásában (35).

e) Hosszú élettartam

Amikor egy implantátumot beültetnek a testbe, az implantátumon különböző ciklikus feszültségek alakulnak ki, ezért nagy fáradási szilárdsággal kell rendelkeznie ahhoz, hogy a testben lévő ismétlődő terheléseket elviselje (20).

A csont egy természetes kompozit, összetett, nem egyenletes szerkezetű, különböző ásványi anyagokból és mátrixanyag-rétegekből épül fel. Körülbelül 90-95%-ban kollagénrostokból áll, amelyek biztosítják a töréseknek való ellenálláshoz szükséges rugalmasságot. A fennmaradó részt egy amorf gélszerű anyag alkotja, amely az extracellularis mátrix összetevőit tartalmazza (20).

A felnőttkori csontszövet rendszeres megújulása szükséges a csont szilárdságának a megtartása érdekében. Ezt az állandó átalakulást a csontfelszívódási és a csontképzési folyamatok összehangolt működése biztosítja, amelynek leglényegesebb sejtjes elemei az osteoclastok, osteocyták és az osteoblastok. A folyamat első lépése, a reszorpció az osteoclastoknak tulajdonítható; a csontfelszín fedősejtrétegének széthúzódása az osteocytákból és az osteoblastokból érkező jelre történik, minek hatására a preosteoclastok, ill. az érett osteoclastok az átépítendő csontfelszínre tudnak emelkedni. A preosteoclastok egyesüléséből többmagvú, fagocitózisra képes óriássejtek keletkeznek, és ezek az érett osteoclastok már elkezdhetik a csontállomány bontását. A többmagvú osteoclast fehérjebontó enzimeket, és az ezek működtetéséhez szükséges alacsony pH biztosítására protonokat bocsájt ki, egy különleges feladatra specializálódott makrofágként működik. Az osteoclast a csont kortikális állományában hosszanti alagutat képez, melyet a későbbiekben az osteoblastok töltenek fel koncentrikus csontlamellákkal (Havers-rendszer, osteon). A szivacsos csontállomány trabekuláin az osteoclast 4-12 nap alatt kb. 40-60 μm mély reszorpciós üreget alakít ki, amelynek a mélyén feltűnnek a kollagénrostok. Tevékenysége befejeztével az osteoclast elhagyja a reszorpciós lacunát. Az osteoclastok távoztával az osteoblastok emelkednek elő, és megkezdik a csontépítő tevékenységüket a csont szerves állományának lerakásával, amely a későbbiekben mineralizálódik. Így kialakul a minőségében megújult, mennyiségében változatlan csontszövet (36, 37).

A csont tömeget nagy mértékben befolyásoló mutációk többsége ugyanazon jelátviteli útvonalhoz, a kanonikus Wnt útvonalhoz kapcsolódik. A Wnt jelátvitel

jól szabályozott, a Wnt ligandok receptor kötődése aktiválja. WNT- β -catenin jelátvitel gátolja a porc- és zsírsejtek differenciálódását a mesenchimális őssejtek-ből. Továbbá az osteoblast progenitor sejteknek szüksége van a kanonikus WNT jelátvitelre a további proliferációhoz és differenciálódáshoz. Az útvonalnak fontos szerepe van az apoptózis gátlásában, az osteoclastok általi csont felszívódás gátlásában, valamint az osteoblast és osteocytá expresszió indukciójában (38).

A teljes ízületi protézisek technikáinak, anyagainak és rögzítésének fejlődése ellenére a kopás és annak következményei továbbra is fő tényezőnek számítanak az ízületi protézisek élettartamának és klinikai sikerének korlátozásában. Amióta az 1960-as évek elején felismerték az aszeptikus lazulás jelenségét, óriási mennyiségű információ gyűlt össze az osteolízis alaptudományáról. A jelátviteli útvonalak területén a közelmúltban végzett és folyamatban lévő vizsgálatok segítik a periprotetikai csontvesztés mechanizmusainak megértését. Bár az állatkísérletek ígéretesek az osteolízis kezelésére és megelőzésére alkalmas farmakológiai szerek kifejlesztése szempontjából, jól kontrollált humán vizsgálatokra is szükség van (39).

Jacobs és munkatársai review közleményükben az osteolízis mögöttes mechanizmusaira vonatkozó elképzeléseket mutattak be. A szövettani, állatkísérletek és sejt kultúra vizsgálatok lehetővé tették, hogy megismerjük az osteolízisben szerepet játszó sejtes kölcsönhatások és kémiai közvetítők összetettségét. A sejtválaszokért és a csontra gyakorolt hatásokért felelős kémiai mediátorokról is szót ejtenek. A kezdeti állatkísérletek ígéretesek az oszteolízis lehetséges farmakológiai kezelése és megelőzése szempontjából, azonban megfogalmazzák, hogy jól kontrollált humán vizsgálatokra van szükség mielőtt az olyan szerek, mint a biszfoszfonátok, általános klinikai alkalmazásra kerülnének (40).

Shanbhag és munkatársai in vitro vizsgálatot végeztek annak meghatározására, hogy a humán perifériás monociták képesek-e modulálni a fibroblasztok proliferációját és a csontreszorpciót. A kereskedelmi forgalomban kapható tiszta titán, titán-alumínium-vanádium és ultranagy molekulatömegű polietilén kopási

törmelék hatását vizsgálták a részecskék összetételének, méretének és dózisának függvényében. A dózisokat a részecskefelület és az átlagos monocita felület arányának standardizálásával szabályozták. Az eredmények alátámasztják azt a hipotézist, hogy in vitro körülmények között a monocitáknak a kopási törmelékkel való provokálása kétfázisú dózisválaszt eredményez. A fémrészecskék esetében a fibrogenézis az 1x-10x felületi arány (a részecskék felülete a sejtek felületéhez viszonyítva) tartományban volt megfigyelhető, bár a fém- és polietilén-részecskék esetében a csontfelszívódás serkentéséhez 10x felületi arányú telített dózisok voltak szükségesek. Ezenkívül a fémrészecskék képesek voltak a fibrogenézist olyan dózisban stimulálni, amelynél a szimulált és a visszanyert polietilén hatástalan volt. Bár az ultranagy molekulásúlyú polietilén kopási törmeléknek lehet egy nem osteolitikus, krónikusan tolerálható éves dózisa, amely körülbelül 1x felületi aránynak felel meg, az alacsonyabb dózisok, különösen a fémtörmelék, reaktív fibroblaszt proliferációt és fibroplasiát eredményezhetnek, ami hozzájárulhat az implantátum kilazulásához (41).

A jelenleg rendelkezésre álló metallurgiai módszerekkel a spongiosus és a corticalis csonttal nagymértékben egyező tulajdonságú porózus fémet lehet létrehozni (42, 43). A legkorszerűbb AM technológiákkal a pótolni kívánt csont anatómiai és funkcionális igényei szerinti bonyolult, komplex architektúrájú és szinte tetszés szerinti porozitású fém állítható elő (43). A rácsszerkezetű fémek 3D nyomtatással való előállíthatósága révén lehetőség nyílt a csont és az implantátum közötti biológiai, csontbenövésen alapuló rögzülés megteremtésére is, egyéb rögzítő anyagok nélkül.

2.2.1. Titán és ötvözetek

Az orvosbiológiai ágazatban a mintegy 40 éve használt titán hatalmas átalakuláson ment keresztül. A kezdetben „csak” kitűnő mechanikai tulajdonságai és biokompatibilitása miatt használt bioinert fémből szerkezeti átalakítások sokasága

után porózus, az emberi csonthoz hasonló mechanikai tulajdonsággal rendelkező bioaktív anyag vált. További fejlesztések eredményeként, kedvező felszíni módosításoknak köszönhetően a csontosodást elősegítő, a fém oszteointegrációjában jelentős szerepet játszó osteokonduktív és osteoinduktív hatással (amennyiben a felület megfelelően kezelve van, pl. osteoblastokkal) bíró titán implantátumot állítottak elő. A csontosodást elősegítő bevonatok megjelenésének következtében ezek a tulajdonságok tovább javultak (44).

A kutatók egyetértenek abban, hogy a jelenleg rendelkezésre álló fémek közül a titán és ötvözetek rendkívül alkalmasak a humán felhasználásra (31, 45-47). A Ti6Al4V ötvözetnek beültethetőség szempontjából kiváló tulajdonságai vannak: kitűnő biokompatibilitás; nagyfokú oszteointegrációs képesség; magas szintű korróziós ellenállás; citotoxicitás és az emberi szervezetre gyakorolt egyéb negatív hatások nélkül. Mindezen pozitív tulajdonságok mellé társul az ötvözéssel és az ipari feldolgozásával kapcsolatos jelentős tapasztalat, a relatíve könnyű elérhetősége, valamint a vele szerzett nagy mennyiségű, tudományosan feldolgozott humán ismeretanyag (22).

Az alapanyag minőségén kívül a pórusok mérete, alakja, típusa, elhelyezkedése is jelentősen befolyásolja az implantátum osteokonduktív hatását. A témával foglalkozó szerzők legintenzívebben a pórusok méretét vizsgálták (31, 43, 48-50).

Ezek alapján a legkedvezőbb pórusméret főbb ismérvei:

- a leggyorsabb és a legnagyobb mértékű csontbenövést teszi lehetővé
- a csont érettsége és a pórusok csont általi kitöltöttsége a lehető legnagyobb mértékű (43, 49, 51-55).

Több kutatócsoport egybehangzó véleménye szerint a pórusnak legalább akkórának, illetve nagyobbnek kell lenni, mint a benövő sejtnek (31, 43, 49). Az osteoblastok beágyazódásához legalább 100 μm -es pórusméret szükséges (31, 49-51, 53, 56).

Frosch és munkatársai az autológ osteoblastokkal bevont porózus titán implantátumok oszteointegrációjának értékelését tűzték ki célul. A 400, 500 és 600 μm átmérőjű furatokat tartalmazó titán implantátumokat spongiosus eredetű autológ osteoblastokkal vontak be. Az implantátumokat nyulak combcsontjába ültették be. A kutatás végeztével a 600 μm -es furat mutatta a legjobb csontszövet beágyazódást, valamint megállapították, hogy az autológ osteoblastokkal történő bevonatolás felgyorsítja és fokozza a titán implantátumok oszteointegrációját (48).

Chang és munkatársai 188-390 μm közötti átlagos pórusméretű és 70%-os porozitással rendelkező titán rácsszerkezetek feltérképezését jelölték ki célul. Tanulmányukban patkány csontvelőből származó mesenchyma eredetű őssejteket használtak a sejtek proliferációjának és differenciálódásának elemzésére, referenciaanyagként tömör titán lemezeket alkalmaztak. A 7., 14. és 21. napon többek között a dezoxiribonukleinsav (DNS) tartalmat, az alkalikus foszfatáz aktivitást, a kollagén szekréciót, a csont morfogenetikus fehérjét és az osteopontin mennyiségét mérték. A kutatás második felében nyulak femur condylus régiójába ültették be a porózus rácsszerkezetű implantátumokat, melynek célja a csontbenövés elemzése volt. Annak ellenére, hogy a 313 μm -es és a 390 μm -es titán implantátumok pórusaiba nem volt teljes csontbenövés a vizsgálat végére – 12 héttel a beültetés után – az összes DNS tartalmuk jelentősen magasabb volt, mint a 188 μm -es pórusátmérővel rendelkezőké (51).

Nouri és munkatársai könyvfejezetükben bemutatják a biomimetikus porózus titán rácsszerkezetek ortopédiai és fogászati alkalmazásait. Röviden ismertették a csont szerkezeti felépítését és mechanikai tulajdonságait az ortopédiai alkalmazásokhoz leginkább illő implantátum tervezhetőségének érdekében. Említést

tesznek a titán és ötvözeinek ortopédiai célú felhasználásával kapcsolatos szakmai körökben való növekvő konszenzusáról. A porózus titánból készült rácsszerkezetek fizikai tulajdonságait, mikroszerkezetét és orvosbiológiai jellemzőit összehasonlították nem porózus társaikkal. Megállapították, hogy az ortopédiai alkalmazások területén a biokompatibilis ötvözőelemekkel, azaz pl. a cirkónium, nióbbium, tantál, molibdén anyagokkal ellátott titán ötvözetek ígéretes jelöltnek számítanak a csontbenövés megvalósulásának szempontjából (49).

Fukuda és munkatársai az interkonnektív pórusméret hatását derítették fel az osteoinduktivitásra és a csontképződési folyamatokra vonatkozólag az osteoindukció során. A szelektív lézeres olvasztás technológiájával (SLM) porózus titán implantátumokat állítottak elő, amelyek 500, 600, 900 és 1200 μm átmérőjű pórusokkal rendelkeztek. Ezeket kémiai és hőkezelésnek vetették alá a bioaktivitás kiváltása érdekében. Eredményeik alapján jelentős csontindukciót figyeltek meg az 500 és 600 μm -es pórusmérettel rendelkező implantátumok esetében (54).

Ran és munkatársai annak megértése érdekében, hogy a Ti6Al4V ötvözetből készült rácsszerkezetek pórusmérete hogyan befolyásolja azok biológiai teljesítményét, porózus, Ti6Al4V implantátumokat terveztek. SLM technológiát alkalmazva az előállításához háromféle pórusméretet vettek alapul, a megközelítőleg 400, 600 és 800 μm -es tartományokat. A Ti6Al4V rácsszerkezetek mechanikai tulajdonságait is értékelték, a csontszövetekéhez hasonló eredményeket kaptak. Szisztematikusan analizálták a pórusméret hatását a biológiai válaszokra *in vitro* és *in vivo* vizsgálatok keretében is. Igazolták, hogy az alkalmazott 3D nyomtatási technika alkalmas olyan porózus Ti6Al4V implantátumok előállítására, amelyek az emberi csontokéval analóg mechanikai tulajdonságokkal rendelkeznek. Az *in vitro* eredmények azt mutatták, hogy a megfelelő pórusmérettel rendelkező rácsszerkezet elősegítette a sejtek adhézióját, proliferációját és korai differenciálódását. A három különféle rácsszerkezettel rendelkező Ti6Al4V implantátumokat nyulak combcsontjába ültették be, a csontregenerációs teljesítményt

vizsgálandó. Az *in vivo* kísérlet eredményei szerint az elemzett másik két csoporthoz képest a kb. 600 μm -es pórusmérettel rendelkező implantátum esetén volt a legkedvezőbb a csontbeépülés és a csont-implantátum rögzülés stabilitása is ebben az esetben volt a legmagasabb fokú (55).

Buj-Corral és társai tanulmányukban egy módszertant mutatnak be a nyomtatandó porózus szerkezetek tervezéséhez. Először egy modellt határoztak meg néhány elméleti párhuzamos síkkal, amelyeket egy geometriai alakzat, például egy korong határol. Minden síkban véletlenszerűen elosztott pontok vannak, a pontokat vonalakkal kötötték össze. Végül a vonalaknak egy bizonyos térfogatot adtak, és megkapták a struktúrát. A szerkezet porozitása három geometriai változótól függ: a párhuzamos rétegek közötti távolságtól, az egyes rétegek oszlopainak számától és az oszlopok sugarától. Megfigyelhető volt, hogy az oszlopok sugarának növekedése a porozitás és a pórusméret átlagának csökkenésével jár. A rétegek közötti magasság csökkenése mind a porozitás, mind a pórusméret átlagának erőteljesebb csökkenéséhez vezet. Ezenkívül a nyomtatott szerkezetekben kerek és hosszúkás pórusokat is megfigyeltek. A jelenlegi módszertan lehetővé teszi a pórusossággal és pórusmérettel szemben támasztott különböző követelményekkel rendelkező szerkezetek tervezését. Ezen túlmenően a módszer vélhetően hasznos lesz az orvosi alkalmazásokban, például a testszövetek szimulációjában vagy a protézisek gyártásában (56).

Taniguchi és munkatársai az állandó porozitású pórusméret hatását térképezték fel az *in vivo* csontbeépülésre vonatkozólag. 300, 600 és 900 μm -es pórusmérettel rendelkező titán implantátumot állítottak elő SLM technológia segítségével, minden esetben 65 %-os porozitással, gyémántrács szerkezettel. A csontbeépülést úgy vizsgálták, hogy mindhárom vizsgált pórusméretből hengeres, porózus titán implantátumokat nyomtattak, majd ezeket ültették be nyulak combcsontjába. Eredményeik tükrében a 600 μm -es pórus mérettel rendelkező implantátumoknak volt a legmegfelelőbb a mechanikai szilárdsága, kimagasló rögzülő képessége és a leggyorsabb csontbeépülési képessége is (57).

Van Bael és munkatársai betekintést szerettek volna nyerni különféle rácsszerkezetek pórusméretének, pórusformájának és permeabilitásának a humán csonthártyából származó sejt kultúrák *in vitro* proliferációjára és differenciálódására gyakorolt hatásába. SLM technológiával hat különböző geometriájú Ti6Al4V rácsszerkezetet állítottak elő három különböző rácsszerkezettel (háromszög, hatszög és téglalap) és két különböző pórusmérettel (500 és 1000 μm). A rácsszerkezeteket optikai mikroszkóppal, mikro-CT képalkotással, mechanikai és *in vitro* teszteléssel elemezték. Az eredmények azt mutatták, hogy az SLM nyomtatási technológia alkalmas a morfológiai és mechanikai tulajdonságok széles skálájával rendelkező Ti6Al4V rácsszerkezetek előállítására. A festési eljárással és pásztázó elektronmikroszkóppal végzett elemzés körkörös sejtnövekedési mintázatot mutatott. A csontbenövés az 500 μm -es, hatszögletű pórusokkal rendelkező rácstípus esetén volt a leghatékonyabb. Továbbá azt találták, hogy a pórusméret jelentősen befolyásolta a humán csonthártyából származó sejt kultúrák növekedését a rácsszerkezeten, míg a differenciálódásuk mind a pórusformától, mind a pórusmérettől függött (58).

Lim és kutatócsoportja három különböző rácsalakot vont kutatásba (octadense, gyroid, dode), a csontképződés különbségeit vizsgálták a pórusok szerkezete és az implantációs időszak szerint. A titán implantátumokat SLM technológiával nyomtatták ki és nyulak combcsontjába ültették be. Az állatok exterminálása a beültetés után 4., 6. és 8. héten történt. A csontképződésben mutatkozó különbségeket radiológiailag és szövettanilag is elemezték. A szerzők által kiemelet 6 hetes megfigyelési időszak alatt az újonnan képződött csont százalékos aránya kb. 25% volt, ezen mennyiségben nem figyeltek meg különbséget ugyanazon a rácsalakon belül az idő előrehaladtával párhuzamosan. Radiológiai és szövettani szempontból a csontképződésben a háromféle póruskialakítás vagy az implantációs időszak szerint nem észleltek különbséget (59).

Sharp és munkatársai az implantátumok korróziójának témakörét járták körbe, mely komoly problémaforrás lehet lokális gyulladások keltő hatása miatt. Ciklikus

potenciodynamikus polarizációs módszerrel értékelték a megnövelt porozitás (60 % és 80 %) és a giroid rácsos szerkezetek csökkentett falvastagságának hatását az Ti6Al4V alapanyagból, Laser Powder Bed Fusion (LPBF) technológiával készült rácsszerkezetek elektrokémiai viselkedésére. Az eredmények azt mutatták, hogy a 60 %-os porozitással rendelkező giroid rácstípusú minták érzékenyebbek voltak a pontkorrózió kialakulására a 80 %-os porozitású giroid rácsszerkezetű és a tömör mintákkal összehasonlítva (60).

Összességében számos tanulmány arra a következtetésre jutott, hogy a csontosodás 500-600 μm pórusátmérőnél a legintenzívebb (1. táblázat).

Előállítási technológia	Műtési terület/ Kísérleti típus	Rácstípus	Kísérleti állatfaj	Pórusméret (μm)	Szerző és hivatkozás
nem szerepel	distalis femur	autológ osteoblastokkal bevont titán implantátumok	nyúl	400–600	Frosch et al. (48)
SLM	dorsalis izmok	csatornás szerkezetű implantátum (4 db négyzet alakú csatornával)	kutya	≥ 500	Fukuda et al. (54)
SLM	<i>in vitro</i> és <i>in vivo</i> (femur)	porózus rácsszerkezet	nyúl	600	Ran et al. (55)
FDM	végelelemes analízis (<i>in vitro</i>)	trabekuláris	nem szerepel	250–500	Buj-Corral et. al. (56)
SLM	metaphysis (tibia)	gyémánt rácsszerkezet	nyúl	600	Taniguchi et al. (57)
SLM	Petri-csésze (<i>in vitro</i>), mechanikai nyomóvizsgálat, számítási áramlási elemzés	háromszögletű, hatszögletű, téglalap alakú	ember (össejtek)	500	Van Bael et al. (58)
SLM	medialis femur	nyolcszögletes, giroid, tizenkészsöges	nyúl	1000	Lim et al. (59)
LPBF	ciklikus potenciodynamikai polarizációs mérés, korrózió utáni elemzés	giroid	nem szerepel	nincs adat, csak porozitás értékek	Sharp et al. (60)

1.táblázat Különböző csontbenövésssel kapcsolatos tanulmányok vizsgálati paraméterei

Amint az a fentiekből következtetésként levonható, a rácsszerkezetek csontbeépüléséről szóló információk többnyire a pórusmérethez kapcsolódnak; kevesebbet tudunk azonban az azonos körülmények között, azonos pórusmérettel vizsgált különböző rácsharmakról. Ennek ismeretében azt a célt tűztük ki, hogy innovatív módszerek alkalmazásával elemezzük a különböző rácsharmak csontbeépülésre gyakorolt hatását, annak érdekében, hogy megtaláljuk a Ti6Al4V implantátumok biológiai rögzüléséhez legalkalmasabb rácsharmak geometriát.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásomat a következő célok elérésének reményében terveztem és valósítottam meg:

3.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

- a) Olyan könnyen hozzáférhető (ipari) kenőanyagok megtalálása, amelyek hasonló tribológiai viselkedést mutatnak, mint egy csontsebészeti műtét során előforduló humán anyagok.
- b) Annak feltárása, hogy a valós, élő környezetben előforduló biológiai anyagok jelenléte mennyiben befolyásolja a vonatkozó szabványok alapján száraz, vagy fiziológiás sóoldatos körülmények között vizsgálandó implantátumkomponens- összeköttetéseket.
 - Vizsgálat tervezése, statisztikai tervezés
 - Mérések végrehajtása
 - Eredmények összegzése
 - Javaslattétel szabvány módosításhoz
 - Javaslattétel a gerincimplantátum rögzítőcsavar meghúzási nyomatékára vonatkozóan

3.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata

- a) Hat különböző trabecularis szerkezettel rendelkező próbatest tervezése és nyomtatása Ti6Al4V alapanyagból.
- b) Csontbenövés mértékének meghatározása szövettani feldolgozással és képfeldolgozó algoritmus alkalmazásával az egyes rács típusú implantátumok esetében.

- Vizsgálat tervezése, statisztikai tervezés
- Állatkísérlet kidolgozása, szükséges engedélyek beszerzése
- Állatkísérleti műtétek végrehajtása, nyomon követés, exterminálás, minta gyűjtés és tárolás
- Szövetteni és mechanikai vizsgálatok elvégzése, képalkotó és képfeldolgozó elemzés
- Eredmények összegzése

Bizonyos esetekben az általam kivitelezni tervezett célok megvalósításához módszertani fejlesztések elvégzése volt indokolt. Ezen fejlesztéseket a kapcsolódó munkafolyamatok részének tekintettem.

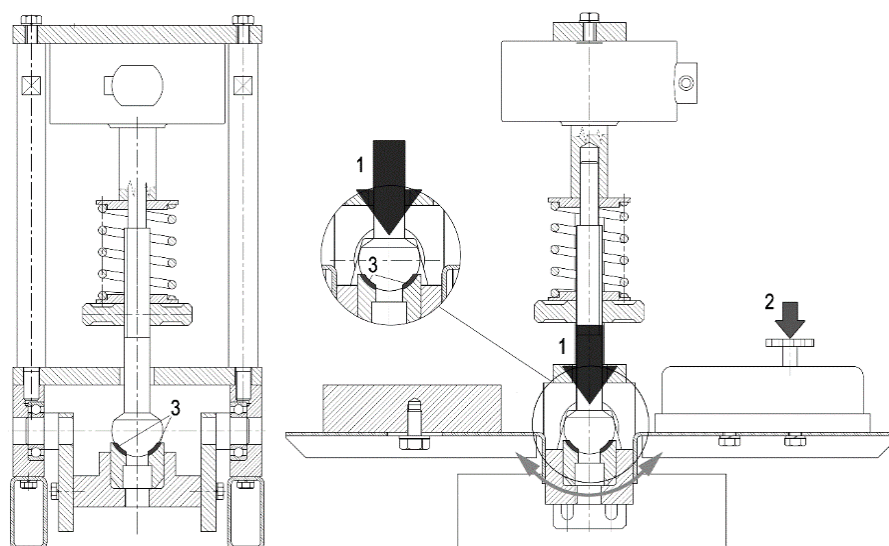
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

Két méréssorozatot végeztünk. Először megmértük a különböző anyagok relatív kenőkéességét, majd stabilitási méréseket végeztünk a gerincimplantátumokkal kapcsolatos ASTM szabvány szerint.

4.1.1. A relatív kenőkéesség mérése

Minden kísérletet a Debreceni Egyetem Műszaki Karán, a munkacsoport által korábban elkészített, saját fejlesztésen alapuló speciális műszerrel (1. ábra) végeztünk. A készülék alkalmas különböző anyagok relatív kenőkéességének mérésére (61). Ezt a műszert használtuk a műtéti területen jelenlévő szövetek és folyadékok tesztelésére, és eredményeinket összehasonlítottuk a könnyen hozzáférhető ipari kenőanyagok által adott eredményekkel.



1. ábra A kenőkéesség mérésekhez kifejlesztett készülék sematikus rajza. 1: rugó által kifejtett összenyomóerő, 2: mozgatóerő, 3: érintkező felület.

A vizsgálat során két polírozott fémfelületet nyomtunk egymáshoz. Az egyik felület egy rögzített fémgömb, amely egy másik fém felület homorú félgömbjébe illeszkedett, amely egy csapágyazott tengelyre volt szerelve. A félgömb a kar mozgásával elmozdítható a rögzített gömbhöz képest. A rendszer tartalmazott egy szabályozható nyomóerőt kifejtő rugót is, amely a két felület közötti nyomást biztosította. A mérések során a két felület közé három milliliternyi vizsgált kenőanyagot juttattunk, a készülék pedig mérte a két felület elmozdításához szükséges erőt.

A méréseket a következőképpen rögzítettük: minden mérés előtt a felületeket megtisztítottuk, majd a rugót a kívánt értékre állítottuk, és a kart szabadkézzel mozgattuk. A rugó feszességét és a kar mozgásához szükséges erőt egy számítógéphez csatlakoztatott erőmérő cellával mértük.

A kar mozgása nyomatékokat hoz létre, amelynek a két felület között fellépő, a felületeket összeszorító rugó előfeszítettségétől függő súrlódási erő áll ellen. Az erő fokozatos növekedésével a nyomaték meghaladja a súrlódási erőt, és a rendszer elmozdul, miközben az erőmérő cella segítségével folyamatosan detektáljuk a kar végén kifejtett erőt.

A készülék alapvetően összehasonlító mérések végzésére volt alkalmas, referenciaanyagnak pedig a desztillált vizet alkalmaztuk. A további, a méréssorozatban szereplő körülmények, anyagok a következők voltak:

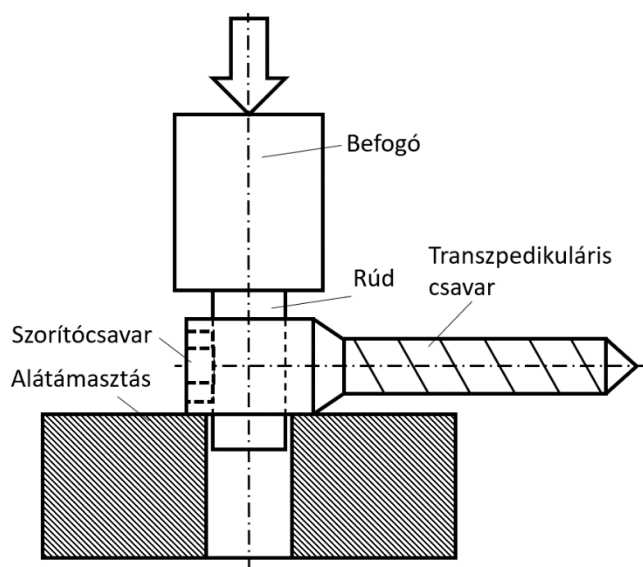
1. Száraz állapot, kenőanyag nélkül.
2. Desztillált víz Millipore MilliQ I. (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) víztisztító rendszerrel tisztítva.
3. Emberi vér (intraoperatív módon, elektív műtétre készülő betegektől vettük le a Debreceni Egyetem Ortopédiai Klinikáján).

4. Emberi synovialis folyadék (intraoperatív módon, elektív műtétre készülő betegektől vettük le a Debreceni Egyetem Ortopédiai Klinikáján).
5. Emberi subcutan zsírszövet (intraoperatív módon, elektív műtétre készülő betegektől vettük le a Debreceni Egyetem Ortopédiai Klinikáján).
6. Szimulált testfolyadék (simulated body fluid, SBF) (62).
7. Fiziológiás sóoldat (0,9%), (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Németország).
8. Szilikon (WOLF'S W340, Wolf Chemicals Ltd., Budapest, Magyarország).
9. Vazelin (Vazelin Original, Vasenol, Unilever Plc., London, Egyesült Királyság).
10. WD-40 (WD-40 Company, San Diego, CA, USA).
11. Turbinaolaj (Turbine-46 K, MOL Plc., Budapest, Magyarország).
12. Motorolaj (Castrol GTX3, Castrol Ltd., Pangbourne, Egyesült Királyság).
13. Kenőzsír (Mobil Agri Grease Extra, Exxon Mobil Corporation, Irving, USA).

A mozgatáshoz szükséges erőket kiszámítottuk és átlagoltuk az összes anyagra, majd a relatív kenőképességet úgy kaptuk meg, hogy a műtéti terület szöveteinek és az ipari kenőanyagoknak az átlagos kenőképességét a desztillált vízéhez arányosítottuk. A vizsgálatokat 300 N rugóerő mellett végeztük. Minden mérést 100-szor ismételtünk meg. Ez a nagyszámú mérés biztosítja a minta átlagának megbízható becslését.

4.1.2. A kenőanyagoknak az implantátumok stabilitására kifejtett hatásának mérése

A stabilitási méréseket az ASTM 1798-97 (2008) szabványos előírásainak megfelelően végeztük (6), egy Instron 8874 anyagvizsgáló géppel (Instron Ltd., High Wycombe, Egyesült Királyság) 6 mm átmérőjű Ti6Al4V rudak és 45 mm-es transzpedikuláris csavarok (Sanatmetal Kft., Eger, Magyarország) felhasználásával. A mérés során a szorítócsavar meghúzását követően a berendezés 10 mm/perc keresztfej sebességgel 3 mm-re kitolta a rudat az alátámasztott gerinccsavarból. A mérést a szorítócsavar 2 Nm-es és a gerincimplantátum gyártók ajánlásainak megfelelően 4,5 Nm-es meghúzása mellett is elvégeztük (63) (2. ábra).



2. ábra Az ASTM 1798-97 (2008) szabvány szerinti vizsgálati elrendezés Instron 8874 anyagvizsgáló gépen

A vizsgálatot 10 mintán végeztük el, száraz és kenőanyaggal ellátott állapotban (a csavart és a rudat is kenőanyaggal láttuk el). A méréseket a szabvány (6) szerint háromszor ismételtük meg, ügyelve arra, hogy a csavarokat ne a rúd ugyanazon részén húzzuk meg, mint korábban. A stabilitási vizsgálatához összesen 120 mérést rögzítettünk. Minden egyes mérés esetében dokumentáltuk a maximális

terhelés, a maximális terhelésnél mért elmozdulás és a merevség értékeit. A vizsgálatok végén lemértük a rögzítőcsavarok lazítónyomatékát is.

4.1.3. Statisztikai analízis

A mért adatok kiértékelése Catman Easy szoftverrel (HBM GmbH, Darmstadt, Németország) történt.

A populáció normalitását Shapiro-Wilk teszt segítségével határoztuk meg. A különböző kenőanyagok közötti statisztikai különbségeket Tukey post hoc teszttel kiegészített kétutas ANOVA-val elemeztük. A $p < 0,05$ értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük. Az adatokat átlag $\pm$ SD-ben adtuk meg. Annak eldöntésére, hogy a száraz és a kenőanyagos csavarok lazítási nyomatéka közötti különbség statisztikailag szignifikáns volt-e, a kétmintás t-próbát alkalmaztuk. A statisztikai számításokat a GraphPad Prism 7 programmal végeztük (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

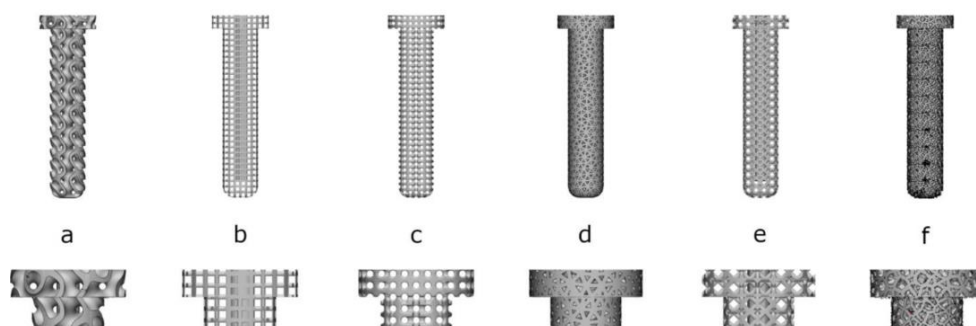
4.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata

4.2.1. Etikai engedély

Az állatkísérletet a Semmelweis Egyetem Kísérletes Sebészeti Intézetének Herceghalmon működő műtőjében a PE/EA/573-8/2019 sz. etikai engedély alapján végeztük el. A műtetre kerülő állatok az intézettel fizikailag összeépült Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet telephelyéről származtak, a műtét utáni elhelyezésük és megfigyelésük is ott történt. Etikai okokból és a hatályos 2010/63/EU irányelvnek megfelelően a lehető legkisebb számú kísérleti állattal dolgoztunk, mely mintaszám még lehetővé teszi a statisztikai értékelést.

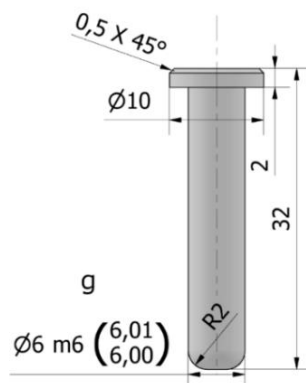
4.2.2. Az implantátumok tervezése és előállítása

Kutatásunk során törekedtünk a legátfogóbb kísérleti modell megalkotására, amelyhez az irodalomban található leggyakrabban tanulmányozott rácsalakok mellett olyan rácsalakokat is beválasztottunk a kísérletbe, melyekről nem álltak rendelkezésre irodalmi adatok. Mindezek tükrében a vizsgált rácsalakok a következők lettek: giroid, kocka, henger, tetraéder, kettős piramis, Voronoi (3. ábra).



3. ábra: A vizsgálatok során alkalmazott rács típusok. a: giroid, b: kocka, c: henger, d: tetraéder, e: kettős piramis, f: Voronoi

A csontbenövés mértékét az állatkísérletek során alkalmazott szegecs-szerű 6 mm átmérőjű, legömbölyített hengeres implantátumok segítségével állapítottuk meg. A fej rész 2 mm magas és 10 mm átmérőjű volt. Gyártástechnológiai megfontolásból az implantátumok közepe 2 mm átmérőben tömör volt. Az implantátumok pórusmérete minden esetben 600 μm volt, 200 μm -es gerendavastagság mellett (4. ábra).



4.ábra A próbatestek műszaki rajza

A rácsos szerkezetű implantátumok modelljét a Spaceclaim 2019 (Ansys, Cansburg, USA), valamint az Element (nTopology Inc., New York, USA) szoftverek alkalmazásával állítottuk elő (3. ábra).

Az implantátumok gyártása egy EOS M290 (EOS GmbH, Krailling, Németország) 3D nyomtatóval történt, Direct Metal Laser Sintering (DMLS) technológiával, Ti6Al4V (Grade 23) típusú anyag felhasználásával. Az EOS M290 a német EOS cég által gyártott lézerszinterezéssel működő, fém anyaggal dolgozó 3D nyomtató. A berendezés alapvetően fémpor szinterezésével alakítja ki rétegről rétegre a kívánt modellt, és alkalmas többféle (titán, acél, alumínium) por kezelésére is. Esetünkben a fő cél az implantátumok előállítása, ezért számunkra a titán és ötvözetek jöttek szóba.

A Debreceni Egyetemen működő berendezés csak a beültethető Ti6Al4V ELI ötvözetet alkalmazta a modellek gyártása során. Az implantátumokat a platformra merőlegesen helyeztük el, miközben a fejük érintkezett a nyomtatási platform felületével mindenféle tartószerkezet hozzáadása nélkül.

A 3D nyomtatás befejezése után a szegecseket szalagfűrészszel levágtuk a platformról, majd a fűrészelt éleken 0,5 mm-es csiszolást alkalmaztunk. A darabok

végül tisztítás és autoklávos sterilizálást követően kerültek felhasználásra. A lézeres szinterezés főbb paramétereit a 2. táblázat rögzíti.

EOS M290 nyomtató paramétereit	
Rétegvastagság	30 µm
Lézer teljesítmény	280 W
Lézer sebesség	1200 mm/s
Sraffozás távolsága	0,14 mm
Betáplált energia	55,56 J/mm ³
Sraffozás rendezése	időoptimalizált
Sraffozási jellemzők	SkyWriting
Sraffozás szöge	67 °
Sraffozási eltolás	0,015 mm
Expozíciós mód	egyszeres expozíció
2. táblázat A lézerszinterezés főbb paramétereit	

4.2.3. A modellállat kiválasztása, állatkísérlet

A csont-ízületi sebészet számos modellállatot talált magának az elmúlt évtizedekben, mivel minden vizsgálat más és más kérdésre keresi a választ, több állatfaj alkalmazását is meg kell fontolni. Mozcásszervi alap- és alkalmazott kutatásokra többek között patkány (64, 65), kutya (66), juh (67-70), ló (71),

nyúl (72, 73) és szarvasmarha (74, 75) bevonásával történő kutatásokkal is találkozunk. Implantátum alapanyagok tanulmányozására sokszor nyúl- és patkánykísérleteket terveznek, majd biztató eredmények esetében a nagyobb testű emlősállatok irányába terveznek újabb vizsgálatokat. Az állatfajok alkalmazásának ezen széles skálája egyrészt a kutatások eltérő mértékű előrehaladottságával, másrészt magának a mozgásszervi sebészetnek napjainkban bizonyos esetekben már sejtszintű vizsgálatokként való megvalósulásában keresendő.

A svájci Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen (AO) munkacsoport munkássága nyomán világszerte a juh lett a csontsebészeti kísérletek esetén a golden standard. Az AO juhokkal végzett kutatásai azt is bizonyították, hogy az így nyert eredményeket számos aspektusban remekül lehet konvertálni a humán csontsebészetre (66). A juhokon végzett csont-ízületi kísérleti műtéteknek számos előnyük van:

- A felnőtt juhok méretei megfelelőek ahhoz, hogy a humán gyakorlatban megszokott sebészi technikát és műszereket lehessen alkalmazni esetükben.
- Testsúlyuk és testarányaik jobban hasonlítanak az emberéhez, mint a többi szoba jövő állaté.
- Csontszerkezetük makroszkóposan is sok hasonlóságot mutat a humán csontrendszerrel (pl. végtagok hosszú csöves csontjai).
- A fiatal juhok distalis femur condylusban lévő spongiosa szerkezete hasonlít leginkább az emberére. Ez azt az ideális állapotot is jelenti, hogy fiatalabb (így könnyebben hozzáférhető) juhokkal végzett kutatások adják leginkább a humán gyakorlatra konvertálható kísérleti eredményeket.
- A juhok csontanyagcseréje és remodellációja nagymértékű hasonlóságot mutat az emberével.

- Nagy szaporaságuk révén viszonylag könnyen kialakíthatók belőlük homogén kísérleti csoportok.
- A juhok számos fajtájával kapcsolatban láttak napvilágot tudományos kísérleti műtétekről közlemények, amelyek igazolják, hogy ez a faj még nincs pl. a kutyákhoz hasonló szigorral leszábellyozva.
- Tartásuk, takarmányozásuk egyszerű (76).

A juh, mint kísérleti állat tehát több szempontból is ideális választásnak tűnt számunkra, ezen döntésünket alátámasztja az a tény is, hogy világviszonylatban az 1980-as években végzett juh kísérletekhez képest ez a szám több, mint a kétszeresére nőtt a rákövetkező évtizedben (66).

4.2.3.1. A műtéti terület kijelölése, implantátumok rendszerezése

A juhok distalis femur condylusa jól elfogadott humán-realisztikus műtéti terület, sebészileg könnyen hozzáférhető, ami biztosítékot jelent egy jól kodifikálható, technikailag könnyen kivitelezhető, gyors és megbízhatóan reprodukálható műtét elvégzéséhez. Olyannyira, hogy a distalis femur condylusba ültetett implantátum beépülésének vizsgálata golden standardnak számít (77), törekvések vannak az efféle kísérletek standardizálására. Kiemelkedő Pobloth és kutatócsoportjának közleménye, melyben összefoglalták a nagytestű állatokon végzett preklinikai kutatások csontdefektus pótlásra vonatkozó standardizált módszereit (78).

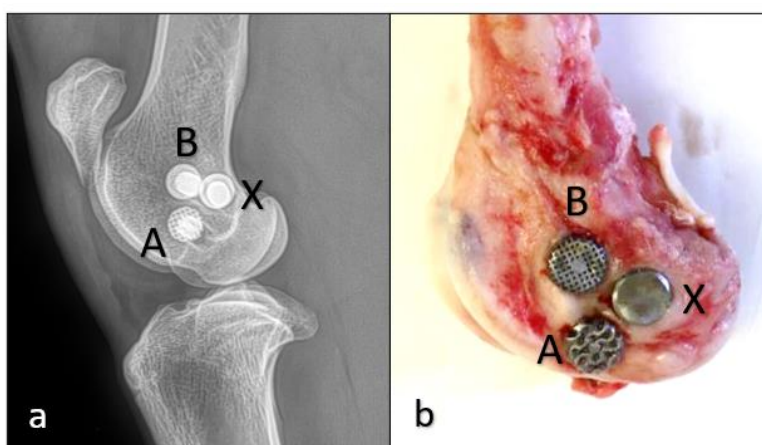
Mivel a juhok distalis femur condylusának spongiosus állománya fiatal, 3-4 éves korban hasonlít leginkább az emberére, ezért kutatásunkba 12 db ilyen korú, 45-50 kg-os merino, jerke juhot vontunk be.

A juhok femur condylusába hármaskiosztásban, előre definiált rendszer szerint az általunk tervezett és 3D nyomtatással előállított különböző rácsos szerkezetű

és kontroll implantátumokat ültettünk be. Egy oldalra vetítve a következőképpen (5. ábra):

- a három implantátumból egy mindig kontroll, tömör, trabecularis szerkezet nélkül,
- a másik kettő pedig különböző rácsos szerkezetű implantátum volt

Ugyanazon állat esetén mindkét oldalra ugyanolyan rács típusokat ültettünk be.



5.ábra Implantátumok elhelyezkedése egy femur condylusban. (a) műtét után készült röntgenfelvétel, (b) az implantálás után 12 héttel exterminált állat femurja az implantátumokkal. „A”: giroid rács; „B”: kocka rács; „X”: tömör, kontroll.

4.2.3.2. Műtéti technika

A műtéteket intratrachealis narcosis alkalmazásával a befogadóhely állatorvosai végezték el. Az altatási protokoll a következőképp alakult:

- Premedikáció: Medetomidine (5 µg/kg) Ketamine (2 mg/kg) és Diazepam (0,01 mg/kg) injectio intramuscularis (im.) az állat tartási helyén, majd ezt követően műtőbe szállítás.

- Beavatkozás alatt: Isofluran/Oxigén narcosissal fenntartva (2-4 v/v%/O₂) a sebészeti mélységű anaesthesia.

Műtét után az extubált, még alvó állatok eredeti tartózkodási helyükre, a herceghalmi Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet telephelyére kerültek vissza. Táplálásuk és almozásuk mellett tartózkodási helyükön történtek az orvosi vizsgálatok és további beavatkozások is. Elhelyezésük hármásával elkerítve, egy légtérben történt. Az öltéseket a posztoperatív harmadik héten távolítottuk el.

Részletes peri-, intra- és posztoperatív dokumentációt vezettünk. A műtétekről és a perioperatív tevékenységekről video és fotódokumentáció is készült, valamint minden egyes kísérleti állatról személyre szabott műtéti leírást is vezettünk. A juhok a perioperatív időszakban, majd tovább 8 napig Amoxicillin kezelésben részesültek 15 mg/kg adagban, hosszú hatású im. gyógyszerformában (Betamox LA inj. 150 mg/ml ad usum veterinarium (AUV)).

4.2.3.3. Terminálás

A csontos beépülés vizsgálatára az állatok két terminusban történő túlaltatásával nyílt lehetőség. A terminálások a műtétet követő 8. és 12. héten történtek. Összesen 72 db implantátumot ültettünk be az állatokba, melyek eloszlását és az exterminálási heteket a 3. táblázatban tüntettük fel.

Juh	Beültetett implantátumok rácsalakja	Exterminálás ideje
1.	„A” giroid, „B” kocka, „X” tömör	8. hét
2.	„A” giroid, „B” kocka, „X” tömör	8. hét
3.	„A” giroid, „B” kocka, „X” tömör	12. hét
4.	„A” giroid, „B” kocka, „X” tömör	12. hét
5.	„C” henger, „D” tetraéder, „X” tömör	8. hét
6.	„C” henger, „D” tetraéder, „X” tömör	8. hét
7.	„C” henger, „D” tetraéder, „X” tömör	12. hét
8.	„C” henger, „D” tetraéder, „X” tömör	12. hét
9.	„E” kettős piramis, „F” Voronoi, „X” tömör	8. hét
10.	„E” kettős piramis, „F” Voronoi, „X” tömör	8. hét
11.	„E” kettős piramis, „F” Voronoi, „X” tömör	12. hét
12.	„E” kettős piramis, „F” Voronoi, „X” tömör	12. hét

3.táblázat: Beültetett implantátum típusok és az exterminálási adatok

Első lépésben már nem steril, csak tiszta körülmények között a jószágok altatásra kerültek.

- Premedikáció: Medetomidine (5 µg/kg), Ketamine (2 mg/kg) és Diazepam (0,01 mg/kg) im. az állat tartási helyén, majd ezt követően műtőbe szállítás.
- Beavatkozás alatt: Isoflurán/Oxigén narcosis (2-4 v/v% /O₂).

A következő lépésben feltártuk a műtéti területet.

A terminálás gyógyszerelése a következő volt: Az állatok életét Pentobarbiturát (Euthasol 40 % injectio (inj.) AUV 0,2 ml/tskg) és KCl telített oldatának 1 ml/kg

adagban intra venam (iv.) beadásával túlaltatva és a szív depolarizálásával, kíméletesen oltották ki.

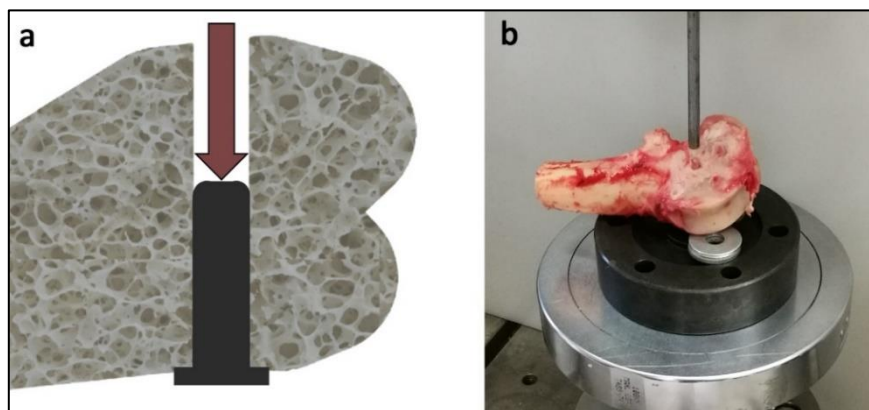
A terminálást követően az implantátumokat tartalmazó distalis femur condylusokat eltávolítottuk, feliratozott dobozokba helyeztük és hűtött állapotban a Debreceni Egyetem Biomechanikai Laboratóriumának bonchelyiségébe szállítottuk, ahol 10 %-os formalinba áztattuk és 4 °C -os hűtőbe helyeztük őket.

A csontbenövés mértékének megítélésére az eltávolított minták felét szövettani feldolgozás során vizsgáltuk tovább, a másik felét pedig mechanikai analízisnek vetettük alá.

4.2.4. Mechanikai vizsgálat

Push-out teszttel arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a különböző rácsszerkezetű implantátumok milyen erővel tolhatók ki helyükről. Ezzel a csontbenövés által keltett ellenállás mértékét határoztuk meg. Minél nagyobb a kitoláshoz szükséges erő, annál nagyobbak feltételezhető a csontbenövés mértéke.

A hengeres implantátumoknak a műtét során a csonton teljesen átmenő furatot hoztunk létre, így Pobloth (79) tanulmányához hasonlóan lehetővé vált, hogy az implantátumot a beütés irányával ellentétesen kitoljuk a furatból (6. ábra).



6. ábra A push-out teszt végrehajtásának sematikus ábrázolása (a) és végrehajtása (b)

A vizsgálatokat a Biomechanikai Anyagvizsgáló Laboratóriumunkban egy Instron 8874 (Instron, Norwood, Massachusetts, USA) típusú anyagvizsgáló géppel végeztük. A felső befogópofába egy 5 mm átmérőjű saválló acél hengeres rudat rögzítettünk, míg alul, a csont alatt a kitolásnak egy közepén kifúrt tárcsa tartott ellen. A teszt során a kitolt implantátum a tárcsában kialakított furatba érkezett. A vizsgálati sebesség minden esetben 1 mm/perc volt. Minden vizsgálatot a minta teljes kitolásáig végeztünk.

4.2.5. Szövetteni elemzés

A femur condylusokból az implantátumokat kb. 5 mm-es csontos környezetükkel eltávolítottuk. Ezekből készítettük el a további feldolgozáshoz szükséges metszeteket.

4.2.5.1. A metszetek feldolgozása

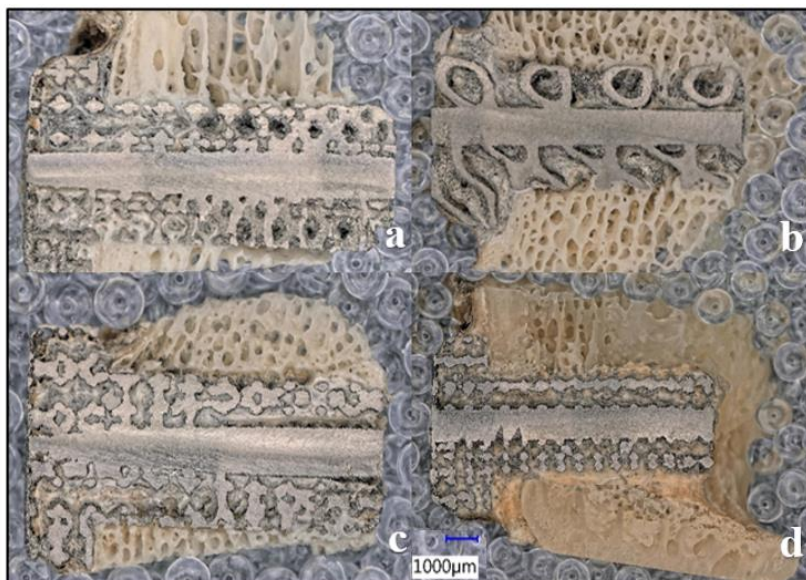
A metszeteket geológiai minták előkészítéséhez használatos Ecomet II Grinder Polisher (Buehler, Lake Bluff, USA) csiszolókorongon csiszoltuk és políroztuk. A mintákat egyesével csiszoltuk be, a csiszoláshoz CarbiMET™ Silicon Carbide Grinding Papers (Buehler, Lake Bluff, USA) csiszolópapírokat használtunk: először a [P400], majd a [P800] és végül a [P1200] szemcseméretű papíron. Minden minta esetében ilyen sorrendben végeztük el a csiszolást. Ezután a metszeteket Sonorex RK100H (Bandelin, Berlin, Németország) ultrahangos tisztítóban, 1 percig izopropanolban tisztítottuk, majd magasnyomású levegővel lefújtuk.

A különféle szemcseméretű papírokkal való csiszolások között az ultrahangos mosást és a magasnyomású levegővel fúvatást megismételtük. Amikor a megfelelő felületet sikerült elérni, az ultrahangos tisztítást még annyiszor ismételtük meg, míg a mikroszkópos ellenőrzéssel már nem találtunk csiszolópor szemcséket a mintában.

Az előkészített mintákra példákat a 9. ábrán mutatunk be. A csontszövet, a hegesezés, a benövés, ill. az implantátum szerkezete jól megfigyelhetővé vált.

A metszetekről optikai mikroszkópos képek készültek Keyence VHX-6000 (Keyence International, Mechelen, Belgium) digitális mikroszkóppal. A képek elkészítéséhez VH-Z20R/Z20T objektívet használtuk (7. ábra).

A mikroszkópos felvételeken egy újonnan kidolgozott algoritmussal értékeltük a csontbenövés mértékét manuális berajzolással való összehasonlítás mellett.



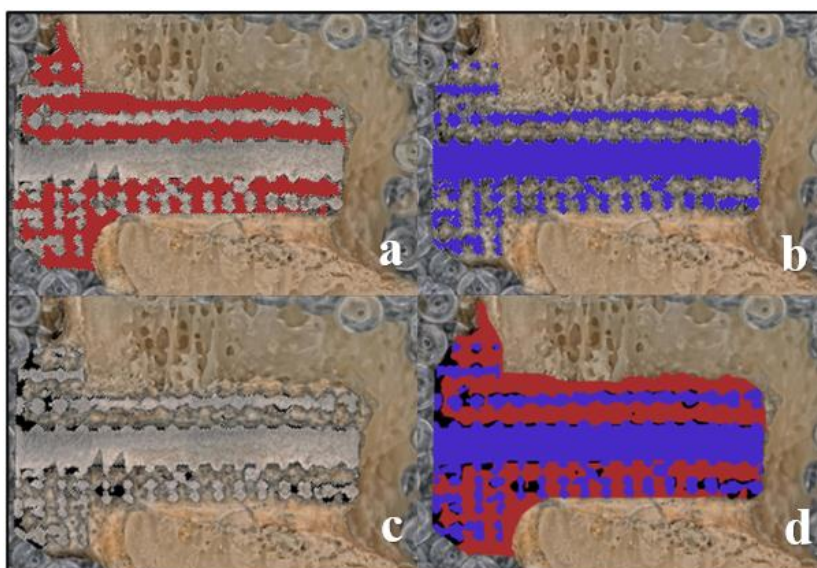
7. ábra Csontos femur condylus minták hosszanti metszeteinek mikroszkópos felvételei: kettős piramis rács típus (a), giroid rács típus (b), Voronoi rács típus (c), kocka rács típus (d). A nagyítás mértéke: 1000 μm .

4.2.6. Manuális képfeldolgozás

A mikroszkópos felvételeken manuális berajzolással meghatároztuk a csontbenövés mértékét a GIMP (The GIMP Development Team, GIMP 2.0., <http://www.gimp.org/>) és az Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) szoftverek használatával. A felvételeket ketten, egymástól függetlenül

dolgoztuk fel. Az így kapott számszerűsített eredmények átlagával hasonlítottuk össze a képfeldolgozó algoritmus számadatait. A berajzolást az összes mikroszkópos felvételen elvégeztük. A mikroszkópos felvételek feldolgozásának menete a következő volt (8. ábra):

1. a benőtt csontszövet jelölése piros színnel
2. az implantátumot jelölő fém részek jelölése kék színnel
3. az üres rések – ahová nem történt csontbenövés – jelölése fekete színnel
4. meghatároztuk a kijelölésenként megkapott kék, piros és fekete maszkok pixelszámát és behelyettesítettük a BI (csontbenövési) arány meghatározásához szükséges (3) képletbe (5.2.5. fejezet)



8. ábra Csontbenövés mértékének elemzése optikai mikroszkópos felvételen (kocka rács szerkezetű implantátum) manuális berajzolással. Oszteointegrált terület maszkja (a), implantátum fém régióinak maszkja (b), üres rések maszkja (c), az összes maszk együtt (d)

4.2.7. Hisztomorfológiai vizsgálat

Az implantátumok eltávolítását követően megvizsgáltuk az implantátumok hisztomorfológiáját is, szövettani feldolgozást végeztünk mind az implantátumok felszínéről, mind a belső üregekből származó szövetdarabokból. A mintákat paraffinba ágyasztuk az etilén-diamin-tetraecetsavban (EDTA) történő dekalifikációt követően a rutin szövettani protokoll szerint elemeztük. A szövetek összetételét szabványos, 4 µm vastagságú, hematoxilin-eozin (HE) festésű metszetek segítségével határoztuk meg. A morfológiai elemzést fénymikroszkópiával (Leica DM3000 LED mikroszkóp, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Németország) végeztük, a képeket pedig integrált digitális kamerával (Leica Flexacam C1, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Németország) és LAS X képalkotó szoftverrel (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Németország) készítettük.

4.2.8. Statisztikai analízis

Két hipotézist vizsgáltunk:

1. Nincs szignifikáns különbség a különféle rácsok kitolásához szükséges erőben a rácsos szerkezetű próbatestek és a tömör kontroll próbatest között.
2. Nincs szignifikáns különbség a csontbenövés mértékében a vizsgált rács típusok között a 8. és a 12. héten, és a csontbenövés mértéke az idő múlásával az egyes rács típusokon belül nem változik szignifikánsan.

A populáció normalitását a Shapiro-Wilk teszt segítségével vizsgáltuk. A különböző rácsok közötti statisztikai különbségeket a tömör próbatesthez képest Dunnett post hoc teszttel kiegészített egyutas ANOVA segítségével elemeztük. Lineáris regressziós modellt használtunk az algoritmikus képfeldolgozó módszer és a manuális módszer összehasonlítására. Kétutas ANOVA-t alkalmaztunk

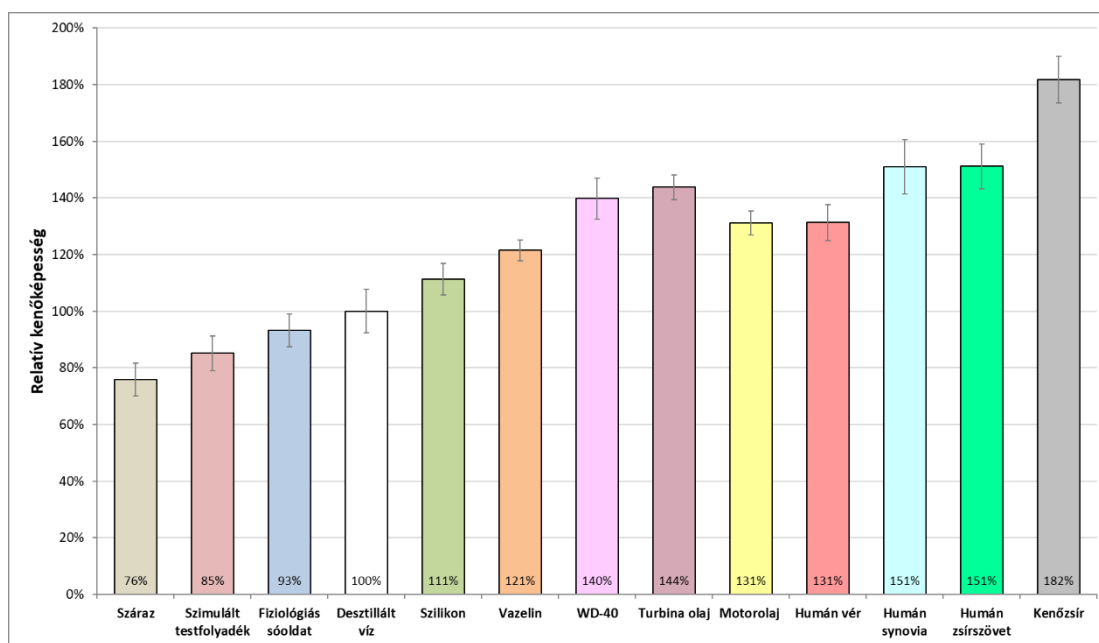
Sidak többszörös összehasonlító teszttel kiegészítve a vizsgált rácsok közötti statisztikai különbségek értékelésére a különböző időpontokban. A $p < 0,05$ értéket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük. Az adatokat átlag $\pm$ 95 %-os konfidenciaintervallumot használva mutattuk be. A statisztikai számításokat GraphPad Prism 7 program (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) segítségével végeztük.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

5.1.1. A relatív kenőképesség meghatározása

A különböző anyagok relatív kenőképességének meghatározását az általunk fejlesztett tribológiai készülékkel végeztük úgy, hogy a műtéti területen jelen lévő szövetek átlagos kenőképességének értékeit és az ipari kenőanyagokat összehasonlítottuk a desztillált vízzel, mint referenciaértékkel kapott eredményekkel (a desztillált víz kenőképessége =100 %) 300 N terhelés esetén (9. ábra).



9. ábra A relatív kenőképesség értékei és szórása (SD) a desztillált vízzel összehasonlítva 300 N terhelés esetén

A vér és bőr alatti zsírszövet átlagos kenőképessége hasonló volt az ipari kenőanyagokéhoz. Amint az a grafikonon látható, a vizsgált emberi szövetek kenőképessége a motorolaj és a kenőzsír kenőképessége közé esik, de közelebb áll a motorolajéhoz, ezért a stabilitási méréseket Castrol GTX3 motorolajjal végeztük.

Ezzel szemben az ASTM szabványok által ajánlott szimulált testfolyadék relatív kenőképessége kisebb volt, mint a fiziológiás sóoldaté, és csak kismértékben volt nagyobb, mint ahogy a száraz állapotban, kenőanyag nélkül végzett mérésekből kapott eredmények mutatták.

A statisztikai eredmények azt mutatták, hogy 300 N kompressziós erő esetén nem volt szignifikáns különbség a motorolaj és a három humán anyag mozgatási ereje között az 1. ábrán látható eszköz alkalmazásával (motorolaj vs. emberi vér: $p = 0,111$; motorolaj vs. emberi synovialis folyadék: $p = 0,998$; motorolaj vs. emberi zsírszövet: $p = 0,999$).

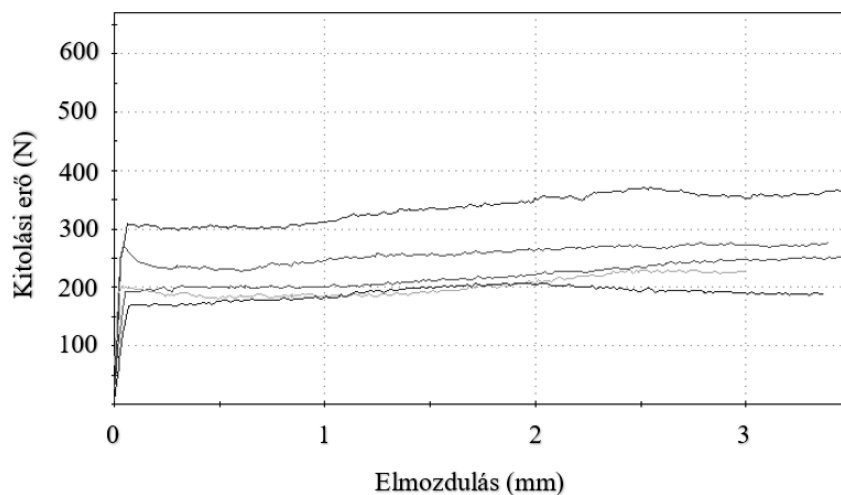
A kísérlet legfontosabb eredménye az volt, hogy a Castrol GTX3 motorolajnak a kenőképessége hasonló volt a műtéti területen található emberi szövetek kenőképességéhez. Ezen eredményünk fényében a jövő kutatói számára a gerinc és egyéb implantátumok stabilitásának vizsgálata a valóságoshoz valóban hasonló vizsgálati környezetben könnyebben, egyszerűbben és olcsóbban elvégezhető ipari olajok felhasználásával, etikai probléma nélkül.

5.1.2. Stabilitási mérések

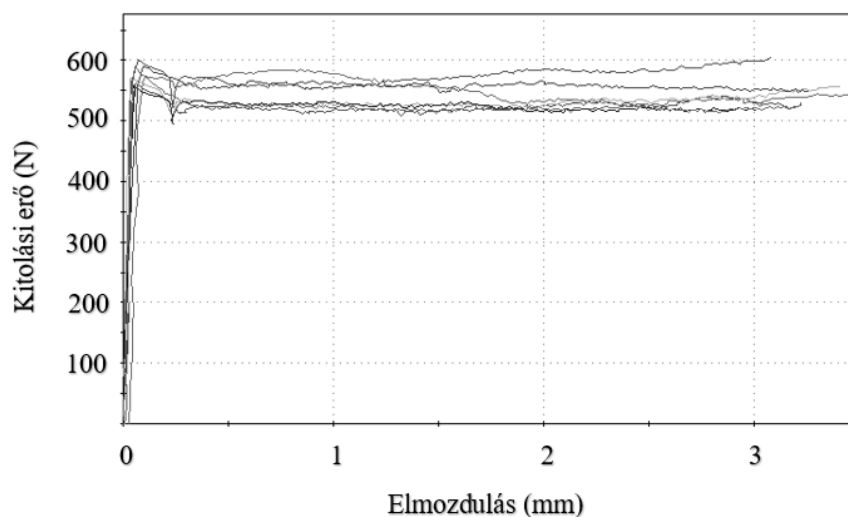
A stabilitást több tényező befolyásolhatja a rögzítőcsavarokkal ellátott gerinc-implantátumok esetében, mint például a rögzítőcsavarok kialakítása, a külső vagy belső konfiguráció, az átmérő, valamint a környező lágyszövetek kenőképessége. Méréseinket a rúd és az implantátum csavarok közötti határfelületen végeztük, hogy felderítsük a fém implantátumrészek kilazulására vonatkozó tényezőket.

A stabilitási vizsgálatokhoz a korábbi tapasztalatok alapján Castrol GTX3 motorolajat használtunk kenőanyagként. Kontrollként száraz állapotot is vizsgáltunk két meghúzónyomaték esetén. A 2 Nm-es nyomatéknál átlagosan 330 N volt szükséges a rúd kitolásához (10. ábra), míg ez 4,5 Nm-nél 607 N-ra nőtt

(11. ábra). Amikor motorolajat használtunk, az átlagos kitolási erő 293 N-ra, illetve 595 N-ra csökkent. A rúd kitolásához 4,5 Nm nyomatéknál száraz állapotban 1,84-szer, olajjal kenve pedig 2,02-szer nagyobb erőre volt szükség, mint 2 Nm-nél.



10. ábra A stabilitási mérések 2 Nm meghúzási nyomaték esetében



11. ábra A stabilitási mérések 4,5 Nm meghúzási nyomaték esetében

Eredményeink azt mutatták, hogy a kenőanyag használata csökkentette a montázs destabilizálásához szükséges erőt, 2 Nm nyomaték esetén 10 %-kal, 4,5 Nm értékek esetén pedig 2 %-kal.

Megállapítottuk továbbá, hogy a kenőanyaggal ellátott csavarokat kisebb forgatónyomatékkal lehetett megmozdítani (átlagosan 1,49 Nm vs. 1,24 Nm).

A száraz és a kenőanyagcsavarok lazítási nyomatéka között $p=0,038$ eredményt kaptunk, fennállt a szignifikancia.

5.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatések vizsgálata

5.2.1. A műtéti terület kijelölése

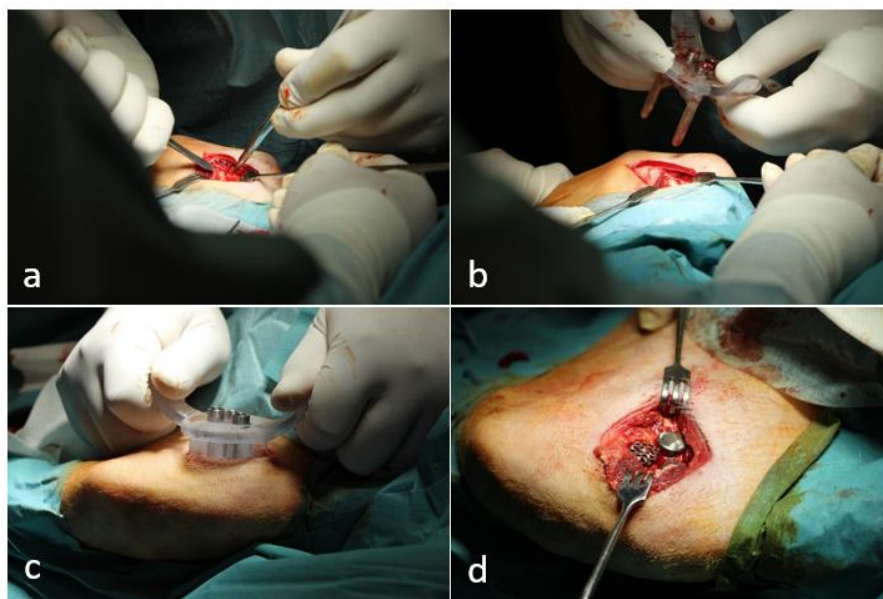
Számos szerzővel ellentétben a femur condylust nem a külső, hanem a belső oldal felől közelítettük meg. Ennek több praktikus oka is volt:

- Hanyatt fekvő juhoknál egy izolálással egyidejűleg mindkét oldal operálható volt.
- Ez a fektetés jobb sebészi megközelítést biztosított.
- A medialis oldali műtéti sebeket a kísérleti állatok akaratlanul is jobban kímélik.

5.2.2. Műtéti technika

Az első lépés a műtéti terület és környezetének szőrtelenítése, majd borotválása volt, amit erős detergenssel való bőrmosás követett. A műtéteket a humán gyakorlatban bevett módon, a sterilitás teljeskörű figyelembevételével, szabályos sebészi bemosakodást és beöltözést követően végeztük el. Színes Kodan oldattal három rétegben fertőtlenítettük a bőrt, majd a műtéti területet egyszerhasználatos papír izoláló szettel ablakosan izoláltuk.

A térd belső felszínén ferde metszést ejtve, részben a vastus medialis rostjai mentén, részben azokat átvágva hatoltunk be. Ezt követően feltártuk a mediális femur condylust, a periosteumot mobilizáltuk. Feltárást követően a mediális femur condylus elülső-alsó szélén lévő behúzódnó részhez mini arthrotomiát követően hozzáillesztettük a célzótüske egyik szárát, majd az arthrotomias nyíláson keresztül a másik tüskét a femur medialis condylusának elérhető pereméhez illesztettük (12. ábra). A felszabadított csontfelszínre felfektetve a célzót, 6 mm átmérőjű fúróval teljes szélességében, a túlsó femur condylust is beleértve teljes egészében átfúrtuk a femur condylust. Az így előkészített három furatba a fentebb meghatározott séma alapján, jól beazonosítható módon a 0,25 mm-rel vastagabb implantátumokat press-fit módon bevertük. Braunolos öblítés után 2/0-s felszívódó tova futó varrattal egyesítettük a szétválasztott vastus medialis rostjait és fedtük az implantátumok csontfelszínen fekvő fejeit. A sebet 3/0-s Da-filon monofil fonállal Donáti csomós öltésekkel zártuk, amit Plastubol sprayvel fújtunk be. Minden egyes kísérleti állatnál mindegyik tervezett implantátumbeültetés sikeres volt. A műtétet követő megfigyelési időszak alatt az állatok nem mutattak életveszélyes klinikai tüneteket és a műtéti területen nem észleltük sem fertőzés, sem gyulladás jeleit.



12. ábra A műtét főbb lépései: (a) műtéti területen belül az implantátumok helyének előkészítése, (b) célzó behelyezése, (c) műtéti célzó segítségével furatok elkészítése, (d) az implantátumok behelyezése.

5.2.3. A műtéthez készült egyedi célzó

Kidolgoztunk az implantátumok helyének előkészítéséhez szükséges célzó készüléket, melyhez számos prototípuson keresztül vezetett az út. A végleges forma kialakításában fontos szerepe volt annak, hogy minden juh csont distalis femur condylusának antero-medialis peremén található egy kis markánsan elkülönülő, behúzódo barázda, melyek mivel közel identikus helyen fekszenek, jó orientációs pontot adtak a célzó megtervezéséhez.

Számos modellt készítettünk különböző megközelítésekben, mire végül kialakult a kísérleti műtétek során alkalmazott CAD (computer-aided design) tervezett és 3D nyomtatással előállított sterilizálható, egyszer használatos univerzális célzó modell (13. ábra).



13. ábra 3D nyomtatással készült egyedi célzó

Laboratóriumunk, a Debreceni Egyetem Biomechanikai Laboratóriuma megfelelően felszerelt a sterilizálható műanyag eszközök nyomtatáshoz is, így a műtétek során használt célzókat MED610 áttetsző biokompatibilis fotopolimer anyagból az Objet260 Connex (Stratasys, Revohot, Izrael) típusú nyomtatójával állítottuk elő. A beültetésre szánt próbatestekhez adaptáltan 6 mm átmérőjű sterilizálható fúrószárral dolgoztunk. A műanyag célzó forgácsolódásának megelőzésére a végleges célzók 3 db felül peremes fém perselyt tartalmaztak (12/c ábra).

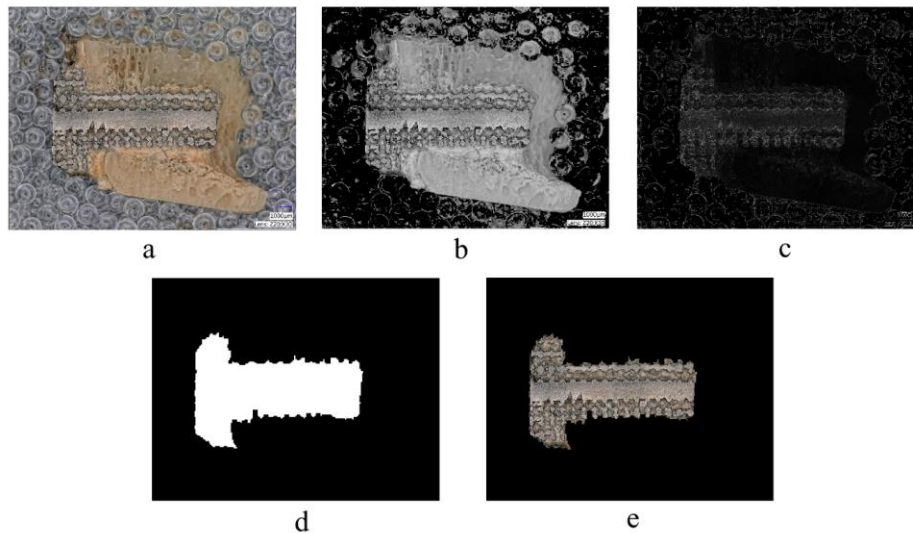
5.2.4. Szövetteni elemzés

A femur condylusokból az implantátumokat kb. 5 mm-es csontos környezetükkel eltávolítottuk. Ezekből a további feldolgozáshoz szükséges hosszanti metszeteket a szokványos mikrotómos megoldás helyett I510-G2 típusú vízvágó géppel (TECHNI Waterjet, Campbellfield, Ausztrália) alakítottuk ki.

5.2.5. Képfeldolgozó algoritmus

Kidolgoztunk egy olyan számítógépes képfeldolgozási módszert, mely alkalmas az implantátumokról készült mikroszkópos felvételeken megjelenő újonnan nőtt csontszövet mennyiségi értékelésére. Ez az automatizált eljárás hatékonyan méri a különböző rácsszerkezettel rendelkező implantátumokba való csontbenövés mennyiségi értékét. A módszer két alapvető lépésből áll. Első lépésként az implantátumok szegmentálását kell elvégezni a háttértől való pontos elkülönítéssel. Ezért a bemeneti színes képet (14/a ábra) szürkeárnyalatossá alakítjuk, és a háttér legnagyobb részét az átlaggal számoló küszöbölő algoritmus (80) eltávolítjuk (14/b ábra). A fennmaradó háttérpixeleket egy csúszóablakos algoritmus segítségével távolítjuk el. Ehhez az elkészült képen Sobel-éldetektort (81) alkalmazunk (14/c ábra), a csúszóablak-algoritmus minden egyes részterületet kategorizál előtérnek vagy háttérnek.

Ha az adott csúszóablak megfelelő számú és élességű pixelt tartalmaz, akkor előtérnek, ellenkező esetben háttérnek minősül. Ez a lépés egy bináris képet eredményez (14/d ábra), amely felhasználható az implantátum régiójának kivonására. Finomításként a morfológiai zárás operátorát alkalmaztuk az élek és a szegmentálási hibák elsimítására. A 14/e ábra ennek a szegmentáló algoritmusnak az eredményét mutatja.



14. ábra A képszegmentálás lépései: nyers kép (a), küszöbölt szürkeárnyaltos kép (b), éldetektálás utáni kép (c), bináris maszk (d), szegmentált implantátum (e).

A képfeldolgozás második részében három különböző textúrát kell felismerünk az implantátumon. Azonosítani kell a fém ötvözetből előállított implantátum felületét, az oszteointegrált területeket és a rácsszerkezet olyan réseit, ahol nem volt tapasztalható oszteointegráció. Első lépésként próbáljuk megtalálni ezeket a kitöltetlen rés területeket egy aktív kontúrmodell segítségével, amely képes meghatározni a legvalószínűbb határukat. Az aktív kontúrmodell módszer lehetővé teszi, hogy a kontúr iteratív módon változzon így minimalizálva a jól ismert Chan-Vese energiafüggvényt (82). Ennek az energiafüggvénynek (1) az az előnye, hogy képes ezeket a területeket simább határokkal szegmentálni.

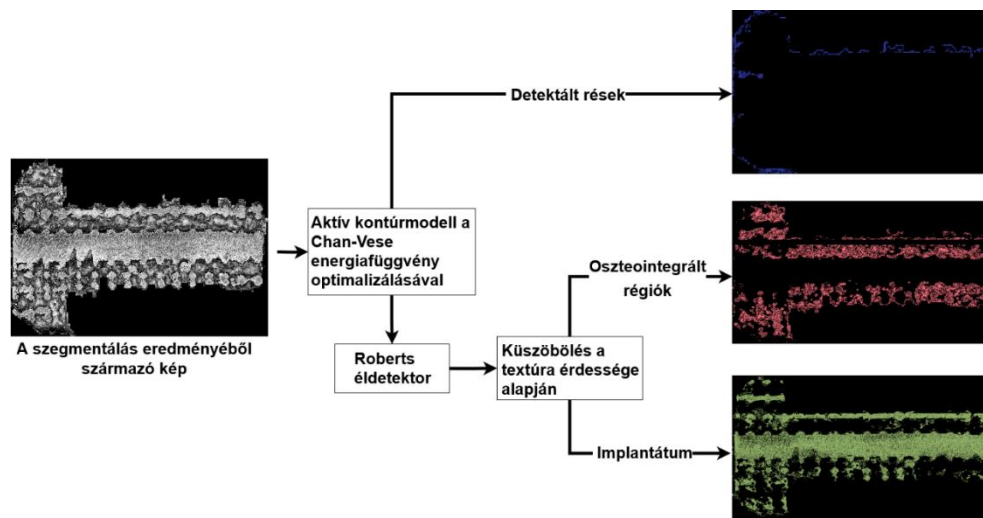
A görbe kiértékelése csak a pixelintenzitások ($I_{x,y}$) és az átlagos intenzitások (C) különbségétől függ a görbén belül ($c1$) és kívül ($c2$) a (2)-ben megfogalmazott módon.

$$E_{Chan_Vese} = F_1(C) + F_2(C), \quad (1)$$

$$F_1(C) = \int_{inside(C)} |I_{x,y} - c_1|^2 dx dy, \quad (2)$$

$$F_2(C) = \int_{outside(C)} |I_{x,y} - c_2|^2 dx dy.$$

Miután az összes kitöltetlen rést felismertük, a fennmaradó területek a textúrájuk érdekességének elemzésével implantátum- vagy csontpixelként osztályozhatók. Az érdekesség a Roberts-féle éldetektorból származik (83). A számított Roberts-gradiensek segítségével egy pixel és annak környezete csont (vagy implantátum) régiónak tekinthető, ha az átlagos gradiensek magasabbak (vagy alacsonyabbak), mint egy előre beállított küszöbérték. A 15. ábra mutatja be a szegmentálási folyamat lépéseit.



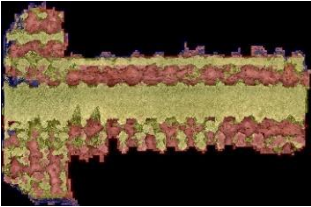
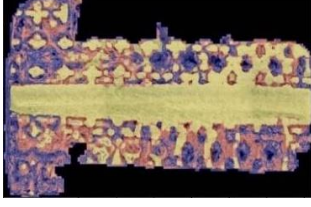
15. ábra A képfeldolgozás második részének lépései.

A különböző típusú rácsszerkezetek hatékonyságának előrejelzése, és annak kiszámítása végett, hogy mennyire segítik az oszteointegrációs folyamatot, a következő képlet segítségével meghatároztuk az oszteointegrált régió szegmentált területe (A_{Oss}) és a réseket tartalmazó területek száma közötti arányt (BI):

$$BI = \frac{A_{Oss}}{A_{Oss} + A_{Hole}}, \quad (3)$$

ahol A_{Hole} a detektált résekre utal.

A BI arány kiszámításával az algoritmus megbecsüli az oszteointegráció szintjét a különböző rácsszerkezetek esetében, amint azt a 4. táblázatban bemutatott példákból láthatjuk.

Rácsszer- kezet típusa	Kocka	Giroid	Kettős piramis
Kiindulási kép			
Eredmény kép			
BI arány	90,67%	66,77%	50,1%

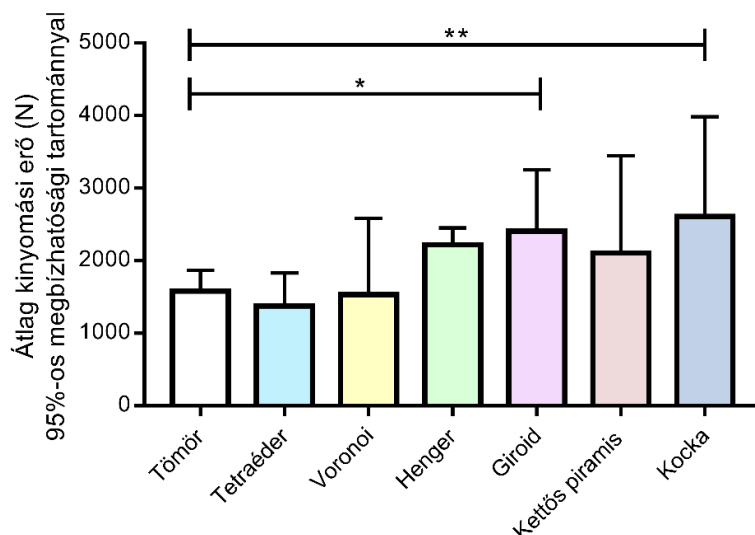
4. táblázat Különböző rácisos szerkezetű implantátumot bemutató mikroszkópos felvételekre számított BI arány (12 hetes minták).

5.2.6. Mechanikai vizsgálat eredményei

Összehasonlítottuk a különböző rács típusú implantátumok kitolásához szükséges erő mértékét a tömör kontroll implantátummal összevetve (16. ábra).

A giroid ($p=0,019$) és a kocka ($p=0,003$) rács típusok kitolásához szükséges erő szignifikánsan nagyobb volt a tömörhöz képest. A hengeres rács esetében a kontrollhoz képest borderline szignifikancia volt tapasztalható ($p=0,053$). A kitoláshoz szükséges erő szintén magasabb volt a kettős piramis rács típus esetében, bár a különbség nem volt szignifikáns ($p=0,215$). A tetraéder ($p=0,884$) és Voronoi ($p=0,997$) rácsok között nem volt szignifikáns különbség a kitolóerőben a tömör próbatesthez képest.

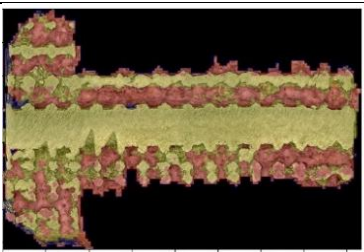
Összességében, mivel a kontrollhoz képest több szignifikáns különbség volt, az első hipotézisünket elvetettük (4.2.8. alfejezet).



16. ábra A különböző rácsok kitolásához szükséges erő a tömör kontrollhoz viszonyítva.
* és **: statisztikailag szignifikáns különbségek $p < 0,05$ és $p < 0,01$ értéken

5.2.7. A képfeldolgozó algoritmus és a manuális berajzolás eredményeinek összehasonlítása – a csontbenövés mértékének meghatározása

A két különböző módszer nagyon erős korrelációt ($R^2=0,924$; $p < 0,001$) mutatott (17. ábra).

Kiindulási felvétel	Manuális berajzolás	Képfeldolgozó algoritmus
		
BI arány	89,26 %	90,67 %

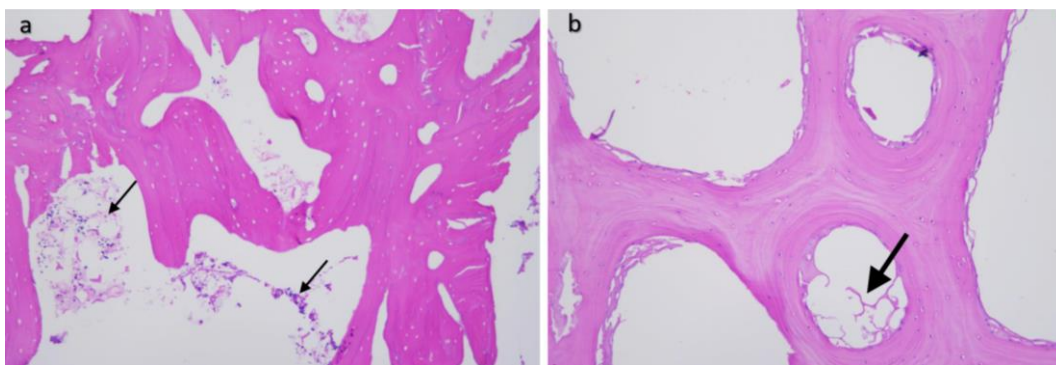
17. ábra A csontbenövés mértékének elemzése optikai mikroszkópos felvételen manuálisan és képfeldolgozó algoritmussal kocka rács szerkezetű próbatesten bemutatva.

5.2.8. A hisztomorfológiai vizsgálat eredményei

A szövettani elemzés során kivétel nélkül kizárólag rendes csontosodás jeleit tapasztaltuk, valamennyi esetben kialakult, kissé rendezetlen pseudo-lamellaris csontállomány volt kimutatható.

A titán térháló helye a metszetekben üres lyukak formájában látszik, körülötte az üregeket többnyire újonnan képződött csont, kevés zsírszövet és minimális csontvelő tölti ki, irritáció, gyulladás legkisebb jele nélkül (18. ábra).

Ez az észlelés leginkább a képfeldolgozó algoritmus eredményeit támogatja, miszerint a vízvágott felületen digitálisan kiszegmentált és megmért területek szöveti összetétel alapján viszonylag homogénnek és egyértelműen benőtt csontnak tekinthetők.



18. ábra (a) Mikroszkópos felvétel egy a 12. héten exterminált giroid rács típusú implantátumról. A trabecularis csont eozinofil (rózsaszín/vörös) anyagként jelenik meg, kissé szabálytalan lamellaris struktúrával, míg zsíros csontvelőnek megfelelő laza parenchymas sejttartalom tölti ki az intertrabecularis tereket (vékony nyilak). (b) A teljesen rekonstruált csont jól kialakított, orientált lamellaris architektúrát mutat, érett zsírszövetekkel az intertrabecularis terekben (vastag nyíl). (HE festés, 200× nagyítás).

5.2.9. A csontbeépülés mértékének hatékonysága – a rács típus és a beültetés után eltelt idő függvényében

Rangsoroltuk a csontbenövés hatékonyságát a hatféle rácsos implantátum tekintetében. A tetraéder típus esetében az összes rács típushoz képest szignifikánsan kisebb volt a csontbenövés mind a 8. héten (tetraéder vs. Voronoi

$p=0,005$; vs. hengeres, giroid, kettős piramis, kocka: $p<0,001$), mind a 12. héten (tetraéder vs. Voronoi, hengeres, giroid, kettős piramis, kocka: $p<0,001$).

Bár a Voronoi rács típus szignifikánsan nagyobb mértékű benövést mutatott, mint a tetraéder, az összes többi rács típushoz képest szignifikánsan gyengébb volt a benövés tekintetében mind a 8. héten ($p<0,001$ Voronoi vs. hengeres, giroid, kettős piramis, kocka), mind a 12. héten ($p<0,001$ Voronoi vs. hengeres, giroid, kettős piramis, kocka).

A hengeres és a giroid rács típusok között nem volt szignifikáns különbség sem a 8. héten ($p=0,742$), sem a 12. héten ($p=0,995$).

Míg a hengeres és a kettős piramis rács típusok között nem volt szignifikáns különbség a 8. héten ($p=0,113$), a kettős piramis rács típus már a 12. héten szignifikánsan nagyobb benövést mutatott ($p=0,044$). Mind a 8. héten ($p=0,037$), mind a 12. héten ($p=0,003$) a kocka rács nagyobb benövési hatékonyságot mutatott a hengeres rácshoz képest.

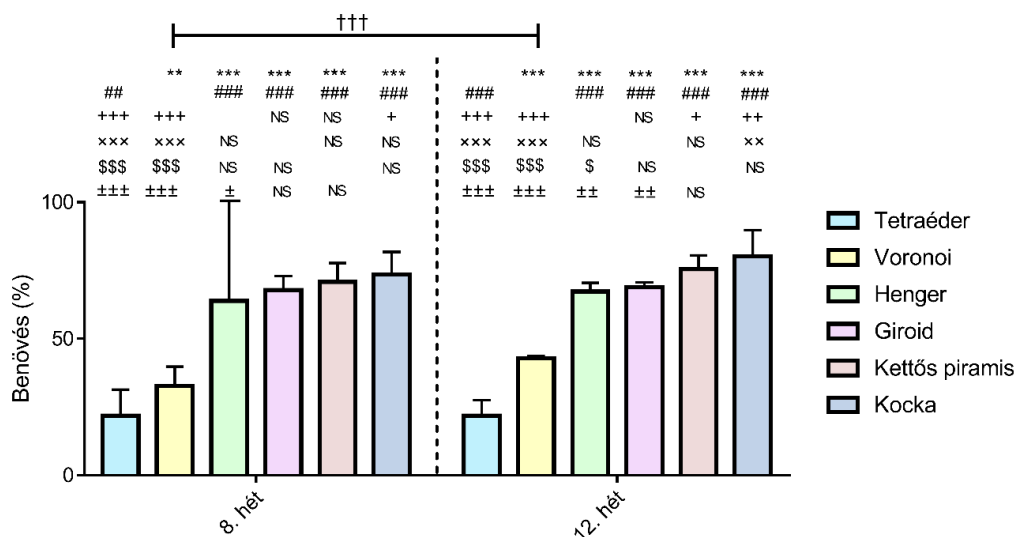
Továbbá a giroid és a kettős piramis között egyik időpontban sem találtunk szignifikáns különbséget (8. hét $p=0,857$; 12. hét $p=0,138$).

A giroid és a kocka rácsok között a 8. héten nem volt szignifikáns különbség ($p=0,423$), azonban a 12. héten már azt láttuk, hogy a kocka rács esetében a benövés szignifikánsan nagyobb volt ($p=0,01$).

Végül, a kettős piramis és a kocka rácsok között egyik időpontban sem volt szignifikáns különbség (8. hét $p=0,889$; 12. hét $p=0,443$).

A csontbeépülés szempontjából a leghatékonyabb rács típusok a következők voltak: giroid, kettős piramis és kocka. E három rács típus sorrendje mindkét vizsgált héten azonos volt, vagyis a terminálást követő 8. és 12. héten is igaz volt, így a második hipotézisünket is elvetettük (4.2.8. alfejezet).

Az időbeli összehasonlítás során csak a Voronoi rácstípus esetében volt szignifikáns különbség a 8. és a 12. hét között ($p < 0,001$), a többi rácstípus esetében nem volt szignifikáns különbség (tetraéder $p = 0,999$; hengeres $p = 0,648$; giroid $p = 0,999$; kettős piramis $p = 0,088$; kocka $p = 0,078$) (19. ábra).



Rácstípus	8. hét <i>p</i> -értékek						8. hét vs. 12. hét <i>p</i> -érték
Tetraéder							
Voronoi	0,005						0,999
Hengeres	<0,001	<0,001					<0,001
Gyroid	<0,001	<0,001	0,742				0,648
Kettős piramis	<0,001	<0,001	0,113	0,857			0,999
Kocka	<0,001	<0,001	0,037	0,423	0,889		0,088
			12. hét <i>p</i> -értékek				
Tetraéder		<0,001	<0,001	<0,001			0,999
Voronoi	<0,001		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Hengeres	<0,001	<0,001		0,995	0,044	0,003	0,648
Gyroid	<0,001	<0,001	0,995		0,138	0,010	0,999
Kettős piramis	<0,001	<0,001	0,044	0,138		0,443	0,088
Kocka	<0,001	<0,001	0,003	0,010	0,443		0,078

19. ábra A különböző rácstípusok közötti statisztikai különbségek a különböző időpontokban. Az adatokat átlag $\pm$ 95 %-os konfidenciaintervallum (95 % CI) formájában tüntettük fel.

A különböző rácscok összehasonlítását a 8. és 12. heti időpontokban */#/+/x/\$/±; **/##/++/xx/\$\$/±± és ***/###/+++/xxx/\$\$\$/±±± jelöli, ami statisztikailag szignifikáns különbségeket jelez $p < 0,05$, $p < 0,01$, és $p < 0,001$ (vs. tetraéder; # vs. Voronoi; + vs. hengeres; x vs. giroid; \$ vs. kettős piramis; ± vs. kocka). NS: nincs szignifikáns különbség. A 8. és 12. hét közötti statisztikailag szignifikáns különbséget ††† jelöli $p < 0,001$ esetén.

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

A tanulmány létrejöttét az az elképzelés motiválta, hogy olyan szintetikus anyagot találjunk, amelynek tribológiai tulajdonságai – túllépve a jelenlegi szabályozásokon – a legközelebb állnak az élő szervezetben előforduló kenőképesseggel rendelkező anyagokéhoz. Továbbá szerettünk volna konszenzusos javaslatot tenni több, reális mechanikai vizsgálat elvégzésére és a gyártók számára kötelezővé tenni a szükséges nyomaték értékek megadását a csavarokkal ellátott rúdra szerelt gerincimplantátumok beültetésének esetében.

A kenőképesseg a tribológia egyik legfontosabb aspektusa. A kenőanyagot általában arra használják, hogy távolságot tartsanak két tömör anyag között, és ezáltal megakadályozzák az egymással való közvetlen mechanikai érintkezést. Minél kisebb a kenőképesseg, annál nagyobb a vizsgált anyag kopása. Egy anyag kenőképessege nem mérhető közvetlenül, ráadásul jelentősen befolyásolják más tényezők is, mint például a felületek alakja, mikrogeometriája és kiterjedése, a kenőanyag viszkozitása és sűrűsége, valamint a hőmérséklet és a nyomás (84). A kenőanyagok kulcsszerepet játszhatnak az emberi testben összeszerelt gerincimplantátumok stabilitásában. A hátsó feltárásból behelyezett gerincimplantátumok különböző pedikuláris csavarokból és kampókból állnak, amelyek két hosszanti rúdhoz kapcsolódnak. A rudakra rögzülő gerincimplantátumok a deformitások korrekciója után jelentős terhelésnek vannak kitéve, amit az implantátum részeket egymáshoz rögzítő állítócsavarok szorítóereje kompenzál. A műtéti területen mind a rögzítő csavarok meglazulását, mind az implantátumoknak a rudakon való elcsúszását megkönnyíti a környezet nemkívánatos kenőképessege (85), továbbá ez összefüggésbe hozható a rögzítőcsavarok meglazulásával (86).

Az implantátumrendszerek elemeinek egymáshoz rögzítésének stabilitása igen lényeges tényező az implantátum funkciójának betöltése szempontjából (87,

88). Az implantátumgyártók általában megadják a rögzítőcsavarok meghúzási nyomatékának értékeit. Az elsődleges stabilitásméréseket többnyire az ASTM irányelvek szerint működő, akkreditált laboratóriumokban viszik véghez. A legtöbb tribológiai tesztelést szárazon, vagy sóoldatos közegben végzik (89, 90), és nem veszik figyelembe a környező emberi szövetek kenőképességét. Ezeket a vizsgálati módszereket a különböző kialakítású gerincmontázsok statikus és dinamikus mechanikai jellemzőinek számszerűsítésére használják. Az ASTM említi, hogy a szimulált testfolyadék vagy a fiziológiás sóoldat alkalmazásával végzett vizsgálatok súrlódást, korróziót okozhatnak, vagy kenhetik az összeköttetéseket, és ezáltal befolyásolhatják a vizsgált eszközök relatív teljesítményét (91, 92). A kapott eredmények azonban nem használhatók közvetlenül az *in vivo* teljesítmény előrejelzésére, mivel jelentősen eltérhetnek az intraoperatív környezetben kapott valós értékektől.

Az emberi szöveteknek számos rheológiai, mechanikai és tribológiai tulajdonságát határozták meg (93), de a kenőképességükkel kapcsolatos irodalom igen korlátozott. Az ortopéd sebészeti gyakorlatban a kenőképesség egyszerre pozitív és negatív szerepet is játszik. Bizonyos esetekben a fokozott kenőképesség előnyös tulajdonság, különösen az ízületpótló műtéteknél (94, 95). A számos összeköttetést tartalmazó gerincimplantátumok esetében azonban a kenőképesség kifejezetten káros lehet, a környező szövetek és a vér által okozott kenés a nagy viszkozitásuk miatt ezen implantátumok meglazulását eredményezheti. Az endoprotézisek kenéséről jelentős mennyiségű információ áll rendelkezésre (96, 97), a gerincimplantátumok fiziológiás körülmények között tesztelt stabilitásáról azonban szerény mennyiségű publikáció található.

Bár az elvégzett kísérleteink technikailag egyszerűek voltak, az eredmények azt mutatták, hogy a sebészeti területen található szövetek a vártnál nagyobb kenési tulajdonsággal rendelkeznek (98). Azokban az esetekben, amikor a gyártó nem adja meg a megfelelő csavarmeghúzáshoz szükséges nyomaték értékét, és a csavart nyomatékmérő nélkül húzzák meg, előfordulhat, hogy a nyomaték alacsony

lesz. Alacsony nyomaték értékeknél (2 Nm) ezeknek az implantátum-összekötéseknek a stabilitása jelentősen csökkent (10%).

Mindezek alapján tehát javasoljuk a stabilitási vizsgálatok nem csak száraz állapotban, hanem fiziológiai körülmények közötti elvégzését is. Ezek a vizsgálatok, a mi teszteléseink alapján kapott eredmények tükrében a Castrol GTX3 olajjal elvégezhetők, mivel annak kenőképessége hasonló a sebészeti beavatkozások területén található emberi szövetek kenőképességéhez. Így a stabilitási vizsgálatok könnyen elvégezhetők emberi szövetek analízise nélkül, elkerülve ezzel az etikai és kapcsolódó közegészségügyi jellegű aggályokat, mint például az emberi eredetű mintákhoz való hozzáférés, tárolás, valamint a felhasználásukhoz szükséges hozzájárulás megszerzésével kapcsolatosan felmerülő problémák.

6.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata

Az implantátumokkal szemben támasztott követelmények a testrésztől és az alkalmazás céljától függően változhatnak. Az endoprotézisek esetében kívánatos az implantátum fúziója csontbenövés által. Ilyen esetekben a csontnövekedést elősegítő felszín kialakításának lényeges szerepe van. A közelmúltban végzett tanulmányokban (45, 47, 57, 58, 99-101) egyre inkább elterjedt a különböző rácsszerkezetek alkalmazása, különösen a 3D nyomtatással előállítható egyedi implantátumok esetében. A csontnövekedés szempontjából ideális rácsméret a szakirodalomban megtalálható vonatkozó tanulmányok alapján meglehetősen egyértelműen meghatározható (51-55, 57, 58). A rács alakjának hatása a csontnövekedésre azonban még mindig sok megválaszolatlan kérdést hagy maga után, mely tény motiválta kutatásunkat.

Tanulmányunkban az irodalomban található kísérletektől részben eltérő megközelítést és módszereket alkalmaztunk. Egyszerre hat különböző rácsformát vizsgáltunk (giroid, kocka, henger, tetraéder, kettős piramis, Voronoi), 12 hetes követési idővel, az implantátumokat a combcsont terheletlen területére ültettük be.

Eredményeink összhangban vannak a szakirodalom hasonló tanulmányaiban közölt eredményekkel, de számos új felismeréssel is szolgálnak. Kísérleteink alapján kijelenthetjük, hogy a különféle rácsformák között jelentős különbségek vannak a csontbeépülési hatékonyság tekintetében. Megállapítottuk, hogy az *in vivo* fémrácsos környezetben történő csontnövekedéskor lezajló folyamatok során vannak olyan tényezők, amelyek a kerek és megközelítőleg kerek alakú üregek, például a giroid, a kettős piramis és a kocka rács típusok esetében jelentősebb mértékű csontbeépülést okoznak (102). Ez az eredmény hasonló Deng következtetéséhez, aki azt találta, hogy a megközelítőleg kör alakú gyémánt rács alakja mutatta a legjobb strukturális csontnövekedést (103).

A 3D nyomtatóval előállított rácsszerkezetekkel kapcsolatban elsősorban morfológiai, mechanikai, véges elemes elemzések születtek, ahol a szerzők különböző formák szilárdságát vizsgálták (45, 104-108). Több szerző is vizsgálta a pórusméret hatását a csontbeépülésre (43, 48, 49, 51-60). E tekintetben az ő munkájuk alapján választottuk a 600 µm-es méretet, amely a kísérletek során helyes választásnak bizonyult (1. táblázat) (43, 48, 49, 51-60).

Kevesebb olyan tanulmány van, amely a csontok *in vivo* benövési hatékonyságát ismerteti. Bár a követési idők eltérnek (4-8 hét vs. 8-12 hét), Arabnejad munkája is azt mutatja, hogy az egyes rácsformák csontbeépülésében jelentős különbségek vannak, míg a csontbeépülési értékek hasonlóak a mi eredményeinkhez (109). Chen és munkatársai patkányokkal kísérleteztek, ahol a minták mérete olyan kicsi az emberi implantátumokhoz és pórusméretekhez képest, hogy nehéz a csontbeépülés helyes megítélése (110). Van Bael kutatásában többféle rácsformát tesztelt, a csontbenövési képességek közötti különbségeket ebben a munkában is hasonlóan találták (58), mint mi, de *in vivo* kutatások nélkül. Biemond és munkatársai csak két különböző rácsot vizsgáltak, de a mi eredményeinkhez hasonlóan a kocka alakú rács hat hét után pozitív eredményeket mutatott (111).

Kísérleteink eredményei alapján az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

- A 3D nyomtatással készített Ti6Al4V implantátumok rácsszerkezetének alakja nagy hatással van a csontbeépülésre. A kör alakú és a megközelítőleg kör alakú üregeket tartalmazó rácsszerkezetek – azaz a giroid, a kettős piramis és a kocka – elősegítik a nagyobb, hatékonyabb csontbeépülést.
- A statisztika és a klasszikus szövettani feldolgozás eredményei megerősítik, hogy az általunk újonnan kifejlesztett képfeldolgozó algoritmus alkalmas a csontnövekedés mértékének pontos és precíz meghatározására.
- A legjobb eredményt mutató rácsformák esetében 12 hét elteltével jelentősen magasabb csontbeépülési arány (60-80%) mutatható ki.

7. ÚJ EREDMÉNYEIM

7.1. Implantátumok biotribológiai vizsgálata

- a) Kidolgoztuk a relatív kenőképességhez és az implantátumok stabilitásméréséhez szükséges kísérletei módszereket. A kísérlek elvégzése után kapott eredményeket statisztikai analízisnek vetettük alá.
- b) Javaslatot tettünk az ASTM F1798-97(2008) szabvány kiegészítésére; a tesztelésekhez motorolaj használatára, mely egységesíthetné, és a valóságoshoz közelíthetné az *in vitro* mechanikai tesztek eredményeit.

7.2. Különféle rácsos szerkezetű próbatestek vizsgálata

- a) Az irodalomban fellelhető, már vizsgált rácstípusokon kívül egyéni elgondolásunkból merítkezve saját rácstípusokat is a kutatásba vontunk.
- b) Kidolgoztuk az állatkísérlethez szükséges, egyszer használatos, sterilizálható, univerzális célzó készüléket.
- c) A műtéti technikát új megközelítésben alkalmaztuk: az implantátumokat a juhok combcsontjának terheletlen területére helyeztük be.
- d) Újszerű módon a vízvágás módszerét alkalmaztuk a csontos femur condylus darabok hosszanti metszeteinek kialakításához.
- e) Létrehoztunk az Debreceni Egyetem Informatikai Karral együttműködésben egy olyan automatizált számítógépes képfeldolgozó algoritmust, mely alkalmas az implantátumokról készült mikroszkópos felvételeken megjelenő újonnan nőtt csontszövet mennyiségi értékelésére.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

A disszertációm két témarészét összekötő közös elem az élő környezetben elhelyezett fémek hatásának elemzése. A dolgozat első felében a gerincimplantátum stabilitás vizsgálatairól számoltam be. A számos összeköttetést tartalmazó gerincimplantátumok stabilitásvizsgálata a tervezéstől az anyagválasztásig több tényezőtől függ, valamint vannak fontos biotribológiai vizsgálati paraméterek is (pl. kinematika és terhelés), amelyek jelentősen befolyásolhatják egy adott stabilitási vizsgálat eredményét. Az implantátumvizsgálati szabványok és útmutató leírások sok nyitott kérdést hagynak maguk után, melyek miatt lényeges az *in vitro* vizsgálati módszer összehasonlítása az *in vivo* módszerrel, hiszen a vizsgálati eredmények helyes értékelése a montázsok meglazulásának elkerüléséhez vezethet. Célunk volt egy olyan ipari kenőanyag megtalálása, melynek használata egységesíthetné, és a valóságoshoz közelíthetné az *in vitro* mechanikai tesztek módszereit. Eredményeink tükrében javaslatként fogalmaztuk meg egy kereskedelmi forgalomban lévő motorolaj használatát a mechanikai vizsgálatokhoz.

A dolgozat második részében az általunk tervezett és 3D nyomtatással előállított rácsos szerkezetű implantátumok biológiai, csontos környezetben való viselkedésének analízisét mutattam be. Hat különböző rácsszerkezetet vizsgáltunk (giroid, kocka, henger, tetraéder, kettős piramis, Voronoi) állatkísérlet keretében juhokon. Az implantátumokat Ti6Al4V ötvözetből, DMLS 3D nyomtatási technológiával állítottuk elő. Mechanikai, szövettani és képfeldolgozási elemzéseket végeztünk a mintákon. A mintákat újszerű vízsugaras módszerrel vágtuk, és az általunk fejlesztett képfeldolgozó algoritmusunk eredményeit statisztikailag értékelve, valamint a klasszikus szövettani feldolgozás eredményeivel is alátámasztva arra jutottunk, hogy a digitálisan szegmentált területek alapján a csontbenövés mértéke pontosan számszerűsíthető. A hatféle rácsalak csontbenövési eredményességét a fentebbiek értelmében rangsoroltuk: a giroid, kettős piramis

és kocka alakú rácsokat tartalmazó implantátumokba nőtt be a legnagyobb mértékben egységnyi idő alatt a csontszövet. Ezen három rács típus sorrendisége az eltelt idő tekintetében is azonos volt, azaz mind az exterminalás utáni 8., mind a 12. héten is igaznak bizonyult. Az irodalomban több helyen jó csontbenövési értékekkel jellemzett kocka rácsalak mellett a giroid és kettős piramis rács típusok is hasonlóan jó eredményekkel szerepeltek.

9. SUMMARY

The common element linking the two parts of my dissertation is the analysis of the impact of metals in the living environment. In the first part of the thesis, I reported on studies of spinal implant stability. Stability testing of spinal implants with numerous connections depends on several factors from design to material approval, and there are also important biotribological testing parameters (e.g. kinematics and loading) that can significantly influence the outcome of a given stability test. The implant testing standards and guideline descriptions leave many open questions, which make it essential to compare the *in vitro* test method with the *in vivo* method, as a correct evaluation of the test results can lead to avoiding loosening of the montages. Our aim was to find an industrial lubricant that could be used to standardise and approximate to the real *in vitro* mechanical test methods. In the view of our results, we have proposed the use of a commercially available engine oil for mechanical testing.

In the second part of the thesis, I presented an analysis of the behaviour of our designed and 3D printed lattice implants in a biological, bony environment. Six different lattice structures (giroid, cube, cylinder, tetrahedron, double pyramid, Voronoi) were tested in sheep in animal experiments. The implants were fabricated from Ti6Al4V alloy using DMLS 3D printing technology. Mechanical, histological and image processing analyses were performed on the samples. The samples were cut using a novel waterjet method. By statistically evaluating the results of our image processing algorithm and confirming them with the results of classical histological processing, we conclude that digitally segmented areas accurately quantify the rate of bone ingrowth. The bone ingrowth efficiency of the six types of grids was ranked as described above: implants containing giroid, double pyramid and cubic lattices showed the highest bone ingrowth per unit time. The ordering of these three grid types was also identical in terms of elapsed time, i.e. it was true for both the 8th and 12th week after extermination. In addition to the cubic lattices, which have been described in the literature with

good bone ingrowth values, the giroid and double pyramid lattice types also showed similarly good results.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek Dr. Manó Sándornak, a Debreceni Egyetem Ortopédiai és Traumatológiai Tanszékhez tartozó Biomechanikai Laboratórium tudományos munkatársának a munkám során nyújtott rengeteg szakmai, gyakorlati és emberi iránymutatásért, támogatásért.

Köszönettel tartozom a közelmúltban elhunyt Prof. Dr. Csernátony Zoltánnak, a Debreceni Egyetem Ortopédiai és Traumatológiai Tanszék és Klinika igazgatójának és a Biomechanikai Laboratórium vezetőjének, amiért lehetővé tette bekapcsolódásomat a Biomechanikai Laboratóriumban folyó munkába és dolgoztam elkészültét is. Értékes meglátásaival és tanácsaival támogatta előrehaladásomat.

Köszöntettel tartozom Prof. Dr. Méhes Gábornak, a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Pathológiai Intézet igazgatójának és egyetemi tanárának a csontos implantátum minták hisztomorfológiai vizsgálatában és elemzésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm Prof. Dr. Németh Norbertnek, a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Tanszék tanszékvezetőjének és Dr. Deák Ádámnak, a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Tanszék adjunktusának az állatkísérlet tervezésével, végrehajtásával kapcsolatos tanácsaikat, segítségüket.

Köszönet illeti Dr. Szabó Dánielt, az Ortopédiai és Traumatológiai Klinika szakorvosát az állatkísérletek végrehajtásában való segítségéért.

Köszönet illeti Dr. Szabó Jánost, az Ortopédiai és Traumatológiai Tanszék és Klinika adjunktusát értékes és fontos szakmai tanácsaiért és javaslataiért a dolgozat végleges formába öntésének folyamatában.

Köszönet illeti Dr. Braun Mihályt az Isotoptech Zrt. munkatársát a csontos implantátum minták szövettani feldolgozása során szakmai és gyakorlati tudásom gyarapításáért, támogatásáért, valamint Veres Mihályt, az Isotoptech Zrt. vezetőjét a kutatás eszközparkkal való támogatásáért.

Köszönöm Dr. Harangi Balázsnak, a Debreceni Egyetem, Informatikai Kar, Adattudomány és Vizualizáció Tanszék egyetemi docensének és Serbán Norbert PhD hallgatónak segítségüket és aktív közreműködésüket a képalkotó algoritmussal kapcsolatos ötletünk továbbfejlesztésében és megvalósításában.

Köszönet illeti Prof. Dr. Husi Gézát, a Debreceni Egyetem Műszaki Kar, Villamosmérnöki és Mechatronikai Tanszék dékánját, és Dr. Tiba Zsoltot, a Debreceni Egyetem Műszaki Kar, Járműmérnöki Tanszék oktatóját a kenőanyagok biotriológiai vizsgálata során nyújtott számos hasznos tanácsért és közreműködésükért.

Hálás köszönet Dr. Janka Eszter Anna statisztikusnak számos hasznos tanácsáért, gyakorlati meglátásaiért.

Köszönet illeti Falk Györgyöt, a Varinex Zrt. igazgatóját, a GINOP 2.2.1-15.2017-00055 kódszámú pályázat konzorciumi vezetőjét, amiért a Biomechanika Laboratóriumot bevonta a kutatás megvalósításába.

Köszönet a Biomechanikai Laboratórium munkatársainak munkám segítségéért.

Köszönöm a családomnak és a barátaimnak a tanulmányaim hosszú éveit alatt felém tanúsított támogatásukat és megértésüket.

Doktori értekezésem a GINOP 2.2.1-15.2017-00055 kódszámú pályázatának támogatásával készült el.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Brencsán J. Brencsán Orvosi szótár. Negyedik, átdolgozott, bővített kiadás ed. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt.; 2007.
2. Dowson D, Wright V. Bio-tribology. Proceeding of the Conference on the Rheology of Lubrication, The Institute of Petroleum, The Institution of Mechanical Engineers, and the British Society of Rheology; London 1973. p. 81-8.
3. Dowson D, Neville A. Bio-tribology and bio-mimetics in the operating environment. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology. 2006;220(3):109-23.
4. Szabó I. Csípőprotézis típusai Oct 25, 2019, cited: 2023 Dec 12 [Available from: <https://drszaboistvan.hu/2019/10/25/csipoprotezis-tipusai>].
5. Zhou ZR, Jin ZM. Biotribology: Recent progresses and future perspectives. Biosurface and Biotribology. 2015;1(1):3-24.
6. ASTM F1798 - 97(2008) Standard Guide for Evaluating the Static and Fatigue Properties of Interconnection Mechanisms and Subassemblies Used in Spinal Arthrodesis Implants. West Conshohocken, PA.2008.
7. Moss SG, Schweitzer ME, Jacobson JA, Brossmann J, Lombardi JV, Dellose SM, et al. Hip joint fluid: detection and distribution at MR imaging and US with cadaveric correlation Radiology. 1998;208(1):43-8.
8. Meng Q, Wang J, Yang P, Jin Z, Fisher J. The lubrication performance of the ceramic-on-ceramic hip implant under starved conditions. J Mech Behav Biomed Mater. 2015;50:70-6.

9. Yarimitsu S, Sasaki S, Murakami T, Suzuki A. Evaluation of lubrication properties of hydrogel artificial cartilage materials for joint prosthesis. *Biosurface and Biotribology*. 2016;2(1):40-7.
10. Sapawe N, Farhan Hanafi M, Samion S. The Use of Palm Oil as New Alternative Biolubricant for Improving Anti-Friction and Anti-Wear Properties. *Materials Today: Proceedings*. 2019;19:1126-35.
11. Rahman MH, Warneke H, Webbert H, Rodriguez J, Austin E, Tokunaga K, et al. Water-Based Lubricants: Development, Properties, and Performances. *Lubricants*. 2021;9(8):73.
12. Myant C, Cann P. On the matter of synovial fluid lubrication: implications for Metal-on-Metal hip tribology. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2014;34:338-48.
13. Zhang J, Kuang Z. Study on blood constitutive parameters in different blood constitutive equations. *Journal of Biomechanics*. 2000;33:355-60.
14. Xie D, Leng YX, Jing FJ, Huang N. A brief review of bio-tribology in cardiovascular devices. *Biosurface and Biotribology*. 2015;1(4):249-62.
15. Chen J, Tan L, Yu X, Etim IP, Ibrahim M, Yang K. Mechanical properties of magnesium alloys for medical application: A review. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2018;87:68-79.
16. Josse J, Valour F, Maali Y, Diot A, Batailler C, Ferry T, et al. Interaction Between Staphylococcal Biofilm and Bone: How Does the Presence of Biofilm Promote Prosthesis Loosening? *Front Microbiol*. 2019;10:1602.
17. Research and Markets. Global Orthopedic Surgery Market Report 2017 to 2022. Procedure Volume Trends by Type C, and Region. Internet Aug 13, 2019, cited: 2023 Nov 28 [Available from: <https://www.globenewswire.com/news-release/2019/08/13/1901268/0/en/Global-Orthopedic-Surgery-Market->

[Report-2017-to-2022-Procedure-Volume-Trends-by-Type-Country-and-Region.html](#).

18. Kravanja KA, Finšgar M. A review of techniques for the application of bioactive coatings on metal-based implants to achieve controlled release of active ingredients. *Materials & Design*. 2022;217:110653.
19. Wu Z, Chan B, Low J, Chu JJH, Hey HWD, Tay A. Microbial resistance to nanotechnologies: An important but understudied consideration using antimicrobial nanotechnologies in orthopaedic implants. *Bioact Mater*. 2022;16:249-70.
20. Aggarwal D, Kumar V, Sharma S. Drug-loaded biomaterials for orthopedic applications: A review. *J Control Release*. 2022;344:113-33.
21. Chevalier J, Gremillard L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. *Journal of the European Ceramic Society*. 2009;29(7):1245-55.
22. Choi SR, Kwon JW, Suk KS, Kim HS, Moon SH, Park SY, et al. The Clinical Use of Osteobiologic and Metallic Biomaterials in Orthopedic Surgery: The Present and the Future. *Materials (Basel)*. 2023;16(10).
23. Meng M, Wang J, Huang H, Liu X, Zhang J, Li Z. 3D printing metal implants in orthopedic surgery: Methods, applications and future prospects. *Journal of Orthopaedic Translation*. 2023;42:94-112.
24. Ryan G, Pandit A, Apatsidis DP. Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications. *Biomaterials*. 2006;27(13):2651-70.
25. Lin X, Xiao X, Wang Y, Gu C, Wang C, Chen J, et al. Biocompatibility of Bespoke 3D-Printed Titanium Alloy Plates for Treating Acetabular Fractures. *Biomed Res Int*. 2018;2018:2053486.

26. Li F, Li J, Xu G, Liu G, Kou H, Zhou L. Fabrication, pore structure and compressive behavior of anisotropic porous titanium for human trabecular bone implant applications. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;46:104-14.
27. Torres Y, Lascano S, Bris J, Pavon J, Rodriguez JA. Development of porous titanium for biomedical applications: A comparison between loose sintering and space-holder techniques. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014;37:148-55.
28. Colombo P, Dunand DC, Kumar V. Porous materials: Less is more. *Journal of Materials Research.* 2013;28(17):2187-90.
29. Bazsó T, Manó S. A zsanéros térdízületi protézisek biomechanikájáról. *Biomechanica Hungarica.* 2011;IV(2):24-35.
30. Hua K, Rocha I, Zhang P, Gustafsson S, Ning Y, Stromme M, et al. Transition from Bioinert to Bioactive Material by Tailoring the Biological Cell Response to Carboxylated Nanocellulose. *Biomacromolecules.* 2016;17(3):1224-33.
31. Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science.* 2009;54(3):397-425.
32. Sargeant A, Goswami T. Hip implants: Paper V. Physiological effects. *Materials and Design.* 2006;27:287-307.
33. Fary C, Thomas GE, Taylor A, Beard D, Carr A, Glyn-Jones S. Diagnosing and investigating adverse reactions in metal on metal hip implants. *British Medical Journal.* 2011;343:1218-22.
34. Barba T, Wach J, Lustig S, Laurent F, Devouassoux-Shisheboran M, Valour F, et al. Metallosis-associated prosthetic joint infection. *Med Mal Infect.* 2015;45(11-12):484-7.

35. Viceconti M., Muccini R, Bernakiewicz M, Baleani M, Cristofolini L. Large-sliding contact elements accurately predict levels of bone}implant micromotion relevant to osseointegration. *Journal of Biomechanics*. 2000;33:1611-18.
36. Papp I, Papp SH, Szinetár L. Csontépítő és csontbontó remodelling folyamatok. *Osteologiai Közlemények*. 2020:71-6.
37. Jimi E, Hirata S, Osawa K, Terashita M, Kitamura C, Fukushima H. The current and future therapies of bone regeneration to repair bone defects. *International Journal of Dentistry*. 2012:1-7.
38. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med*. 2013;19(2):179-92.
39. Archibeck M, Jacobs J, Roebuck K, Glant T. The basic science of periprosthetic osteolysis. *Instr Course Lect*. 2001;50:185-95.
40. Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, Hallab NJ, Glant TT. Osteolysis: basic science. *Clin Orthop Relat Res*. 2001(393):71-7.
41. Shanbhag A, Jacobs J, Black J, Galante J, Glant TT, . Effects of particles on fibroblast proliferation and bone resorption in vitro. *Clin Orthop Relat Res*. 1997(342):205-17.
42. Dunand DC. Processing of Titanium Foams. *Advanced Engineering Materials*. 2004;6(6):369-76.
43. Marin E, Fedrizzi L, Zagra L. Porous metallic structures for orthopaedic applications: a short review of materials and technologies. *European Orthopaedics and Traumatology*. 2010;1(3-4):103-9.
44. Murr LE, Amato KN, Li SJ, Tian YX, Cheng XY, Gaytan SM, et al. Microstructure and mechanical properties of open-cellular biomaterials

prototypes for total knee replacement implants fabricated by electron beam melting. J Mech Behav Biomed Mater. 2011;4(7):1396-411.

45. Wang C, Sun B, Zhang Y, Wang C, Yang G. Design of a Novel Trabecular Acetabular Cup and Selective Laser Melting Fabrication. Materials 2022;15(17).

46. Tao P, Zhong J, Li H, Hu Q, Gong S, Xu Q. Microstructure, Mechanical Properties, and Constitutive Models for Ti-6Al-4V Alloy Fabricated by Selective Laser Melting (SLM). Materials. 2019;9(4):447.

47. Parthasarathy J, Starly B, Raman S, Christensen A. Mechanical evaluation of porous titanium (Ti6Al4V) structures with electron beam melting (EBM). J Mech Behav Biomed Mater. 2010;3(3):249-59.

48. Frosch KH, Sondergeld I, Dresing K, Rudy T, Lohmann CH, Rabba J, et al. Autologous osteoblasts enhance osseointegration of porous titanium implants. Journal of Orthopaedic Research. 2003;21(2):213-23.

49. Nouri A, Hodgson PD, Wen C. Biomimetic Porous Titanium Scaffolds for Orthopedic and Dental Applications. Biomimetics Learning from Nature 2010. p. 415-50.

50. Stepniewski AS, Egawa H, Sychterz-Terefenko C, Leung S, Engh CA, Sr. Periacetabular bone density after total hip arthroplasty a postmortem analysis. J Arthroplasty. 2008;23(4):593-9.

51. Chang B, Song W, Han T, Yan J, Li F, Zhao L, et al. Influence of pore size of porous titanium fabricated by vacuum diffusion bonding of titanium meshes on cell penetration and bone ingrowth. Acta Biomater. 2016;33:311-21.

52. Luo C, Wang C, Wu X, Xie X, Wang C, Zhao C, et al. Influence of porous tantalum scaffold pore size on osteogenesis and osteointegration: A comprehensive study based on 3D-printing technology. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2021;129:112382.

53. Karageorgiou V, Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials*. 2005;26(27):5474-91.
54. Fukuda A, Takemoto M, Saito T, Fujibayashi S, Neo M, Pattanayak DK, et al. Osteoinduction of porous Ti implants with a channel structure fabricated by selective laser melting. *Acta Biomater*. 2011;7(5):2327-36.
55. Ran Q, Yang W, Hu Y, Shen X, Yu Y, Xiang Y, et al. Osteogenesis of 3D printed porous Ti6Al4V implants with different pore sizes. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2018;84:1-11.
56. Buj-Corral I, Bagheri A, Petit-Rojo O. 3D Printing of Porous Scaffolds with Controlled Porosity and Pore Size Values. *Materials* 2018;11(9).
57. Taniguchi N, Fujibayashi S, Takemoto M, Sasaki K, Otsuki B, Nakamura T, et al. Effect of pore size on bone ingrowth into porous titanium implants fabricated by additive manufacturing: An in vivo experiment. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2016;59:690-701.
58. Van Bael S, Chai YC, Truscetto S, Moesen M, Kerckhofs G, Van Oosterwyck H, et al. The effect of pore geometry on the in vitro biological behavior of human periosteum-derived cells seeded on selective laser-melted Ti6Al4V bone scaffolds. *Acta Biomater*. 2012;8(7):2824-34.
59. Lim HK, Ryu M, Woo SH, Song IS, Choi YJ, Lee UL. Bone Conduction Capacity of Highly Porous 3D-Printed Titanium Scaffolds Based on Different Pore Designs. *Materials (Basel)*. 2021;14(14).
60. Sharp R, Pelletier MH, Walsh WR, Kelly CN, Gall K. Corrosion Resistance of 3D Printed Ti6Al4V Gyroid Lattices with Varying Porosity. *Genes (Basel)*. 2022;15:1-15.
61. Tiba Z, Husi G, Manó S, Kiss L, Jónás Z, Nádházi L, et al. An easy to use device for lubricity examination. *Biomechanica Hungarica*. 2009;II(2):27-30.

62. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*. 2006;27(15):2907-15.
63. Mellinger P. Self-limiting set screw for use with spinal implant system. 1997.
64. Jamsa T, Rho J-Y, Fan Z, MacKay CA, Marks Jr. SC, Tuukkanen J. Mechanical properties in long bones of rat osteopetrotic mutations. *Journal of Biomechanics*. 2002;35:161-5.
65. Vanleene M, Rey C, Ho Ba Tho MC. Relationships between density and Young's modulus with microporosity and physico-chemical properties of Wistar rat cortical bone from growth to senescence. *Med Eng Phys*. 2008;30(8):1049-56.
66. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*. 2007;13:1-10.
67. Schneider OD, Mohn D, Fuhrer R, Klein K, Kämpf K, Nuss KMR, et al. Biocompatibility and Bone Formation of Flexible, Cotton Wool-like PLGA/Calcium Phosphate Nanocomposites in Sheep. *The Open Orthopaedics Journal*. 2011;5:63-71.
68. van der Pol U, Mathieu L, Zeiter S, Bourban PE, Zambelli PY, Pearce SG, et al. Augmentation of bone defect healing using a new biocomposite scaffold: an in vivo study in sheep. *Acta Biomater*. 2010;6(9):3755-62.
69. von Doernberg MC, von Rechenberg B, Böhner M, Grunenfelder S, van Lenthe GH, Müller R, et al. In vivo behavior of calcium phosphate scaffolds with four different pore sizes. *Biomaterials*. 2006;27(30):5186-98.
70. Lavrador C, Mascarenhas R, Coelho P, Brites C, Pereira A, Gogolewski S. Elastomeric enriched biodegradable polyurethane sponges for critical bone

defects: a successful case study reducing donor site morbidity. *J Mater Sci Mater Med.* 2016;27(3):61.

71. Ferguson VL. Deformation partitioning provides insight into elastic, plastic, and viscous contributions to bone material behavior. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2009;2(4):364-74.

72. Isaksson H, Malkiewicz M, Nowak R, Helminen HJ, Jurvelin JS. Rabbit cortical bone tissue increases its elastic stiffness but becomes less viscoelastic with age. *Bone.* 2010;47(6):1030-8.

73. Reis E, Borges A, Fonseca C, Martinez M, Eleotério R, Morato G, et al. Biocompatibility, Osteointegration, Osteoconduction, and Biodegradation of a Hydroxyapatite-polyhydroxybutyrate Composite. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 2010;53:817-26.

74. Wang XJ, Chen XB, Hodgson PD, Wen CE. Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bovine bone measured by nanoindentation. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China.* 2006;16:s744-s8.

75. Yamamoto K, Nakatsuji T, Yaoi Y, Yamato Y, Yanagitani T, Matsukawa M, et al. Relationships between the anisotropy of longitudinal wave velocity and hydroxyapatite crystallite orientation in bovine cortical bone. *Ultrasonics.* 2012;52(3):377-86.

76. Csernátó Z, Kovács ÁÉ, Csámer L, Zhang L, Manó S. Állatkísérleti modell kidolgozása rácsos mikroszerkezetű titán implantátumok értékelésére. *Biomechanica Hungarica.* 2020;13(1):17-28.

77. Atayde LM, Cortez PP, Pereira T, Armada-da-Silva PA, Afonso A, Lopes MA, et al. A new sheep model with automatized analysis of biomaterial-induced bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med.* 2014;25(8):1885-901.

78. Pobloth AM, Johnson KA, Schell H, Kolarczik N, Wulsten D, Duda GN, et al. Establishment of a preclinical ovine screening model for the investigation of bone tissue engineering strategies in cancellous and cortical bone defects. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17:111.
79. Pobloth AM, Mersiowsky MJ, Kliemt L, Schell H, Dienelt A, Pfitzner BM, et al. Bioactive coating of zirconia toughened alumina ceramic implants improves cancellous osseointegration. *Sci Rep.* 2019;9(1):16692.
80. Glasbey CA. An analysis of histogram based thresholding algorithms. *CVGIP: Graphical Models and Image Processing.* 1993;55(6):532-7.
81. Sobel I, Feldman G. An isotropic 3x3 image gradient operator. 1990.
82. Chan T, Vese L. An active contour model without edges. *Scale-Space Theories in Computer Vision* 1999. p. 141-51.
83. Roberts LG. Machine perception of three dimensional solids. *Computer methods in image analysis.* The institute of electrical and electronics engineers, Inc. New York ed1980. p. 285-323.
84. Wong PL, Wang R, Lingard S. Pressure and temperature dependence of the density of liquid lubricants. *Wear.* 1996;201(1-2):58-63.
85. Okamoto T, Neo M, Fujibayashi S, Ito H, Takemoto M, Nakamura T. Mechanical implant failure in posterior cervical spine fusion. *Eur Spine J.* 2012;21(2):328-34.
86. Yao Y, Yuan H, Huang H, Liu J, Wang L, Fan Y. Biomechanical design and analysis of auxetic pedicle screw to resist loosening. *Comput Biol Med.* 2021;133:104386.

87. Kwok AWL, Finkelstein JA, Woodside T, Hearn TC, Hu RW. Insertional torque and pull-out strengths of conical and cylindrical pedicle screws in cadaveric bone. *Spine*. 1996;21(21):2429-34.
88. Mueller TL, van Lenthe GH, Stauber M, Gratzke C, Eckstein F, Muller R. Regional, age and gender differences in architectural measures of bone quality and their correlation to bone mechanical competence in the human radius of an elderly population. *Bone*. 2009;45(5):882-91.
89. Trunfio-Sfarghiu AM, Berthier Y, Meurisse MH, Rieu JP. Multiscale analysis of the tribological role of the molecular assemblies of synovial fluid. Case of a healthy joint and implants. *Tribology International*. 2007;40(10-12):1500-15.
90. Wang A, Essner A, G. S. The effects of lubricant composition on in vitro wear testing of polymetric acetabular components. *Wiley Periodical*. 2003:45-52.
91. ASTM. F1717-15 Standard test methods for spinal implant constructs in a vertebrectomy model West Conshohocken (PA): ASTM International; 2015.
92. ASTM. F2193 – 14 (2014) Standard Specifications and Test Methods for Components Used in the Surgical Fixation of the Spinal Skeletal System. West Conshohocken, PA.: ASTM International; 2014.
93. Abé H, Hayashi K, Sato M. Data Book on Mechanical Properties of Living Cells, Tissues, and Organs. 1996. p. 291-362.
94. Stotter C, Stojanovic B, Bauer C, Rodriguez Ripoll M, Franek F, Klestil T, et al. Effects of Loading Conditions on Articular Cartilage in a Metal-on-Cartilage Pairing. *J Orthop Res*. 2019;37(12):2531-9.
95. Seror J, Merkher Y, Kampf N, Collinson L, Day AJ, Maroudas A, et al. Normal and shear interactions between hyaluronan-aggreacan complexes mimicking

possible boundary lubricants in articular cartilage in synovial joints. *Biomacromolecules*. 2012;13(11):3823-32.

96. Kyomoto M, Moro T, Saiga K, Miyaji F, Kawaguchi H, Takatori Y, et al. Lubricity and stability of poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) polymer layer on Co-Cr-Mo surface for hemi-arthroplasty to prevent degeneration of articular cartilage. *Biomaterials*. 2010;31(4):658-68.

97. Gispert MP, Serro AP, Colaço R, Saramago B. Friction and wear mechanisms in hip prosthesis: Comparison of joint materials behaviour in several lubricants. *Wear*. 2006;260(1-2):149-58.

98. Csernátóny Z, Manó S, Tiba Z, Husi G, Jónás Z, Váradi T, et al. Critical analysis of in vitro stability testing of spinal implants and proposal for standardization. *Expert Review of Medical Devices*. 2022;19(3):281-6.

99. Maconachie T, Leary M, Lozanovski B, Zhang X, Qian M, Faruque O, et al. SLM lattice structures: Properties, performance, applications and challenges. *Materials & Design*. 2019;183:108137.

100. Kelly CN, Wang T, Crowley J, Wills D, Pelletier MH, Westrick ER, et al. High-strength, porous additively manufactured implants with optimized mechanical osseointegration. *Biomaterials*. 2021;279:121206.

101. Derby B. Printing and prototyping of tissues and scaffolds. *Science*. 2012;338(6109):921-6.

102. Kovács ÁÉ, Csernátóny Z, Csámer L, Méhes G, Szabó D, Veres M, et al. Comparative Analysis of Bone Ingrowth in 3D-Printed Titanium Lattice Structures with Different Patterns. *Materials*. 2023;16:1-16.

103. Deng F, Liu L, Li Z, Liu J. 3D printed Ti6Al4V bone scaffolds with different pore structure effects on bone ingrowth. *J Biol Eng*. 2021;15(1):4.

104. Vafaeefer M, Moerman KM, Kavousi M, Vaughan TJ. A morphological, topological and mechanical investigation of gyroid, spinodoid and dual-lattice algorithms as structural models of trabecular bone. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2023;138:105584.
105. Park K, Min K, Roh Y. Design Optimization of Lattice Structures under Compression: Study of Unit Cell Types and Cell Arrangements. *Materials* 2022;15(97):1-21.
106. Bogusz P, Poplawski A, Stankiewicz M, Kowalski B. Experimental Research of Selected Lattice Structures Developed with 3D Printing Technology. *Materials (Basel).* 2022;15(1):1-18.
107. Kladovasilakis N, Tsongas K, Karalekas D, Tzetzis D. Architected materials for Additive Manufacturing: A Comprehensive Review. *Materials.* 2022;15(5919):1-18.
108. Tseng S-F, Wang IH, Chang C-M, Lee C-C, Yeh D-Y, Chen T-W, et al. Mechanical characteristic comparison of additively manufactured Ti-6Al-4V lattice structures in biocompatible bone tissue growth. *Materials Science and Engineering: A.* 2022;857:144045.
109. Arabnejad S, Burnett Johnston R, Pura JA, Singh B, Tanzer M, Pasini D. High-strength porous biomaterials for bone replacement: A strategy to assess the interplay between cell morphology, mechanical properties, bone ingrowth and manufacturing constraints. *Acta Biomater.* 2016;30:345-56.
110. Chen Z, Yan X, Yin S, Liu L, Liu X, Zhao G, et al. Influence of the pore size and porosity of selective laser melted Ti6Al4V ELI porous scaffold on cell proliferation, osteogenesis and bone ingrowth. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;106:110289.

111. Biemond JE, Aquarius R, Verdonschot N, Buma P. Frictional and bone ingrowth properties of engineered surface topographies produced by electron beam technology. Arch Orthop Trauma Surg. 2011;131(5):711-8.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ ÉS A TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/522/2023.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovács Ágnes Éva
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10076895

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovács, Á. É.**, Csernátó, Z., Csámer, L., Méhes, G., Szabó, D., Veres, M., Braun, M., Harangi, B., Serbán, N., Zhang, L., Falk, G., Soós Horváth, H., Manó, S.: Comparative Analysis of Bone Ingrowth in 3D-Printed Titanium Lattice Structures with Different Patterns.
Materials. 16 (10), 1-16, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ma16103861>
IF: 3.4 (2022)
2. Csernátó, Z., Manó, S., Tiba, Z., Husi, G., Jónás, Z., Váradi, T., Csámer, L., **Kovács, Á. É.**:
Critical analysis of in vitro stability testing of spinal implants and proposal for standardization.
Expert Rev. Med. Devices. 19 (3), 281-286, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/17434440.2022.2054331>
IF: 3.1

További közlemények

3. Csernátó, Z., Manó, S., Szabó, D., Soós Horváth, H., **Kovács, Á. É.**, Csámer, L.: Acetabular Revision with McMinn Cup: Development and Application of a Patient-Specific Targeting Device.
Bioengineering-Basel. 10 (9), 1-13, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/bioengineering10091095>
IF: 4.6 (2022)
4. Csámer, L., Csernátó, Z., Novák, L., Kövári, V. Z., **Kovács, Á. É.**, Soós Horváth, H., Manó, S.: Custom-made 3D printing-based cranioplasty using a silicone mould and PMMA.
Sci. Rep. 13 (1), 1-15, 2023.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-38772-9>
IF: 4.6 (2022)





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

5. Kovács, Á. É., Csernátó, Z., Szabó, D., Csámer, L., Somoskeőy, S., Manó, S.: Csípőízületi vápadefektus-klasszifikáció megjelenítése 3D nyomtatással készült modellek segítségével. *Biomech. Hung.* 15 (2), 43-48, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/biohun/2022/2/563>
6. Csernátó, Z., Deák, Á., Csámer, L., Kovács, Á. É., Soósné Horváth, H., Csukás, D., Radovits, T., Manó, S.: Javaslat csontpótló anyagok juh teherviselő csonton végzett vizsgálatának standardizált módszerére. *Biomech. Hung.* 14 (2), 66-73, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/2021/2/07>
7. Csernátó, Z., Zhang, L., Takács, K., Csámer, L., Kovács, Á. É., Manó, S.: Metal implants and MRI: a mythbuster study. *Glob. Imaging Insights.* 6, 1-4, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.15761/GII.1000215>
8. Manó, S., Kővári, V. Z., Szabó, J., Csámer, L., Kovács, Á. É., Soósné Horváth, H., Csernátó, Z.: 3D nyomtatás alapú cranioplasztika szilikon öntészeti módszerek és csontcement alkalmazásával. *Biomech Hung.* 13 (1), 49-56, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/biohun/2020/1/05>
9. Manó, S., Kovács, K., Kovács, Á. É., Csámer, L., Csernátó, Z.: 3D nyomtatás és csontcement alapú cranioplastica mérése mechanikai szempontból. *Biomech Hung.* 13 (1), 29-39, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/biohun/2020/1/03>
10. Csernátó, Z., Kovács, Á. É., Csámer, L., Zhang, L., Manó, S.: Állatkísérleti modell kidolgozása rácsos mikroszerkezetű titán implantátumok értékelésére. *Biomech Hung.* 13 (1), 17-28, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/biohun/2020/1/02>





**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

11. Kovács, Á. É., Manó, S., Csámer, L., Somoskeőy, S., Csernátó, Z.: Scoliosis klasszifikáció szemléltetése 3D nyomtatással előállított modellgyűjteménnyel.
Biomech Hung. 13 (1), 7-15, 2020.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17489/biohun/2020/1/01>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 15,7

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
6,5**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2023.11.24.



TÁRGYSZAVAK

Biotribológia	Biotribology
Súrlódás	Friction
Emberi szövet	Human tissue
Kenőképeség	Lubricity
Gerincimplantátum	Spinal implant
Kopás	Wear
Anyaghozzáadási előállítás	Additive manufacturing
Direkt fém lézer szinterelés	Direct Metal Laser Sintering
Ti6Al4V	Ti6Al4V
Rácsos szerkezetek	Lattice structures
Csontbenövés	Bone ingrowth
Állatkísérlet	Animal experiment
Osteointegráció	Osteointegration

FÜGGELÉK

1. Az értekezés alapjául szolgáló közlemények
2. Állatkísérletes etikai engedély