

**Doktori (Ph.D.) értekezés**

**MÁSODIK GENERÁCIÓS POLIMETIL-METAKRILÁT-SZORBITOL  
KAPSZULÁK - LOKÁLIS ANTIBIOTIKUM HORDOZÓ ESZKÖZ  
KIFEJLESZTÉSE  
ÉS PERMEABILITÁS VIZSGÁLATA**

**Dr. Frank Dorottya**



Pécsi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Laboratóriumi Medicina Intézet  
Fogászati és Szájsebészeti Klinika

**Témavezető: Prof. Dr. Miseta Attila**  
**Programvezető: Prof. Dr. Olasz Lajos**  
**Doktori Iskola Vezetője: Prof. Dr. Komoly Sámuel**

**Pécs, 2011**

## TARTALOMJEGYZÉK

|   |    |
|---|----|
| 1. BEVEZETÉS.....   | 5  |
| 2. TUDOMÁNYOS HÁTTÉR.....   | 7  |
| 2. 1. CSONTVELŐGYULLADÁS .....  | 7  |
| 2. 1. 1. A csontvelőgyulladások osztályozása .....                                  | 7  |
| 2. 1. 2. A csontvelőgyulladások epidemiológiája .....                               | 10 |
| 2. 1. 3. A csontvelőgyulladás etiológiája .....                                     | 10 |
| 2. 1. 4. A csontvelőgyulladás diagnosztikája .....                                  | 12 |
| 2. 1. 4. 1. Fizikális vizsgálat, klinikai megjelenés .....                          | 12 |
| 2. 1. 4. 2. Klinikó-biokémiai (laboratóriumi) vizsgálatok .....                     | 13 |
| 2. 1. 4. 3. Mikrobiológiai vizsgálatok.....   | 14 |
| 2. 1. 4. 3. Képkalkotó eljárások .....  | 15 |
| 2.1.5. A csontvelőgyulladás kezelése.....   | 16 |
| 2. 1. 5. 1. Sebészi terápia .....   | 16 |
| 2. 1. 5. 2. Antibiotikum terápia.....   | 17 |
| 2. 2. A PMMA CSONTCEMENT.....   | 23 |
| 2. 2. 1. A PMMA történeti áttekintése, felhasználása .....                          | 23 |
| 2. 2. 2. A PMMA csontcement fizikai és kémiai tulajdonsága .....                    | 24 |
| 2. 2. 3. Polimerizáció folyamata .....  | 26 |
| 2. 2. 4. Antibiotikummal impregnált PMMA.....                                       | 29 |
| 2. 2. 5. Antibiotikummal töltött (első generációs) PMMA kapszulák .....             | 32 |
| 3. CÉLKITŰZÉSEK.....  | 33 |
| 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....  | 35 |
| 4. 1. MÁSODIK GENERÁCIÓS PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK<br>PERMEABILITÁS VIZSGÁLATA ..... | 35 |
| 4. 1. 1. PMMA-szorbitol kapszulák készítése.....                                    | 35 |
| 4. 1. 2. Kapszulafal permeabilitás vizsgálat.....                                   | 36 |
| 4. 1. 3. PMMA-szorbitol kapszula felszíni morfológia vizsgálata.....                | 37 |
| 4. 1. 4. Statisztikai módszerek.....  | 38 |

|   |    |
|---|----|
| 4. 2. PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK IN VITRO ANTIBIOTIKUM KIÁRAMLÁS<br>VIZSGÁLATA .....  | 39 |
| 4. 2. 1. PMMA-szorbitol kapszulakészítés, és in vitro antibiotikum kiáramlás vizsgálat  | 39 |
| 4. 2. 2. Gentamicin, tobramycin, amikacin minimális gátló koncentrációjának<br>meghatározása .....                            | 40 |
| 4. 2. 3. Gentamicin, tobramycin, amikacin kiáramlás meghatározása in vitro<br>mikrobiológiai módszer segítségével .....       | 40 |
| 4. 2. 4. Clindamycin kiáramlás meghatározása in vitro nagy teljesítményű<br>folyadékkromatográfiás módszer segítségével ..... | 41 |
| 4. 2. 5 Statisztikai analízis.....  | 42 |
| 5. EREDMÉNYEK.....  | 43 |
| 5. 1. MÁSODIK GENERÁCIÓS PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK<br>PERMEABILITÁS VIZSGÁLATA.....  | 43 |
| 5. 1. 1. BPB kiáramlási kinetikák.....  | 43 |
| 5. 1. 2. Felszíni morfológia vizsgálata SEM-vel.....  | 45 |
| 5. 1. 3. Falvastagság és szorbitol tartalom összefüggése a BPB kiáramlási kinetikával   | 46 |
| 5. 2. PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK IN VITRO ANTIBIOTIKUM KIÁRAMLÁS<br>VIZSGÁLATA .....  | 50 |
| 5. 2. 1. Gentamicin, tobramycin, amikacin MIC értékei.....  | 50 |
| 5. 2. 2. Gentamicin .....   | 50 |
| 5. 2. 3. Tobramycin .....   | 52 |
| 5. 2. 4. Amikacin .....   | 54 |
| 5. 2. 5. Clindamycin .....  | 55 |
| 6. MEGBESZÉLÉS .....  | 58 |
| 7. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA .....   | 70 |
| 8. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS.....   | 72 |
| 9. IRODALOMJEGYZÉK .....  | 74 |
| 10. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE .....   | 83 |

## RÖVIDÍTÉSEK

**ANOVA:** varianciaanalízis

**BPB:** brómfenolkék

**CRP:** C reaktív protein

**DMPT:** N,N-dimetil-p-toluidin

**FDA:** Food and Drug Administration

**HPLC:** nagy teljesítményű folyadékkromatográfia

**KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>:** monobázikus kálium-foszfát

**KOH:** kálium-hidroxid

**MIC:** minimális gátló koncentráció

**MMA:** metil-metakrilát

**PCR:** polimeráz láncreakció

**PMMA:** polimetil-metakrilát

**POP:** Plaster of Paris

**PVP:** polivinil-pirrolidon

**SD:** standard deviáció

**SEM:** pásztázó elektronmikroszkóp

**VRE:** vancomycin rezisztens Enterococcus

**VRSA:** vancomycin rezisztens Staphylococcus aureus

**w/w %:** tömegszázalék

## 1. BEVEZETÉS

A traumatológiai és ortopéd sebészetben a szeptikus csontfolyamatok, kiváltképpen a csontvelőgyulladás még napjainkban is a nehezen kezelhető, jelentős költségekkel járó gyulladásos folyamatok közé tartoznak (Lew et al., 1997, Wu et al., 2006). A fertőzés érintheti a csontvelőt, a csonthártyát, illetve a csont kompakt állományát is. Leggyakrabban a hosszú csöves csontok az érintettek, és az esetek 90%-ban a *Staphylococcus aureus* gennykeltő baktérium a kórokozó.

A krónikus csontvelőgyulladás kezelésének elengedhetetlen részét képezi az ép szövetig hatoló, kiterjesztett sebészi szöveteltávolítás (debridement), illetve az antimikrobiális terápia (Lew et al., 1997). Azonban a hosszú ideig tartó, nagy dózisu célzott parenterális kezelés (4-6 hét) meglehetősen költséges és jelentős mellékhatásokkal járhat (Wu et al., 2006).

Ezért az utóbbi pár évtizedben kiemelten hangsúlyos szerepet kapott a lokális antibiotikum hordozó eszközök kifejlesztése és alkalmazása. A lokális kezelés legnagyobb előnye, hogy nagy dózisu gyógyszer szintet biztosít közvetlenül a fertőzött, rossz vérellátású területen anélkül, hogy a szisztémás toxicitás veszélyét jelentősen megnövelné (Hanssen, 2005). Napjainkban számos lokális terápiát szolgáló rendszer létezik, azonban egyik sem tekinthető ideálisnak (Wu et al., 2006). Ez a feltétel akkor teljesülne, ha az eszköz a kezelés teljes időtartalma alatt végig egyenletes, terápiásan hatékony gyógyszer szintet biztosítana, és lehetővé tenné az antibiogram alapján szükséges antimikrobiális szer lokális alkalmazását (Wu et al., 2006).

Először az 1970-es években használták az ún. antibiotikummal impregnált polimetil-metakrilátot (PMMA) (Buchholz et al., 1970). A mai napig ezek a PMMA alapú rendszerek az ortopéd és traumatológiai sebészetben mintegy „arany standardnak” tekinthetőek (Nelson, 2004) annak ellenére, hogy számos hátrányos tulajdonságunk ismert. Egyik legnagyobb hátrányuk, hogy korlátozott a felhasználható antimikrobiális szerek száma, mivel kizárólag hőstabil és por formában elérhető antibiotikumokat lehet alkalmazni. További hátránya az antibiotikummal impregnált PMMA-nak, hogy a

gyógyszer leadási profilja is tipikusan kétfázisos, ami nem biztosítja az ideális - egyenletes gyógyszer szintet.

A szeptikus csontfolyamatok terápiájában a PMMA-val kapcsolatos kutatások a Pécsi Tudományegyetemen is már hosszú múltra tekintenek vissza. A szeptikus csontsebészettel és csontcementtel kapcsolatos kísérletes kutatómunka úttörőinek sorában elsők között kell megemlíteni Laky Rezső és Forgon Mihály professzorokat (Laky et al, 1979,1982,1983). Később Bálint Lehel és munkacsoportja is átfogóan tanulmányozta a PMMA-t, mint lokális antibiotikum hordozó anyagot a szeptikus csontfolyamatok kezelésében (Bálint et al., 2002a, b, c, 2004a, b). Ezen alapokra épült továbbá Börzsei László munkássága is (Börzsei et al., 2006a, b). Börzsei kutatócsoportja fejlesztette ki az ún. első generációs PMMA hordozó edényeket. Tudományos munkánk közvetlen az ők eredményein alapulnak.

Munkacsoportunk célja az volt, hogy egy olyan eszközt fejlesszen ki, mely az eddigieknél hatékonyabb lokális antibiotikum terápiát tesz lehetővé; kiküszöbölve a korábbi rendszerek hátrányait, egyrészt időben szabályozható, a kezelés teljes időtartama alatt végig relatív egyenletes gyógyszer szintet biztosít, másrészt pedig bármilyen antimikrobiális szer lokális alkalmazását lehetővé teszi.

Ezért továbbfejlesztettük a Börzsei-féle PMMA edényeket, és megalkottuk a második generációs PMMA-szorbitol kapszula rendszert, mint potenciális lokális antibiotikum hordozó eszközt. A kapszulák gyártási technológiáját jelentős mértékben megváltoztattuk, illetve a PMMA edények falának áteresztőképességét különböző mennyiségű vízdékony töltőanyaggal (szorbitol) biztosítottuk. A töltőanyag tartalom mellett egy másik paramétert; a változtatható falvastagságot is bevezettük a permeabilitás szabályozásának érdekében.

Jelen dolgozatomban bemutatom a második generációs kapszulákkal végzett vizsgálatainkat, és kapott eredményeinket. Munkánk során vizsgáltuk egyrészt a kapszulák falának áteresztőképességét a szorbitol tartalom és a falvastagság függvényében. Majd a kapott eredmények alapján kiválasztottunk négy különböző kapszula típust, melyek gyógyszerleadási kinetikáját is meghatároztuk több antibiotikum esetében.

## 2. TUDOMÁNYOS HÁTTÉR

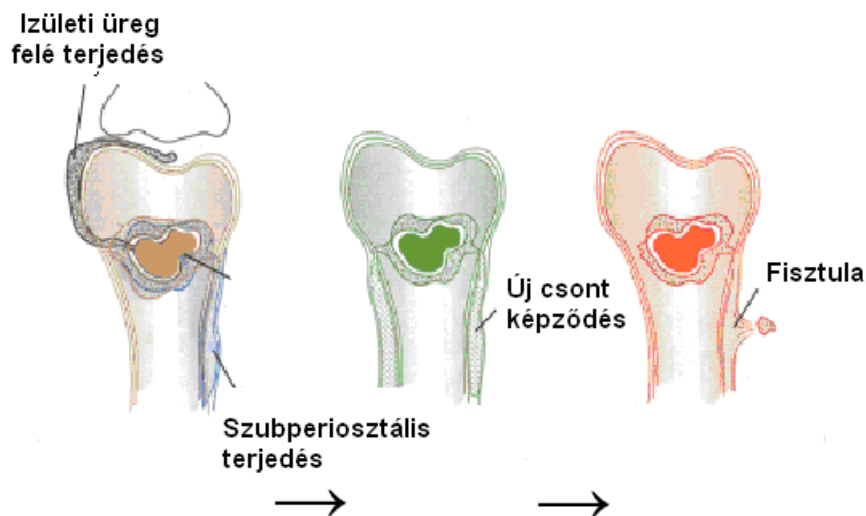
### 2. 1. CSONTVELŐGYULLADÁS

#### 2. 1. 1. A csontvelőgyulladások osztályozása

A csontvelőgyulladás (oszteomiELITISZ) egy csontdestrukcióval járó progresszív gyulladás (Lew et al., 1997, 2004, Ikpeme et al., 2010). A szó az *osteon* (csont), a *myelo* (velő) és az *itis* (gyulladás) szavakból ered (Lazzarini et al., 2004). A folyamat azonban nemcsak lokalizáltan a csontot érintheti, hanem kiterjedhet a csontvelőre, csonthártyára és a környező lágy szövetekre is (Jorge et al., 2009). Általában a hosszú csöves csontok érintettek, azonban érintheti a lábfejet, gerincet, koponya alapot és az állkapocscsontot is (Nomura et al., 2010, Lazzarini et al., 2004). Leggyakrabban piogén baktériumok és mikobaktériumok okozzák, azonban vírusok és gombák is okozhatnak csontvelőgyulladást - elsősorban immunszupprimált betegek esetében.

A csontvelőgyulladásnak akut és krónikus formája ismert. Míg az akut folyamat típusosan napok, hetek alatt magas láz, ödéma, vénás pangás, kis erek trombózisa és erős fájdalom kíséretében jelentkezik, addig a krónikus folyamat hónapokon, éveket keresztül jellemzően fájdalomtalanul zajlik le.

A krónikus gyulladás esetében a nyugalmi szakaszokban fellángolások előfordulhatnak, amikor a fertőzött területről oszteokután fistulán keresztül spontán genny is ürülhet (1. ábra) (Lew et al., 2004). Továbbá a krónikus folyamatban - az akut formától jól elkülöníthető - elhat csontdarabok (szekveszter) találhatóak. Általában a 10 napnál hosszabb ideig tartó láz nekrotikus csontterületre és krónikus csontvelőgyulladás jelenlétére utalhat (Lew et al., 2004).



**1. ábra** Csontvelőgyulladás, a folyamat terjedése (Lew et al., 2004)

A gyulladást továbbá az etiológiai faktorok, patogenezis, kiterjedés és a hajlamosító tényezők alapján is csoportosíthatjuk (Lew et al., 2004, Lazzarini et al., 2004, Ikpeme et al., 2010). Két csoportosítási szempontrendszer a legelfogadottabb; a Waldvogel és munkatársai-féle csoportosítás (Waldvogel et al., 1970), valamint a Cierny-Mader-féle (Cierny et al., 1985) klasszifikáció.

A Waldvogel-féle csoportosítás a fent említett akut és krónikus lefolyáson kívül a kialakulás eredete szerint is elkülöníti a csontvelőgyulladásokat. Így beszélhetünk hematogén oszteomyelitiszről, melynél a gyulladás bakterémia következtében alakul ki. Ez a forma elsősorban pubertáskor előtt, és idősebb pácienseknél jelentkezik (Lew et al., 2004). Ezen felül elkülönít egy csoportot, melyben a betegség egy fertőzés közvetlen terjedése miatt (per continuitatem) jön létre. Ilyenkor az infekció a szomszédos lágyrészek felől terjed át a csontra, mely következtében először csonthártyagyulladás, majd kortikális nekrosis, szekveszter képződés, végül pedig sipolynyílás keletkezik. Körülbelül az oszteomyelitiszek 50%-a így alakul ki. A kiváltó ok általában valamilyen trauma, sebészi beavatkozás vagy protézis behelyezése. Jellemzően nincs tipikus életkor, és bármely csont esetében előfordulhat (Lew et al., 2004). A harmadik csoportba azok a gyulladások kerültek, melyek valamilyen perifériás, vaszkuláris (artériás) elégtelenség következtében szekunder módon fejlődnek ki. A kiváltó faktorok közül a leggyakoribb a diabéteszes neuropátia.



A Cierny-Mader-féle klasszifikáció elsősorban a kiterjedés mértékén (anatómiai) és a fertőzés mögött álló egyéb lokális és szisztémás tényezőkön (beteg fiziológiás állapotán) alapszik (Cierny et al., 1985). A Cierny-Mader-féle szempontrendszer szerinti csoportosítást a 1. táblázat mutatja.

| <b>Csoport</b>                 | <b>Jellemzők</b>  |
|--------------------------------|---|
| <i>Anatómiai osztályozás</i>   |   |
| 1                              | Enosszeális csontvelőgyulladás                                |
| 2                              | Szuperficiális csontvelőgyulladás                             |
| 3                              | Lokalizált csontvelőgyulladás                                 |
| 4                              | Diffúz csontvelőgyulladás                                     |
| <i>Fiziológiai osztályozás</i> |   |
| A                              | Normális szervezet  |
| B                              |   |
| Bs                             | Szisztémás hajlamosító tényező jelenléte                      |
| Bl                             | Lokális hajlamosító tényező jelenléte                         |
| Bls                            | Szisztémás és lokális hajlamosító tényezők együttes jelenléte |
| C                              | Kezeléssel rosszabb kimenetelt eredményező gyulladások        |

**1. táblázat** Cierny-Mader-féle klasszifikáció (Cierny et al., 1985, Lazzarini et al., 2004)

A kiterjedés szerint ez a csoportosítás négy stádiumot különít el. Az 1. csoport a csontvelőre lokalizálódó, enosszeális gyulladások csoportja. A következő, 2. típus a felszínre lokalizálódó, szuperficiális gyulladások. A 3. típus egy olyan lokalizált forma, mely nemcsak a velőüregre, de a kortikális területre is kiterjed. A 4. csoportba pedig a diffúz csontvelőgyulladások kerültek. A gazdaszervezet esetében amennyiben az szisztémásan egészséges, akkor az az „A” csoportba tartozik. Ha van valamilyen hajlamosító tényező, akkor a „B” csoportba, ha pedig olyan súlyos a beteg állapota, hogy a beavatkozással többet ártanánk, akkor a „C” csoportba tartozik. A táblázat értelmezéséhez szükséges predisponáló tényezőket, a szervezet (sérült) állapotát, melyek a csontvelőgyulladás tekintetében jelentőséggel bírnak, a 2. táblázat foglalja össze (Cierny et al., 1985, Lazzarini et al., 2004).

| <b>Szisztémás (Bs)</b>              | <b>Lokális (Bl)</b>  |
|-------------------------------------|----------------------|
| Alultápláltság                      | Krónikus limfödéma   |
| Vese-, májelégtelenség              | Vénás pangás         |
| Diabétesz mellitusz                 | Nagy erek betegsége  |
| Krónikus hipoxia                    | Arteritisz           |
| Immundeficiencia, immunszuppresszió | Irradiációs fibrózis |
| Malignus betegségek                 | Kiterjedt hegesedés  |
| Életkor                             | Kis erek betegsége   |
| HIV/AIDS                            | Neuropátia           |
| Alkohol/drog abúzus                 |                      |
| Lépellátvitás                       |                      |

**2. táblázat** Csontvelőgyulladásra hajlamosító tényezők (Lazzarini et al., 2004)

### **2. 1. 2. A csontvelőgyulladások epidemiológiája**

Míg a hematogén csontvelőgyulladások az utóbbi időkben folyamatosan csökkenő incidenciát mutatnak (Blyth et al., 2001), addig ezzel ellentétesen a fertőzés közvetlen terjedésével kialakuló oszteomielitiszek előfordulása megnőtt. Ennek oka, hogy a motorizáció elterjedésével egyre gyakoribbá váltak a nagyenergiájú sérülések, és megnőtt az olyan súlyos lágyszöveti, ízületi és egyéb csontsérüléseknek a száma, melyek elősegítik a baktériumok megtapadását, elszaporodását és invázióját (Lazzarini et al., 2004).

Továbbá a szisztémás hajlamosító hatások miatt az immunszupprimált betegekben is nagyobb számban fordul elő csontvelőgyulladás (Gillespie et al., 1990).

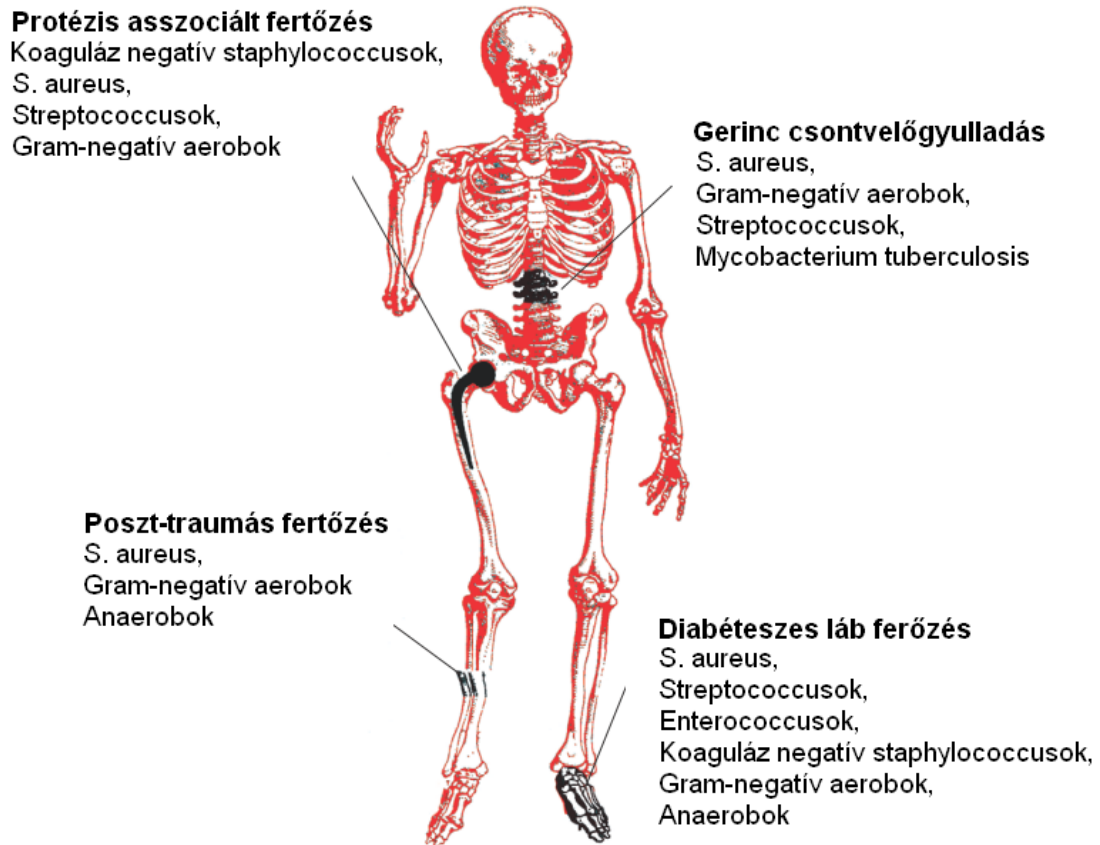
### **2. 1. 3. A csontvelőgyulladás etiológiája**

A hematogén oszteomielitiszek esetében az újszülötteknél a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* és *Escherichia coli* a leggyakrabban izolált kórokozó. 1 éves kor felett a *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes* és a *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) okoz leginkább problémát. Majd ez utóbbi, a *H. influenzae* incidenciája a 4 éves kor után jelentősen lecsökken. Ennek a legfőbb oka *H. influenzae* ellen rendelkezésünkre álló védőoltás (Jonghe et al., 1995, Blyth et al., 2001).

| <b>Gazdaszervezet</b>                                  | <b>Mikroorganizmus</b>   |
|--|--|
| Leggyakoribb (bármely oszteomiélitisz)                 | <i>S. aureus</i> , MRSA  |
| Idegen test asszociált fertőzések                      | Koaguláz negatív staphylococcus fajok,<br>Propionibaktériumok              |
| Nozokomiális fertőzések                                | Enterobaktériumok, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,<br><i>Candida</i> fajok |
| Diabétesz/dekubitusz asszociált fertőzések             | Streptococcus fajok és/vagy anaerobok                                      |
| Sarlósejtes betegség                                   | <i>Salmonella</i> fajok, <i>Streptococcus pneumoniae</i>                   |
| HIV/AIDS   | <i>Bartonella henselae</i> , <i>Bartonella quintana</i>                    |
| Harapott sérülésekhez kapcsolódó<br>csontvelőgyulladás | <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Eikenella corrodens</i>                  |
| Immunszuprimált betegek                                | <i>Aspergillus</i> fajok, <i>Candida albicans</i> ,<br>Mikobaktériumok     |
| Tuberkulózis asszociált infekció                       | <i>Mycobacterium tuberculosis</i>  |
| Endémiás fertőzések                                    | <i>Brucella</i> fajok, <i>Coxiella burnetii</i> , gombák                   |

**3. táblázat** A gazdaszervezet állapotához kapcsolódó leggyakrabban előforduló mikroorganizmusok (Lew et al., 2004)

Felnőttekben a leggyakrabban izolált mikroorganizmus a *S. aureus* (Lew et al., 1997), azonban ez gyakran társul Gram-negatív kórokozók, illetve *Streptococcus* és anaerob törzsekkel is (Lazzarini et al., 2004). A Gram-negatív baktériumok közül a *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia coli* és *Klebsiella* törzsek a leggyakoribbak (Renner, 2003). Az anaerob törzsek leggyakrabban emberi harapás következtében kialakult csontvelőgyulladásban, intraabdominális tályog miatt kialakult medencecsont oszteomiélitiszben, illetve a dekubitusz szövődményeként keletkezett keresztcsonti oszteomiélitiszben találhatók (Raff et al., 1978). Ezenfelül számos esetben gombák, illetve vírusok is kóroki tényezőként szerepelnek. A 3. táblázatban az egyes betegségekhez kapcsolódóan leggyakrabban előforduló mikroorganizmusok láthatók, míg a 2. ábra ezen mikroorganizmusok leggyakoribb lokalizációját mutatja (Lew et al., 2004).



2. ábra Oszteomiélitiszben izolált kórokozók leggyakoribb lokalizációja (Lew et al., 2004)

## 2. 1. 4. A csontvelőgyulladás diagnosztikája

### 2. 1. 4. 1. Fizikális vizsgálat, klinikai megjelenés

A klinikai megjelenés alapján a tünetek változatosak lehetnek; a sérülésmentes, enyhén duzzadt bőrfelülettől kezdve a sipolynyíláson keresztül egészen a nyílt törésekig terjedően széles a skála.

Az akut hematogén csontvelőgyulladás leggyakrabban magas lázzal, hidegrázással, szapora szívveréssel és légzéssel, étvágytalansággal valamint rossz általános közérzettel társul. Helyileg a gyulladás jeleként a góc felett duzzanat található, a végtag gyakran kényszerállásban áll, és lüktető fájdalom tapasztalható. Szubperiostális tályog

képződésekor lokalizált bőrpírt, duzzanatot, égő fájdalmat és fluktuációt lehet észlelni (Ikpeme et al., 2010).

A közvetlen terjedés vagy vaszkuláris betegség következtében kialakult csontvelőgyulladásra elsősorban lázkiugrások, szeptikus lázmenet, éjszakai izzadás, sipolykimenet hívja fel a figyelmet. Lokálisan a góc felett kifejezett gyulladással járó tünetek láthatóak; ödéma, fájdalom, bőrpír, akár kísérő tromboflebitisz is előfordulhat (Lazzarini et al., 2004).

A krónikus oszteomyelitisznél az általános tünetek ritkán (pl. hőemelkedés) fordulnak elő, azok elsősorban csak az akut fellángolások idején jelentkeznek. Leggyakoribb jel a hosszan tartó sipolyozás és a krónikus váladékürülés. Az érintett területnél nyomásérzékenységet, a sipolynyílás körül krónikus bőrelváltozásokat, hegeket tapasztalhatunk. A diagnózis felállításában ugyancsak fontos a beteg anamnézisében szereplő korábbi akut csontvelőgyulladás, trauma, illetve sebészi beavatkozás (Ikpeme et al., 2010).

#### 2. 1. 4. 2. Kliniko-biokémiai (laboratóriumi) vizsgálatok

A fehérvérsejtszám emelkedett lehet akut gyulladásban, azonban a krónikus oszteomyelitiszeknél legtöbbször nem mutat jellegzetes eltérést. Ellenben a vörösvérsejt szedimentációs ráta mind az akut, mind a krónikus megjelenési formákban is emelkedett értéket mutat, sikeres terápia esetén pedig rögtön visszaáll a normál értékre (Schulak et al 1982, Perry et al., 1996, Carragee et al., 1997). Mégsem a süllyedés a legérzékenyebb módszer a kórfolyamat lefolyásának nyomon követésére (Lazzarini et al., 2004, Lew et al., 2004). A C-reaktív protein (CRP), mint általános gyulladással járó marker már sokkal inkább használható, mivel szintje szorosan összefügg a gyulladás mértékével. A CRP szintje már három nappal a sikeres antibiotikum terápia után jelentősen lecsökkenhet (Roine et al., 1995).

Mivel a fenti laboratóriumi paraméterek egyike sem specifikus marker a csontvelőgyulladásra, így azt lehet mondani, hogy mindhárom paraméter együttes monitorozása szükséges a betegség diagnózisának felállításához és kórfolyamatának vizsgálatához. Akut csontvelőgyulladás nyomon követésére hetente, míg krónikus

folyamatok esetén kéthetente javasolt a laboratóriumi vizsgálatok elvégzése (Lazzarini et al., 2004).

Továbbá differenciál diagnosztikailag fontos szerepe van az alkalikus foszfatáz, kalcium és foszfát szinteknek, ugyanis míg ezek jelentősen emelkedett értéket mutatnak csontmetasztázisok, illetve egyéb csontot érintő metabolikus betegségekben, addig csontvelőgyulladásban a mért értékeik a normál tartományon belül maradnak (Lew et al., 2004).

#### 2. 1. 4. 3. Mikrobiológiai vizsgálatok

Az oszteomielitiszek kezelésében a célzott, adekvát antibiotikum terápia alapvető. A célzott kezelés a mikroorganizmus izolálásán, azonosításán és antibiotikum érzékenységi vizsgálatán alapszik, azonban sok esetben már a mikrobiológiai vizsgálatok előtt sor kerül empirikus antibiotikum adásra. Ilyen esetben a gyógyszeresedés kezdetétől minimum három napnak el kell telni a mikrobiológiai mintavételig (Ericsson et al., 1971).

A kórokozó izolálása hematogén oszteomielitiszek esetében elsősorban hemokultúrából történik, de történhet direkt csont biopsziával, a debridement során eltávolított szövetből, illetve a sipolynylás váladékából is. Ez utóbbi nem a legmegbízhatóbb módszer, mivel sok esetben a mintavételi eljárásnak köszönhetően nem patogén kórokozók is kitenyészhetnek (Perry et al., 1991, Lew et al., 2004).

Továbbá minden módszer esetében úgy kell a mintavételt végrehajtani, hogy aerob és anaerob baktériumokra is ki tudjuk terjeszteni a vizsgálatokat (Lew et al., 2004).

A kórokozó azonosítása a mintákból általában hagyományos mikrobiológiai eljárásokkal történik, azonban a polimeráz láncreakciót (PCR) is egyre elterjedtebben használják. A PCR technika előnye, hogy a nehezen tenyészhető (*Mycoplasma pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bartonella henselae*), kis mennyiségben jelenlévő kórokozókat is kimutatja (Berk et al., 1996, La Scola et al., 1997, Modi et al., 2001).

### 2. 1. 4. 3. Képkötő eljárások

A csontvelőgyulladások diagnosztikájában leggyakrabban a hagyományos röntgen technikát alkalmazzuk, azonban ez a kezdeti időszakban nem kellően specifikus, mivel mintegy 2 hetes röntgen latencia figyelhető meg.

A hematogén oszteomyelitisz esetében tipikus röntgen jel a lágyrész duzzanat, szöveti határok elmosódása, illetve periartikulárisan a csont demineralizációja.

A perifériás vaszkuláris betegség vagy közvetlen terjedés miatt létrejött csontvelőgyulladások radiológiai vizsgálata során kortikális megvastagodást, perioszteális csont újraképződést láthatunk. A folyamat előrehaladtával csontszekveszter is kialakulhat, mely sipolyjáratokkal állhat összeköttetésben.

A krónikus oszteomyelitiszek (3. ábra) esetén radiológiai vizsgálatokban a következő elváltozásokat láthatjuk; granulóma, csonttályog, szekveszter, involukrum, csontláda, paraosseális csonttályog, sipolyjárat. Az involukrummal körülvett szekveszter gyakran ún. „csont a csontban” elváltozásra hasonlít a röntgenképen (Ikpeme et al., 2010).



**3. ábra** Krónikus oszteomyelitisz röntgenképe külboka törést követően. A röntgenfelvétel a PTE KK Mozgásszervi Sebészeti Intézet Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikai Tanszék beteganyagából származik.

Továbbá a regeneráció megindulása következtében hiperosztózis, oszteoszklerózis észlehető, a csontátépülés miatt pedig csontatrófiák és deformitások is kialakulnak. Ezen felül sokszor láthatók a környező szövetek, ízületek destrukciója is.

Továbbá használatos még a mágneses rezonanciás képalkotás (MRI), a komputertomográf (CT) és az izotópos vizsgálatok is, melyek érzékenysége jóval meghaladja a röntgenét. Ezek közül is a legérzékenyebbek az MRI számít, mely különösen jó a lágy szövetet érintő folyamatok kiterjedésének diagnosztikájában (Lazzarini et al., 2009). A csontszcintigráfiai vizsgálatok elsősorban a gyulladás lokalizációjának pontosításában nyújtanak nagy segítséget, azonban segítségükkel nem lehet különbséget tenni az infekció, a tumor vagy a törés között. Ugyancsak lehet ultrahangos diagnosztikát alkalmazni. Nagy előnye, hogy non-invazív, nincs sugárterhelés, olcsó és relatív széles körben elérhető mindenki számára. A szubperiosteális folyadékgyülem még a radiológiai megjelenés előtt jól látható az ultrahang felvételen. Azonban csont diagnosztikában alacsony specificitása miatt csak ritkán használatos (Ikpeme et al., 2010).

### **2.1.5. A csontvelőgyulladás kezelése**

A csontvelőgyulladás gyógyulása megfelelő sebészi és antibiotikum terápia együttes alkalmazását igényli. Mindazonáltal a hajlamosító tényezők és a beteg általános állapotának rendezése is a kezelés fontos részét képezik. (tápláltság, diabétesz mellitusz, vérkeringés) (Lazzarini et al., 2004).

#### **2. 1. 5. 1. Sebészi terápia**

A sebészi kezelés magába foglalja a megfelelő drenálást, radikális debridementet, a keletkezett holtteret („dead space”) kitöltését, a megfelelő lágy szöveti borítást és a vérrellátás helyreállítását (Cierny et al., 1983, Lazzarini et al., 2004). A sebészi debridementnél az elhalt, nekrotikus szöveteket egészen az ép szövetekig el kell távolítani. Az ép szövetekig hatoló kezelést egészen az ún. „paprika jelleg” kell folytatni, amikor a kürett során pontoszerű vérzést észlelünk (Cierny et al., 1983). Azonban a nekrotikus részek alapos eltávolítását követően is még az ép területeket potenciálisan fertőzöttnek, kontamináltnak kell tekinteni, így a kiterjesztett, radikális sebészi beavatkozás az utóbbi években még



hangsúlyosabb szerepet kapott, különösen a leromlott egészségi állapotú (Cierny-Mader-féle klasszifikáció: B csoport) betegeknél (Simpson et al., 2001).

A sebészi terápia további sarkalatos pontját képezi a kürett után keletkezett nagy csontdefektus, a „dead space” kezelése, mivel rendkívül rossz vérellátása miatt a fertőzés további fennállását segítheti elő.

További fontos tényező a kezelés szempontjából a defektus lágyrésszel való adekvát borítása. Kisebb defektusok fedésére elegendő a félvastag bőrlebeny, míg nagyobb defektusok esetében szabad izomlebenyeket vagy érnyeles izomlebenyeket kell alkalmazni. A megfelelő lágyrészbtorítással így fokozni tudjuk mind a lágy,- mind a keményszövet gyógyulási hajlamát, mivel javul a terület vérellátása, ezzel együtt pedig a szisztémás keringéssel ide jutó antibiotikumok mennyisége is (Lazzarini et al., 2004).

## 2. 1. 5. 2. Antibiotikum terápia

### a. Szisztémás antibiotikum kezelés

A csontvelőgyulladás sikeres eradikálásához a sebészi kezelés mellett célzott antibiotikum terápia is szükséges. A megfelelő antibiotikum kiválasztását, illetve annak alkalmazási módját (orális, intravénás) azonban számos tényező befolyásolja; az infekció típusa, a fertőzést okozó mikroorganizmus, annak antibiotikum érzékenysége, antibiotikum rezisztenciája, az antibiotikum farmakokinetikája, a beteg szervezetének általános állapota, a beteg együttműködése és a lehetséges mellékhatások kockázata. Ezen soktényezős rendszerből adódik, hogy máig nem létezik olyan szer, mely minden klinikai kórképben akár önállóan, vagy akár kombinálva hatásos lenne. A csontvelőgyulladás kezelésében leggyakrabban alkalmazott gyógyszereket a 4. táblázat foglalja össze. A leghatásosabb az intravénás adagolás, azonban a kinolonok esetén a lehető legkorábban célszerű átváltani orális adagolásra (Lew et al., 2004).

| <b>Mikroorganizmus</b>   | <b>Antibiotikum</b>                | <b>Napi dózis</b>        | <b>Alternatív szerek</b>  |
|--|------------------------------------|--------------------------|---|
| Penicillin érzékeny <i>S. aureus</i>                                   | Benzylpenicillin                   | 12-20 millió egység      | Cefazolin (4 x 1 g)<br>Clindamycin (4 x 600 mg)<br>Vancomycin (2 x 1 g)   |
| Penicillin rezisztens <i>S. aureus</i>                                 | Nafcillin vagy<br>Cefazolin        | 4-6 x 1-1.5 g<br>3 x 2 g | 2. generációs cefalosporinok (Cefuroxime,<br>Cefamandol)<br>Clindamycin (4 x 600 mg)<br>Vancomycin (2 x 1 g)<br>Ciprofloxacin (2 x 750 mg)<br>Levofloxacin+Rifampicin (1x 600 mg) |
| MRSA   | Vancomycin vagy<br>Linezolid       | 2x 1 g<br>2 x 600 mg     | Teicoplanin<br>(1. nap 2 x 400 g, majd 1 x 400 g)   |
| Streptococcusok<br>(A, B csoport,<br><i>Streptococcus pneumoniae</i> ) | Benzylpenicillin                   | 12-20 millió egység      | Clindamycin (4 x 600 mg)<br>Eritromycin (4 x 500 mg)<br>Vancomycin (2 x 1 g)  |
| Enterális Gram-negatív baktériumok                                     | Ciprofloxacin                      | 2 x 750 mg               | 3. generációs cefalosporinok<br>(Ceftriaxon 1 x 2 g, Cefepime)  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | Piperacillin és<br>aminoglikozidok | 6 x 2-4 g                | Cefepime (2 x 2 g) vagy kinolonok és<br>aminoglikozidok (érzékenység szerint)   |
| Anaerobok  | Clindamycin                        | 4 x 600 mg               | Ampicillin-sulbactam (3 x 2 g)<br>Metronidazol<br>(Gram-negatívokra 3 x 800 mg)   |
| Kevert fertőzés (aerob, anaerob)                                       | Ampicillin-sulbactam               | 3-4 x 2-3 g              | Imipenem (4 x 500 mg)   |

**4. táblázat** Leggyakrabban alkalmazott antibiotikumok csontvelőgyulladásban (Lazzarini et. al., 2004, Lew et al., 2004)

A gyógyszeres kezelés általános, bevált időtartalma 4-6 hét. Ezt az időintervallumot állatkísérletes eredmények és a debridement utáni revaszkularizációt igénylő idő alapján határozták meg (Lazzarini et al., 2009), ugyanis a debridementet követően körülbelül 4-6 hét szükséges a revaszkularizációs szövet kialakulásához (Waldvogel et al., 1970). Egyes szerzők ennél lényegesen hosszabb (6 hónap, vagy 6 hónapnál <) kezelést is alkalmaztak, azonban a 4-6 hetes kezeléshez képest lényeges javulást nem tapasztaltak (Hedstrom et al., 1974, Wagner et al., 1985). Ennek az az oka, hogy ha a terápia 4-6 hét elteltével sem hoz javulást, akkor újabb sebészi beavatkozás szükséges, mivel az ennél hosszabb gyógyszeres kezelés sem hozna valószínűleg jobb eredményt addig, míg a devitalizált csont nincs eltávolítva az infekció területéről (Waldvogel et al., 1970). Tehát látható, hogy a kezelés egyik legnagyobb problémája a fertőzött terület rossz vérellátása, ami miatt relatív nagy dózisu gyógyszer adása indokolt. A másik sarkalatos pontja pedig az, hogy viszonylag hosszú ideig szükséges a kezelést folytatni; emiatt viszont megnő az antibiotikum rezisztencia és a szisztémás mellékhatások kialakulásának veszélye.

Mint korábban említettem, a csontvelőgyulladásokban a leggyakrabban izolált törzs a *S. aureus*. Ilyen fertőzések esetén a penicillin származékok a leggyakrabban alkalmazott antibiotikumok. Azonban a penicillinek ellen többféle bakteriális rezisztencia alakulhat ki. Az egyik a  $\beta$ -laktamáz termelés, mely a *S. aureus* rezisztencia kialakulásának döntő többségéért felelős. Ilyen esetben a kórokozó egy olyan enzimet termel, mely a  $\beta$ -laktám gyűrű elhasításával hatástalanítja a gyógyszermolekulát. A másik az ún. intrinszik rezisztencia, melyre a legtipikusabb példa az *MRSA*. Továbbá rezisztenciához vezethet még a penicillin kötő fehérjék mutációja és a sejtfal permeabilitásának csökkenése is. Tovább bonyolítja a kezelést, ha a fertőzést *MRSA*, *vancomycin rezisztens Enterococcus (VRE)* vagy más multirezisztens baktérium okozza. Léteznek olyan *MRSA* törzsek is, melyek vancomycin kivételével minden jelenleg elérhető antibiotikummal szemben rezisztensek. Az ilyen *MRSA* fertőzés esetén ezért a vancomycin a választandó antibiotikum. Sajnálatos módon azonban már azonosítottak olyan *Staphylococcus* törzseket is, melyek vancomycinre nézve is rezisztensek (*VRSA*) (Srinivasan et al., 2002).

## b. Lokális antibiotikum kezelés

A csontvelőgyulladások kezelésében alapvető nehézséget jelent a fertőzött terület rossz vérellátása. A csökkent vérkeringésű területeken a szervezet védekező rendszere nem működik megfelelően, továbbá a szisztémás antibiotikum terápia számára is nehezen hozzáférhető. A kórokozó eradikálásához megfelelően magas lokális gyógyszer szint eléréséhez ezért olyan nagy dózisu, hosszú ideig tartó szisztémás gyógyszeres terápiát kell alkalmazni, mely súlyos mellékhatásokkal, toxicitással járhat együtt. Így az utóbbi évtizedekben egyre inkább előtérbe került a lokális antibiotikum terápia lehetősége az ortopéd és traumatológiai sebészetben.

A lokális terápia alkalmazása tapasztalati elveken alapul. Egyes szerzők megfigyelték, hogy a fertőzött terület antibiotikus öblítésével jobb gyógyulási eredményeket értek el. Ennek az az oka, hogy az öblítőfolyadék kemo-mechanikailag tisztítja a fertőzött területet; a folyadék mechanikai tisztítószerepén túl az antibiotikum tartalma is rész vesz a jelenlévő kórokozók eliminálásában (Bayston et al, 1982; Buchholz et al, 1970; Chant et al, 1995).

A lokális terápia legnagyobb előnye, hogy a használt antimikrobiális szer szinte kizárólag csak az adott területen fejti ki a hatását, ezáltal a szisztémás keringésben a helyileg alkalmazott koncentrációnak csak a töredéke jelenik meg (Cierny et al., 1984, Cripps et al., 1998).

Az első igazi nagy áttörést a lokális kezelések terén 1970-ben Buchholz és munkatársa publikálta (Buchholz et al., 1970). Közleményükben arról számoltak be, hogy a csontcementbe kevert antibiotikum egy része kioldódik, és ezáltal az implantátum felületének antibiotikus védelmét biztosítja. Később 1979-ben Klemm a csontvelőgyulladás terápiájában a keletkezett „dead space” kitöltésére és lokális gyógyszeres kezelésére gentamicinnel impregnált csontcementből (PMMA) készített gyöngyöket használt. 128 páciens kezelésakor 91.4%-os gyógyulást sikerült elérnie (Klemm, 1979).

A PMMA alapú rendszerek azóta is a leggyakrabban alkalmazott és legszélesebb körben tanulmányozott lokális antibiotikum terápiát szolgáló eszközök. Ennek legfőbb oka, hogy jó biokompatibilitással rendelkeznek, könnyen alkalmazhatóak, mindenki számára

beszerezhetőek, továbbá a szisztémás kezeléshez képest jóval magasabb lokális gyógyszer szintet biztosítanak a fertőzött területen, és nem utolsó sorban jelentős költség megtakarítást jelentenek (Gogia et al., 2009).

A 4A-C. ábrák a PMMA-gyöngyök nyílt lábszárcsont törésében való alkalmazását szemléltetik.



**4A-C. ábra** Példák az antibiotikummal impregnált gyöngyök felhasználására nyíl tibia törésnél. (A) Tibia plató törés, (B) operáció előtt és (C) után fibula töréssel társult nyílt disztális tibia törés. (Gogia et al., 2009)

Azonban a PMMA alapú rendszereknél a felhasználható antibiotikumok száma jelentősen korlátozott. A csontcementbe kevert antibiotikumoknak ugyanis egyrészt hőstabilnak, vízdékonynak, másrészt pedig por formátumúnak kell lennie (DiPisa et al., 1976, Popham et al., 1991, Roeder et al., 2000, Rao et al., 2002, Gogia et al., 2009).

A leggyakrabban alkalmazott antibiotikumok máig is az aminoglikozidok. Az aminoglikozidok közül elsősorban a gentamicint, illetve a tobramycint használják (Roeder et al., 2000, Gogia et al., 2009). Továbbá a vancomycin, clindamycin, az eritromicin,

tetraciklin valamint cefalosporinok: cefazolin, cefotaxim, cefamandol használatára is találhatunk példát a szakirodalomban (Levin et al., 1975, McQueen et al., 1990, Kiss et al., 1992, Greene et al., 1998, Roeder et al., 2000, Rao et al., 2002).

A PMMA mellett más rendszerek is léteznek. A lokális antibiotikum terápiát szolgáló egyéb eszközökre példákat az 5. táblázat szemlélteti.

| <b>Hordozó</b>                                 | <b>Antibiotikum</b>  |
|--|--|
| BIS-GMA/TEGDMA                                 | Cefalexin (Otsuka et al., 1997)  |
| Plaster of Paris (POP)                         | Teicoplanin (Dacquet et al., 1992)<br>Gentamicin, Fucidin (Mackey et al., 1982)    |
| Kollagén szivacs                               | Gentamicin (Mendel et al., 2005)   |
| Hidroxilapatit                                 | Gentamicin (Shinto et al., 1992)   |
| Kalcium-szulfát                                | Tobramycin (Nelson et al., 2002)<br>Daptomycin (Webb et al., 2008)                 |
| Kalcium-szulfát demineralizált csontmátrixszal | Vancomycin (Bibbo et al., 2006)  |
| Poliuretán                                     | Ciprofloxacin, Gentamicin, Fosfomicin,<br>Flucloxacillin (Schierholz et al., 1997) |
| Demineralizált csontmátrix                     | Tobramycin (Miclau et al., 1993)   |
| Csont xenograft                                | Gentamicin (Li et al., 2001)   |
| Hialuronsav                                    | Gentamicin (Matsuno et al., 2006)  |

**5. táblázat** Lokális antibiotikum terápiát szolgáló rendszerek

## 2. 2. A PMMA CSONTCEMENT

### 2. 2. 1. A PMMA történeti áttekintése, felhasználása

Az ún. „savas akrilátot”, vagy más néven akrilsavat először 1843-ban használták. A neve a latin eredetű „acreolan” szóból ered. A szó jelentése ecet, mely a monomer vegyületnek a jellegzetes savas, ecetre emlékeztető illatára utal (Hendriks et al., 2004, Webb et al. 2007). 1865-ben állították elő először az akrilsav egyik származékát; a metakrilsavat.

A metakrilsav metanollal képzett észtere a metil-metakrilát (MMA). A MMA-ból ezután 1877-ben két német kémikus állította elő a polimerizált PMMA-t. Valamivel később Otto Röhm, aki a MMA polimerizációját kutatta, gyártani kezdte a PMMA polimert, mely terméket a Röhm and Haas vállalat 1936-ban Plexiüveg<sup>TM</sup> néven hozott kereskedelmi forgalomba (Hendriks et al., 2004).

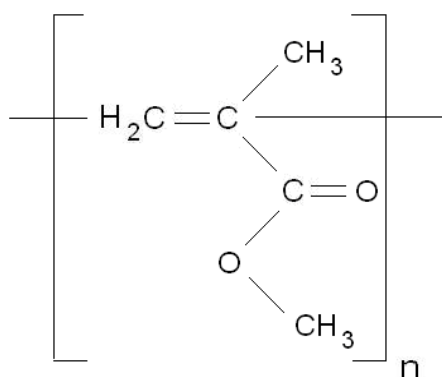
A PMMA-t napjainkban is számos területen használják. Ennek legfőbb oka az, hogy a PMMA kiváló biokompatibilitással és könnyű feldolgozhatósággal rendelkezik. A gyógyászati célokra történő alkalmazásának előzménye az volt, hogy a II. világháborúban használt repülőgépek szélvédőjét is plexiüvegből készítették: Mivel számos vadászpilóta szenvedett a háborúban repülőgép balesetet, észrevették, hogy a baleset során a pilótákba fúródott PMMA darabok nem váltottak ki szöveti reakciót (Apple et al., 1996, Hendriks et al, 2004).

Az orvosi felhasználására az első feljegyzések az 1940-es évek elejéről származnak. Már akkor használták a PMMA-t koponyadefektusok zárására (Hendriks et al., 2004). Ezenkívül alkalmazták a maxillofaciális sebészetben is defektusok pótlására (Munson et al., 1941). Majd 1950-ben a Judet fivérek hőre kötő csontcementet alkalmaztak csípőízületi artroplasztikában (Judet et al., 1950). Haboush 3 évvel később a csípőízületi protézis jobb rögzülését PMMA beinjektálásával érte el (Haboush EJ, 1953). Később Charnley nevéhez fűződik az első önkötő akrilát csontcement ortopédiai felhasználása (Hendriks et al., 2004).

Azóta az orvostudomány számos más területén is széles körben használják a PMMA-t; például dializáló membránok, intraokuláris szemlencsék, kontaktlencsék, illetve a fogászatban fogsor alapanyagok készítésére (Hendriks et al. 2004, Frazer et al., 2005).

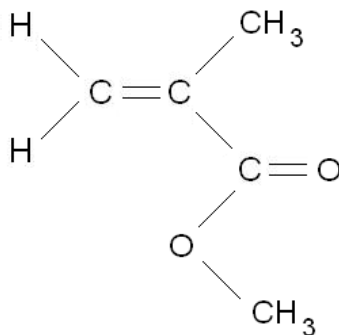
### 2. 2. 2. A PMMA csontcement fizikai és kémiai tulajdonsága

A PMMA az MMA lánreakciójával előállított szintetikus polimer. Kémiai szerkezetét az 5. ábra szemlélteti. Sűrűsége 1.17–1.20 g/cm<sup>3</sup>, olvadáspontja 200°C.



5. ábra A PMMA kémiai szerkezete

A MMA a metakrilsav észtere. Egy színtelen, jellegzetes szagú folyadék. Sűrűsége 0.9 g/cm<sup>3</sup>, forráspontja 100°C, moláris tömege 100 g/mol. A kémiai szerkezetét a 6. ábra mutatja:



6. ábra A MMA kémiai szerkezete



A legfontosabb funkcionális része a két szénatom közötti kettős kötés. Ez a kötés felelős a polimerizációs reakció lezajlásáért. A reakcióképes kettős kötések ellenére azonban a monomerek nem képesek a gyors polimerizációra, a folyamat meglehetősen sok időt vesz igénybe, illetve jelentős a zsugorodás (20%<) és a hőképződés (100°C<) is.

Ezért a jelenleg kapható akrilát csontcementek két komponensből állnak. Az egyik alkotóelem a folyékony halmazállapotú MMA, a másik pedig a por formátumú előpolimerizált PMMA. A 6. táblázat szemlélteti a kereskedelmi forgalomban kapható csontcementek összetételét (Breusch et al. 2003, Webb et al., 2007).

Az előpolimerizált PMMA por kis átmérőjű (1-125 µm) golyócskákból áll, melyeket jól hűtött forralóedényben gyárilag készítenek elő, és jól oldódnak a monomerben. Így az előre gyártott polimer por alkalmazásával a felhasználás során jelentősen csökkenthető a hőtermelés és a zsugorodás. Rimnac és munkatársai a Palacos cement esetén mintegy 3% zsugorodást tapasztaltak (Rimnac et al., 1986).

| <b>Összetétel</b>                | <b>Szerep</b>                            |
|----------------------------------|--|
| <b>Por komponens</b>             |  |
| Polimer                          | Polimetil-metakrilát                     |
| Ko-polimerek (MA-MMA)            | A cement fizikai tulajdonságát módosítja |
| Bárium-szulfát, Cirkónium-dioxid | Röntgenárnyékot ad                       |
| Színezőanyag (klorofil)          | Elkülöníti a cementet a csontszínétől    |
| Antibiotikum por*                | Antimikrobiális hatás                    |
| <b>Folyadék komponens</b>        |  |
| Monomer                          | Metil-metakrilát monomer                 |
| N,N-dimetil-p-toluidin (DMPT)    | Aktivátor                                |
| Dibenzoilperoxid                 | DMPT-vel reagál, iniciátor               |
| Hidrokinon                       | Stabilizáló anyag, inhibitor             |
| Színezőanyag (klorofil)          | Elkülöníti a cementet a csontszínétől    |

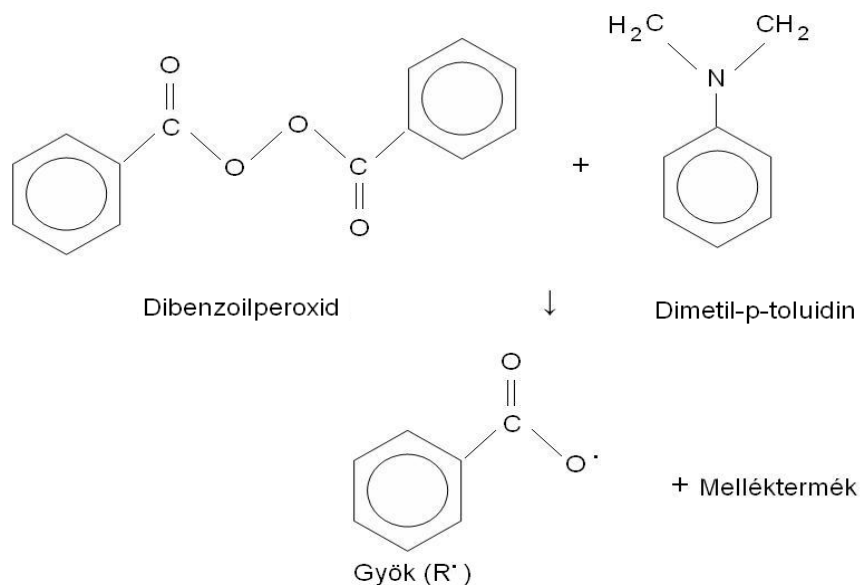
**6. táblázat** A kereskedelmi forgalomban kapható csontcementek összetétele (Breusch et al. 2003, Webb et al., 2007)

\*csak bizonyos gyártmányok esetén

A táblázatból kitűnik, hogy a kapható cementek pora egyéb alkotóelemeket is tartalmaz; ilyen például az iniciátor dibenzoilperoxid, vagy a röntgenárnyékot adó sugárelnyelő cirkónium dioxid, bárium szulfát, illetve a könnyebb felhasználást biztosító színezőanyagként szolgáló klorofil.

### 2. 2. 3. Polimerizáció folyamata

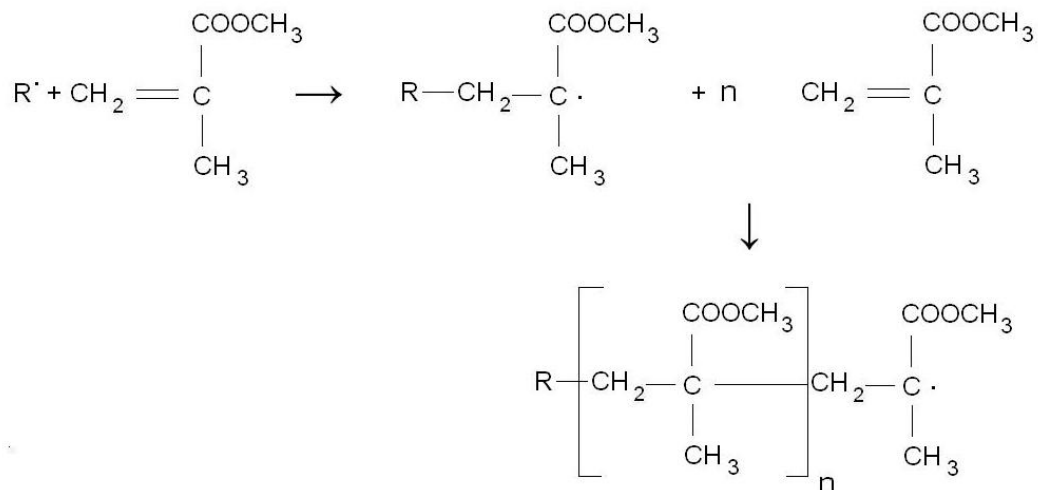
A PMMA polimerizációja hőtermeléssel járó, exoterm kémiai folyamat (Webb et al., 2007). A reakció a por alapú polimer és a folyékony monomer összekeverésével indítható el. A legtöbb csontcement esetében a port a monomerrel 2-3:1 arányban kell összekeverni, mivel ezzel az aránnyal lehet minimálisra csökkenteni a polimerizációs zsugorodást, illetve a hőképződést.



7. ábra Láncindítás (inicializálás) (Breusch et al. 2003)

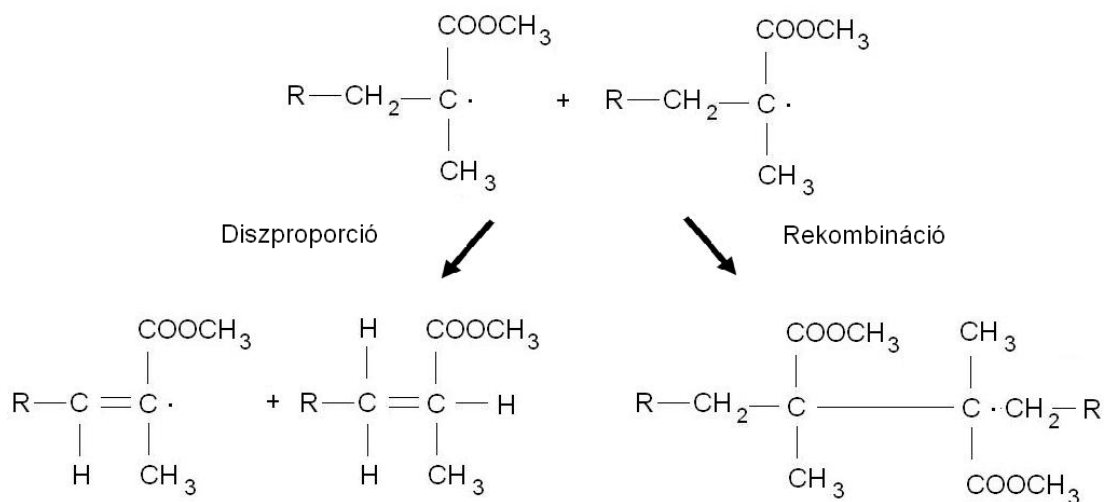
A PMMA polimerizáció fajtáját tekintve gyökös polimerizáció. A láncindító reakció (7. ábra) során aktív centrumok; szabadgyökök képződnek, melyek a monomerrel egyesülve, növekvő makrogyököket hoznak létre (láncnövekedés, 8. ábra). Tehát a láncnövekedés közben az aktivált monomer további monomerekkel reagál. Ez a

láncnövekedési folyamat pedig addig tart, amíg az aktív centrum él, és van monomer a rendszerben. Végül az aktív centrumok megszűnésével a reakció befejeződik.



**8. ábra** Polimerizációs láncnövekedés (Breusch et al. 2003)

A szabad gyök dezaktiválódik, mely kétféleképpen történhet; rekombinációval és diszproporcióval (9. ábra) (Breusch et al. 2003). A láncreakció során a MMA mólonként 52 KJ energiát ad le, mely a cement tekintetében  $1.4-1.7 \times 10^8 \text{ J/m}^3$  hőfelszabadulással jár (Webb et al., 2007).



**9. ábra** Lánczáródás (Breusch et al. 2003)

Bizonyos szerzők *in vitro* és *in vivo* is tanulmányozták a láncreakció során felszabaduló hőtermelést, illetve ennek hatását. Meyer és munkatársai azt találták, hogy a feleslegben alkalmazott monomer, a nagyobb anyagvastagság, illetve a magasabb környezeti hőmérséklet kedvezőtlen irányban fokozza a polimerizációs hőképződést (Meyer et al., 1973). Továbbá a vizsgálatok során DiPisa 70-120°C-os hőtermelést detektált (DiPisa et al., 1976). Az *in vitro* mérésekkel szemben azonban a klinikai kutatásokban ennél jóval alacsonyabb hőmérsékleteket detektáltak (Webb et al., 2007). Egyes szerzők a csont és csontcement határán mintegy 43-46°C-os hőmérsékletet mértek (Tocksvig-Larsen et al., 1991), míg mások 48°-os hőmérséklet maximumot detektáltak (Reckling et al., 1977). Az *in vitro* és *in vivo* mérések közti jelentős differencia feltehetően a helyi vérkeringés hűtő hatásának, és a nagyobb felületnek a következménye (Webb et al., 2007).

Ha fizikailag szeretnénk a polimerizációt jellemezni, akkor négy fő fázist különíthetünk el azon idő alatt, míg a monomer hozzáadás utáni folyékony, relatív alacsonyabb viszkozitású anyagból kemény polimer képződik.

1. Keverési fázis: A keverék folyékony halmazállapotú. Ekkor indulnak el a kémiai reakciók.
2. Várakozási (tészta állag I) fázis: A keverék viszkozitása folyamatosan nő, egyre ragacsosabbá válik. A láncreakció elindult, a képződő polimer láncok miatt lesz az anyag egyre kevésbé folyékony.
3. Felgyorsult polimerizációs (tészta állag II) fázis: A viszkozitás tovább növekszik, elindul a hőképződés. A láncnövekedés tovább folytatódik. A fázis végére a tézta állagú massa nem ragad.
4. Szilárdulási fázis: A PMMA megkeményedett, így az anyag nem formálható tovább, illetve befejeződik a további hőtermelés. Láncnövekedés megáll, lánctermináció (Passutti et al., 2003).

#### 2. 2. 4. Antibiotikummal impregnált PMMA

Az a koncepció, miszerint a PMMA-t a szeptikus csontfolyamatok terápiájában lokális antibiotikum terápiát szolgáló eszközként alkalmazzuk, Buchholz és Engelbrecht-től származik (Buchholz et al., 1970). 1970-ben az ő ötletük volt, hogy a csontcementhez por alapú antibiotikumot keverve, az a cement megszilárdulása után depóként szolgálva folyamatos gyógyszerleadást biztosít. Gentamicin-szulfátot használtak, mivel kiváló vízdékonysággal, széles spektrummal, alacsony allergizáló hatással, illetve rendkívül jó hőstabilitással rendelkezik (Hendriks et al., 2004). Még az 1970-es években Klemm antibiotikummal töltött PMMA gyöngyöket készített, és ezt használta csontvelőgyulladás kezelésében (Nelson et al., 1992, Rao et al., 2002). A gyöngyforma megnövelt felületével fokozta az antibiotikum leadást, illetve láncba foglalva elősegítette a későbbi eltávolítást (Nelson et al., 1992).

A jelenleg használatos PMMA rendszerek az antibiotikumot vagy előre gyárilag elkészített formában tartalmazzák, vagy pedig a sebész által közvetlenül a műtőben bekevert, kézzel gyúrt formában léteznek. Európában kereskedelmi forgalomba az antibiotikummal impregnált PMMA először 1976-ba került, azonban még napjainkban is csak egyféle PMMA-gyöngy kapható; a 7.5 mg gentamicin-szulfát tartalmú, 7 mm átmérőjű gyöngyökből álló Septopal lánc (Biomet Europe, Darmstadt, Németország). Ezzel szemben az Egyesült Államokban még a mai napig sem engedélyezte a Food and Drug Administration (FDA) az antibiotikummal kevert gyöngyöket (Nelson et al., 1992, Roeder et al., 2000, Rao et al., 2002). Ez azért problémás, mert a gyárilag előállított gyöngyök antibiotikum leadási kinetikája sokkal kedvezőbb, mint a nem standardizált körülmények között kézzel készített cement gyöngyöké (Nelson et al., 1992, Rasyid et al., 2009).

Láthatjuk tehát, hogy immáron több mint négy évtizede használatosak az antibiotikum impregnált PMMA alapú rendszerek annak ellenére, hogy számos hátrányos tulajdonságuk ismert. Kiemelkedő ezek közül, hogy jelentősen korlátozott a felhasználható antibiotikumok típusa. Ennek az az egyik oka, hogy kizárólag olyan hőstabil gyógyszertípust lehet alkalmazni, mely az akrilát magas polimerizációs hőmérséklete (akár 100°C feletti) után is megtartja biológiai aktivitását (DiPisa et al., 1976, Rao et al., 2002). Emellett csak olyan antibiotikumokat alkalmazhatunk, melyek nem befolyásolják a cement

mechanikai tulajdonságát, illetve melyek por formában hozzáférhetőek, azért hogy a keverési és kötési reakciók zavartalanul végbemehessenek (Popham et al., 1991, Roeder et al., 2000, Rao et al., 2002). Ezen kritériumoknak pedig csak kevés antibiotikum felel meg.

További hátrányt jelent, hogy a PMMA alapú rendszereket tipikusan kétfázisos antibiotikum leadási profil jellemzi (Levin et al., 1975, Bunetel et al., 1989, Kuechle et al., 1991, Wu et al., 2006; Dunne et al., 2007; Moojen et al., 2008; Squire et al., 2008; Zilberman et al., 2008). A kétfázisos kiáramlás jellemzője, hogy a terápia első pár napjában magas, majd azt követően lényegesen lecsökkent gyógyszerleadás mérhető, ez pedig messze elmarad az ideálistól (Belt et al., 2001; McLaren, 2004; Wu et al., 2006).

Továbbá a PMMA-ba kevert antibiotikumnak kevesebb, mint 10%-a oldódik ki a polimer mátrixból, ezért az antibiotikumokat jelentős feleslegben kell használni (DiMaio et al., 1976, Bunetel et al., 1989, Miclau et al., Cabanillas et al., 2000, 1993, Zilberman et al., 2008).

Ez utóbbi két probléma arra vezethető vissza, hogy a PMMA erősen hidrofób, így az antibiotikum tartalma csak abban az esetben tud kiáramlani, ha az közvetlen hozzáférhetővé válik a vizes közeg számára. A kioldódott antibiotikum helyén így pórusok keletkeznek, melyek további felületnövelő hatásukkal még több közvetlen felszíni kontakttal elérhető területet szabadítanak fel. A folyamat végére így egy anyagon belüli pórushálózat alakul ki. Alapvetően azt is mondhatjuk, hogy az anyag porozitása döntően meghatározza az antibiotikum kiáramlást (McLaren et al., 2007).

Ezért, hogy egyes munkacsoportok megnöveljék a PMMA porozitást, illetve ennek megfelelően a permeabilitást, különböző vízdékony töltőanyagokat keverték a PMMA-ba. Ilyen töltőanyag például a szénhidrátok közül a dextrans és szukróz (Kuechle et al., 1991, McLaren et al., 2007), aminosavak közül a glicin (McLaren et al., 2004, 2006), poliolok közül az eritrol és xilitol (McLaren et al., 2006, 2007, Weiss et al., 2009), a polivinil-pirrolidon (PVP) (Rasyid et al., 2009), illetve további feleslegben használt antibiotikum (Dunne et al., 2007). A kioldódott vízdékony töltőanyag helyén így szintén pórusok, elúciós csatornák képződnek, melyek felületnövelő hatásukkal fokozzák a folyadék (szövetnedvek) penetrációt az anyag belsejébe megnövelve ezzel a gyógyszer leadást. A fokozott porozitásnak köszönhetik a gyárilag előállított cementek is a kedvezőbb antibiotikum kiáramlási profilt (Nelson et al., 1992, McLaren et al., 2007).

McLaren és munkatársai fenolftaleinnel vizsgálták a különböző mennyiségű töltőanyagot tartalmazó PMMA gyöngyök permeabilitását (McLaren et al., 2005). Azt találták, hogy minél több a töltőanyag mennyisége, annál porózusabb lesz a polimer szerkezete, mely növeli a folyadék penetrációt, ezáltal a fokozott antibiotikum leadást is.

Összefoglalva jelen ismereteink szerint az antibiotikum kioldódás alapvető mechanizmusa a következő:

1. felszíni kioldódás,
2. pórusképződés,
3. kialakult pórushálózaton keresztül további kioldódás a polimer mátrixból,
4. diffúzió a mátrix belsejéből a cement állományán keresztül.

McLaren munkacsoportja vizsgálata a töltőanyag szemcse nagyság hatását is. Azt találták, hogy a nagyobb szemcse méret növelte a kezdeti folyadék penetrációt a gyöngyök belsejébe (McLaren et al., 2007).

Szintén McLarenék vizsgálták azt is, hogy van-e különbség az eredeti védett tobramycin, illetve a generikus tobramycin PMMA cementből való kioldódása között. Munkájukat arra alapozták, hogy azonos mennyiségű, de különböző gyógyszerek térfogata különbözhet. Azt tapasztalták, hogy a nagyobb térfogatú, generikus tobramycinnek kedvezőbb a kiáramlási kinetikája (McLaren et al., 2008).

Ezen felül a különböző keverési módszerek (vákuumban keverés, normál légköri nyomáson keverés) hatását is tanulmányozták már. A kutatók arra a kérdésre keresték a választ, hogy mely módszer növeli a leginkább az antibiotikum leadást (Kuechle et al., 1991). A vizsgálat eredménye itt is az anyag porozítására volt visszavezethető; a vákuumban kevert rendszerek a kisebb porozítás következtében lényegesen rosszabb kinetikát mutattak.

Penner és munkatársai az antibiotikum kioldódást két antibiotikum (vancomycin és tobramycin) együttes alkalmazásával fokozták (Penner et al., 1996).

### 2. 2. 5. Antibiotikummal töltött (első generációs) PMMA kapszulák

2006-ra a Pécsi Tudományegyetemen Börzsei és munkatársai kifejlesztettek egy PMMA alapú antibiotikum hordozó rendszert (Börzsei et al., 2006a, 2006b). A céljuk az volt, hogy egy olyan edényrendszert fejlesszenek ki, melybe bármely gyárilag készült antibiotikum belehelyezhető, és a feltételezésük szerint az antibiotikum az edény falán átjutva helyileg baktericid koncentrációt biztosítva terápiás lehetőséget nyújt a jövőben a szeptikus csontfolyamatok kezelésében.

Ezeket az első generációs PMMA kapszulákat (10. ábra) azonban egy présgép segítségével állították elő, mely előállítási technológiáról azóta bebizonyosodott, hogy számos hibaforrást rejt magában (zsugorodás, és a zsugorodásból adódó pontatlan zárszerkezet).



10. ábra Első generációs PMMA kapszulák (Börzsei et al, 2006)

Az ötletet azonban munkacsoportunk nem vetette el. Számos ponton változtatva létrehoztunk egy második generációs PMMA kapszularendszert. Ezúttal a PMMA edények falának áteresztőképességét különböző tartalmú vízdékony töltőanyaggal (szorbitol) biztosítottuk. A töltőanyag tartalom mellett egy másik változó paramétert is beiktattunk: a falvastagságot. Ezen felül nagyon pontosan illeszkedő zárszerkezet is sikerült kialakítanunk.

Jelen dolgozatomban a továbbfejlesztett második generációs PMMA-szorbitol kapszulák in vitro permeabilitás és antibiotikum leadási kinetikáját vizsgáltuk.



### 3. CÉLKITŰZÉSEK

A traumatológiai, ortopéd és szeptikus sebészetben még napjainkban is mintegy „arany standardnak” tekinthető az antibiotikum hordozó PMMA csontcement (Nelson, 2004). Felhasználásának egyik kiemelkedő területe a krónikus oszteomyelitiszek, a szeptikus ízületi és csontgennyedések kezelése. Azonban az anyag tulajdonságaiból adódóan számos hátrányos tulajdonságuk ismert. Ezért:

1. Célunk volt egy olyan lokális antibiotikum terápiát szolgáló eszköz kifejlesztése, mely a korábbi PMMA alapú rendszereknél hatékonyabb lokális terápiás lehetőséget biztosít a szeptikus csontfolyamatok kezelésében.

2. Olyan rendszert akartunk kifejleszteni, mely lehetőséget biztosít bármilyen antimikrobiális szer lokális alkalmazására. Mivel a kapszulákat a polimerizációs folyamat lezajlása után töltjük meg, így nem csak hőstabil, vízdékony és por formátumú készítményeket, hanem az antibiogram alapján indokolt, célzott antibiotikumokat lehetne alkalmazni. Következésképp a kapszulákat közvetlenül a műtét előtt, vagy a műtét közben megtöltve lényegesen kitágulna a rendelkezésünkre álló, lokálisan adható antimikrobiális szerek köre.

3. Továbbá olyan rendszert szeretnénk volna kifejleszteni, mely időben szabályozható, előre megjósolható kiáramlási kinetikával rendelkezik, lehetőséget biztosítva a terápia teljes időtartama alatt az egyenletes gyógyszer szintre. Ezáltal a konvencionális PMMA alapú rendszerek tipikusan kétfázisos antibiotikum leadási profiljánál kedvezőbb, közel ideális lokális terápiás gyógyszer szintet biztosíthatnánk.

4. Ezért egy vízdékony töltőanyag tartalmú (szorbitol) PMMA alapú kapszularendszert készítettünk különböző töltőanyag tartalommal és falvastagsággal. Hipotézisünk az volt, hogy e két paraméter szabályozásával

befolyásolni tudjuk a kapszula falának átteresztőképességét. Mindent összevetve, ha a kapszulákat megtöltjük, majd vizes közegbe helyezük a falvastagság függvényében a töltőanyag kioldódás helyén ún. elúciós csatornák képződnek, melyek hatással vannak a kapszulafal átteresztőképességére, és ennek megfelelően a kapszulába töltött anyag kiáramlási kinetikájára.

5. A kifejlesztett kapszulák permeabilitását idő függvényében spektrofotometriás módszerrel vizsgáljuk. Mértük, hogy a kapszulákba töltött brómfenolkék oldatot milyen mértékben képes a kapszulák fala átteresztetni, illetve, hogy azt milyen ütemben teszik. A vizsgálatok után pásztázó elektronmikroszkópos felvételeken értékeltük a különböző kapszulák felszíni morfológiáját.

6. Továbbá választ kerestünk arra a kérdésre, hogy a kiáramlás összefüggésben áll-e a PMMA kapszulák falvastagságával és a töltőanyag tartalmával.

7. Az előzetes in vitro vizsgálatok után, az eredményül kapott permeabilitás profilok alapján kiválasztottuk a legalkalmasabbnak ígérkező, a jövőben potenciális terápiás lehetőséget nyújtó típusokat.

8. A kiválasztott kapszula típusokat tovább vizsgáltuk különbözőfajta antibiotikumokra nézve. Az antibiotikum leadást egyrészt mikrobiológiai, másrészt nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás módszerrel határoztuk meg.

9. Végül összehasonlítottuk az általunk kifejlesztett kapszulák és a jelenleg egyetlen kereskedelmi forgalomban kapható PMMA-gyöngy antibiotikum leadási képességét.

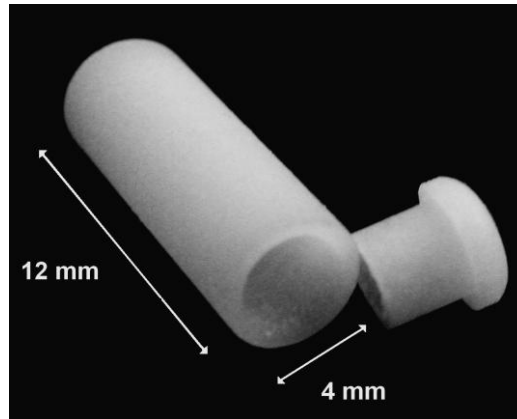
## 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4. 1. MÁSODIK GENERÁCIÓS PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK PERMEABILITÁS VIZSGÁLATA

#### 4. 1. 1. PMMA-szorbitol kapszulák készítése

Az vizsgálatokhoz összesen 16 féle kapszulát állítottunk elő eltérő szorbitol tartalommal és falvastagsággal. A töltőanyagként használt szorbitolt (Sigma-Aldrich, Steinheim, Németország) először ledaráltuk, majd az egyenletes szemcsenagyság biztosítása érdekében, egy 160 µm-es szűrőn (Millipore, Billerica, USA) átszitáltuk. Ezt követően a szorbitolt 40, 50, 60 és 70 tömegszázalék (w/w %) arányban homogéne összekevertük a PMMA (Surgical Simplex P, Stryker-Howmedica-Osteonics, Rutherford, USA) polimer porral. Az így keletkezett 4 féle keverékhez ezután adtuk hozzá a monomert, és henger alakú blokkokat készítettünk.

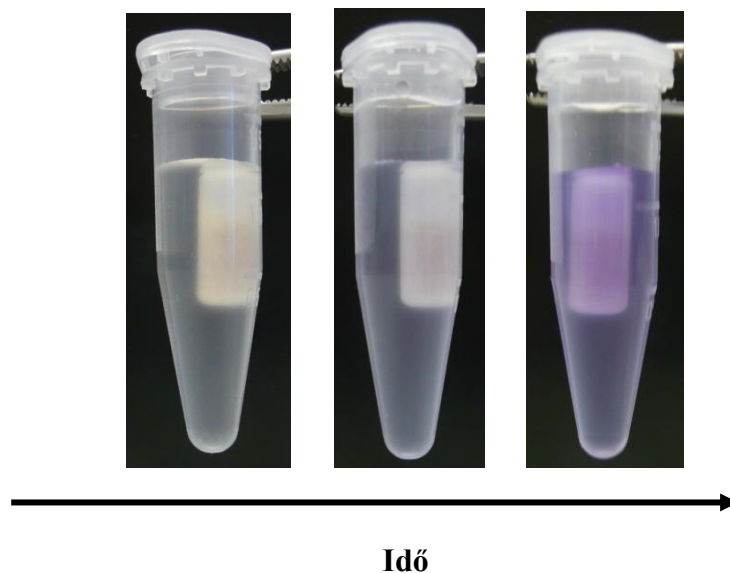
Korábban Börzsei munkatársaival (Börzsei et al. 2006a, 2006b) az első generációs PMMA kapszulák gyártásához préstechnikát alkalmazott. A kapszulákat a még formálható PMMA keverékből a kívánt formájúra préselték. Mivel a kapszulák a kész forma kialakítását követően polimerizálódtak, így jelentősen zsugorodtak, deformálódtak. Munkacsoportunk azért, hogy a korábbi technológiából adódó deformításokat kiküszöbölje, először megfelelő méretű henger blokkokat préselt a bekevert tészta állagú masszából, majd a polimerizációt követően a már megpolimerizálódott blokkokból egy forgácsológép segítségével 0.3, 0.4, 0.5 és 0.6 mm falvastagságú kapszulákat készített. A továbbfejlesztett gyártási technológiának köszönhetően így a polimerizációs zsugorodás következtében létrejövő pontatlanságokat teljes mértékben ki tudtuk küszöbölni, és századmilliméter pontossággal záródó kapszulákat tudtunk létrehozni. A 11. ábra szemléltet egy PMMA-szorbitol kapszulát és annak zárószerkezetét.



**11. ábra** Második generációs PMMA-sorbitol kapszula. A kapszula dugója századmilliméter pontossággal illeszkedik a kapszulába megakadályozva ezzel a kapszulába töltött anyag kiszivárgását.

#### **4. 1. 2. Kapszulafal permeabilitás vizsgálat**

A különböző típusú kapszulák falának átteresztőképességének meghatározásához diffúziós indikátorként egy jól detektálható anyagot; brómfenolkéket (BPB, Sigma-Aldrich, Steinheim, Németország) használtunk. Minden kapszulát  $40 \mu\text{L}$ ,  $1 \text{ mg/mL}$  BPB-t tartalmazó fiziológiás sóoldattal töltöttünk meg. A kapszulák töltésénél különös figyelmet fordítottunk, hogy a külső felszín ne kontaminálódjon a BPB-vel. Ezután a kapszulákat lezártuk, és egyenként  $1-1 \text{ mL}$  fiz. sóoldatot tartalmazó  $1.5 \text{ ml}$ -es eppendorf csőbe helyeztük szobahőmérsékleten 42 napra. Az eppendorf csöveket lezártuk, hogy megakadályozzuk az oldat párolgását. Minden csoportban 10 kapszula párhuzamos mérését végeztük el. A kapszulákból a 42 nap alatt kiáramlott BPB mennyiségét a környező sóoldatban spektrofotometriás (Perkin-Elmer Lambda 2 Spectrophotometer, Perkin-Elmer, Palm Springs, USA) módszer segítségével határoztuk meg. A 12. ábra mutatja, hogy az idő előrehaladtával kiáramlott BPB mennyisége a környező sóoldatban folyamatosan nőtt.



**12. ábra** A megtöltött, és lezárt kapszulákat 42 napra 1-1 mL fiz. sóoldatot tartalmazó eppendorf csövekbe helyeztük. Különböző időintervallumonként a kapszulákból a kapszulákat körbevevő fiz. sóba kiáramlott festék mennyiségét mértük spektrofotométerrel. Az idő előrehaladtával kiáramlott BPB mennyisége arányos volt a kapszula fal permeabilitásával.

A BPB abszorpciós spektrumának maximumát 592 nm-en mértük. A kalibráláshoz 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ismert koncentrációjú BPB oldatokat használtunk. A kiáramlott BPB mennyiségét a 42 nap alatt összesen 15 alkalommal határoztuk meg; első 6 napon naponta, majd a 9., 12., 15., 19., 23., 27., 32., 37. és 42. napon. Minden mintavételi alkalomkor 800  $\mu\text{l}$  mintát mértünk le, melyeket a mérést követően visszahelyeztünk a mintatartóba. Negatív kontrollként fiz. sóoldattal töltött kapszulákat használtunk.

#### **4. 1. 3. PMMA-szorbitol kapszula felszíni morfológia vizsgálata**

A kapszulák felszíni morfológia vizsgálatához pásztázó elektronmikroszkópos (SEM, JEOL JSM-6300 Scanning Electron Microscope, Akashima, Tokyo, Japán) felvételeket készítettünk. A 42 napos inkubációt követően minden csoportból három kapszula felszínét - mivel a PMMA igen rossz elektromos vezető - vékony, egyenletes, jól vezető aranyréteggel vontuk be. A bevonáshoz vákuum-gőzöléses módszert alkalmaztunk.

A kapszulák felszínéről az aranyozást követően azonos nagyítással (60x) felvételeket készítettünk, majd a felszínen képződött pórusok összfelszínhez viszonyított százalékos arányát egy számítógépes szoftver segítségével meghatároztuk (Image J image processing software, plugin: contour plotter analyzer). Az analízis előtt minden képet 8 bit formátumúvá alakítottunk, majd az intakt felszíneken meghatároztuk a háttérintenzitás értékeit. Ezután a kontúr intenzitást a háttérintenzitáshoz viszonyítva állítottuk be, így a szoftver a háttérnél sötétebb területek méretét meghatározta. Meghatároztuk az összfelszín nagyságát is, és a számolt. meghatározott pórusok százalékos arányát ehhez viszonyítva számoltuk ki.

#### **4. 1. 4. Statisztikai módszerek**

Az adatokat átlagokban fejeztük ki, a mérési hibát standard deviáció formájában tüntettük fel. A statisztikai elemzés az SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programcsomag segítségével történt.

Vizgáltuk egyrésztől varianciaanalízissel (ANOVA) a falvastagság és szorbitol tartalom hatását a BPB kiáramlásra nézve minden mintavételi időpontban (1-42 nap). A szignifikancia szintet  $p < 0.05$  határoztuk meg.

ANOVA-t követően az adatok “post hoc” elemzését végeztük el. Kiválasztottunk 3 - a vizsgálati időszak eleje, közepe, vége – különböző időpontot; a 6., 15. és 32. napot. Majd ezen mintavételi időpontokon páronként összevetettük a kiáramlott kumulatív BPB mennyiségeket. Mivel 3 különböző időpontot vizsgáltuk 16 féle kapszulára nézve, így összesen 720 ( $3 \times 15 \times 16 = 720$ ) analízist végeztünk el. Azokat a kapszulatípusok, melyekből az adott vizsgálati napon szignifikánsan nem különböző ( $p > 0.05$ ) mennyiségű BPB áramlott ki, egyforma színjelölést kaptak.

Továbbá a kiáramlási kinetikák és a felszíni morfológia közötti összefüggéseket is megvizsgáltuk. Mivel a SEM vizsgálatot a 42. nap után végeztük el, a pontosabb összevetés érdekében 4 egymástól különböző, de a kiáramlási kinetikára jellemző paramétert vetettünk össze a pórusok összfelszínhez viszonyított százalékos arányával. A kiválasztott 4 paraméter a következő volt:

- a. a kiáramlás kezdete,
- b. az időintervallum, ami alatt a BPB fele kiáramlott,
- c. a napi maximális BPB kiáramlás,
- d. az időintervallum, ami a BPB 25%, illetve 75%-ának kiáramlása között telt el.

## **4. 2. PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK IN VITRO ANTIBIOTIKUM KIÁRAMLÁS VIZSGÁLATA**

### **4. 2. 1. PMMA-szorbitol kapszulakészítés, és in vitro antibiotikum kiáramlás vizsgálat**

4 féle PMMA-szorbitol kapszulát készítettünk 0.5 és 0.6 mm-es falvastagsággal, illetve 60 és 70 w/w % szorbitol tartalommal a fent említett módszer szerint. A kapszulákat etilén oxidos sterilizést követően aseptikus körülmények között 40 µL antibiotikum oldattal töltöttük meg. A választott antibiotikumok, és azok kapszulánkénti mennyisége a következők voltak:

- a. 4.5 mg gentamicin (7.5 mg gentamicin-szulfát por (Sigma-Aldrich, Steinheim, Németország)) fiz.sóban feloldva,
- b. 1.6 mg tobramycin (Brulamycin, TEVA Pharmaceuticals, Debrecen, Magyarország)
- c. 10 mg amikacin (Likacin, Lisapharma S.p.A, Erba, Olaszország)
- d. 6 mg clindamycin (Dalacin C, Pfizer Kft, Budapest, Magyarország)

Kontrollként kereskedelmi forgalomban kapható PMMA-gentamicin-gyöngyöket (Septopal, Biomet Europe, Darmstadt, Németország) használtunk. A gyöngyök 4.5 mg gentamicint (7.5 mg gentamicin-szulfát formában) tartalmaznak gyöngyönként.

A gyöngyöket, illetve a megtöltött és lezárt, steril kapszulákat 1-1 mL fiz. sóoldatot tartalmazó 1.5 mL-es eppendorf csövekbe helyeztük 42 napra. Az előzetes vizsgálatoknak megfelelő időközönként (1-6. nap naponta, majd a 9., 12., 15., 19., 23., 27., 32., 37. és 42.napon) a fiz. sóoldatot 1-1 mL friss fiz. sóoldatra cseréltük le. A kapott mintákat -80°C

tároltuk a méréséig. Minden csoportban nyolc kapszula és gyöngy párhuzamos mérését végeztük el.

#### **4. 2. 2. Gentamicin, tobramycin, amikacin minimális gátló koncentrációjának meghatározása**

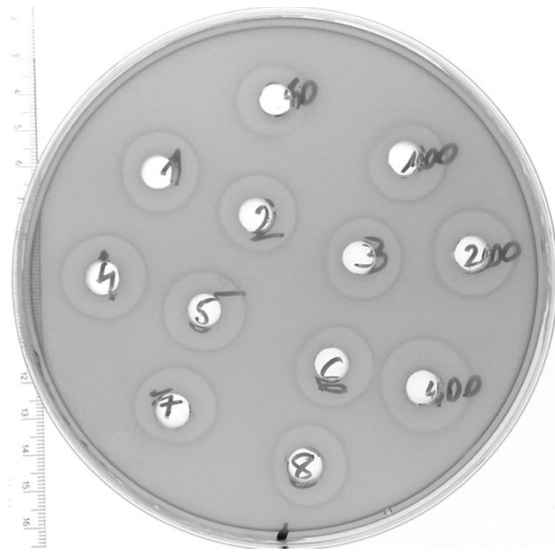
A gentamicin, tobramycin, amikacin minimális gátló koncentrációit (MIC) makrodilúciós módszer segítségével határoztuk meg (Kustos et al., 2005). A vizsgálatokhoz *Staphylococcus aureus* HNCMB 112002 baktérium törzset használtunk.

#### **4. 2. 3. Gentamicin, tobramycin, amikacin kiáramlás meghatározása in vitro mikrobiológiai módszer segítségével**

A PMMA-szorbitol kapszulákból kiáramlott gentamicin, tobramycin, amikacin mennyiségét lemezöntéses agardiffúziós lyuk módszer segítségével határoztuk meg (13. ábra).

100 mL Müeller-Hinton agart (Oxoid, Cambridge, UK) összekevertünk 500  $\mu$ L *S. aureus* szuszpenzióval, majd steril, 150 mm-es átmérőjű petri csészébe (Sarstedt Inc., Newton, USA) öntöttük. A *S. aureus* húsleves tenyészet optikai denzitás értékét még az összekeverés előtt 600 nm-en spektrofotométer (Perkin-Elmer Lambda 2 Spectrophotometer, Perkin-Elmer, Palm Springs, USA) segítségével 0.100-re állítottuk be. Az összekevert táptalajba a lemezöntést követően még dermedés előtt 12 darab 7 mm-es fémtuskót helyeztünk. A táptalaj megszilárdulása után a tuskókat eltávolítottuk, majd 2 csepp agarral az aljzatot lezártuk. A dermedést követően 10-50  $\mu$ L felolvasztott mintát injektáltunk a táptalajokban képzett lyukakba. Minden lemezre a tizenkettő lyukból nyolcra a mintákat, míg a maradék négybe pedig az ismert koncentrációjú standard oldatokat mértünk be. A lemezeket ezután 37°C-on inkubáltuk, majd 24 óra múlva fotódokumentáltuk (Kodak EDAS 290, Kodak, Rochester, USA). A fotók alapján számítógéppel meghatároztuk a kialakult gátlási zónák területét. A gátlási zónák mm<sup>2</sup>-ben mért értékeit az ismert koncentrációjú standard hígítási sor alapján értékeltük, és  $\mu$ g/mL antibiotikum koncentrációkra számoltuk át.





**13. ábra** Lemezöntéses agardiffúziós lyuk módszernél az antibiotikumok gátlási zónájának vizsgálata. A petri csészékbe kialakított lyukakba injektáltuk az ismeretlen koncentrációjú antibiotikumokat tartalmazó mintáinkat (n=8), illetve az ismert koncentrációjú standard oldatainkat (n=4). 24 óra elteltével fotódokumentáltuk a lemezeket, és meghatároztuk a lyukak körül kialakult különböző átmérőjű gátlási zónák területét. A gátlási zónák mm<sup>2</sup>-ben mért értékei alapján határoztuk meg a koncentráció értékeket. A képen látható, hogy minden lemezre külön kalibráltunk.

#### **4. 2. 4. Clindamycin kiáramlás meghatározása in vitro nagy teljesítményű folyadékkromatográfiai módszer segítségével**

A kapszulából kiáramlott clindamycin mennyiségi meghatározásához nagy teljesítményű folyadékkromatográfiai (HPLC, Ultimate 3000 HPLC, Dionex Corporation, Kalifornia, USA) módszert alkalmaztunk. A mérések előtt a felolvasztott mintákat 10-50-szeresre kihígítottuk. Némi változtatással Zhou és munkatársai által használt kromatográfiai kondíciókat alkalmaztuk (Zhou et al., 2006). Röviden, a szeparálást 25°C-on fordított fázisú C18 oszlopon (150x4.6 mm, 5 µm, Supelco Discovery, Sigma-Aldrich Kft, Budapest) végeztük el. A mozgófázisként acetonitril (Acetonitril Optograde LC/MS, LGC Standards GmbH, Wesel, Németország) és foszfát-puffer keverékét használtuk (1:1, v/v). A foszfát-puffert elkészítéskor 6.8 g monobázikus kálium-foszfátot (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Spectrum 3D, Debrecen, Magyarország) feloldottunk 1 L HPLC vízben (Water Optograde

LC/MS, LGC Standards GmbH, Wesel, Németország), majd még az acetonitril hozzáadása előtt az oldat pH-ját 8 M-os kálium-hidroxiddal (KOH) 7.5-re állítottuk be. A flow rate 10 mL/perc, az injektálási térfogat pedig 10  $\mu$ L volt, és az eluent 205 nm-en detektáluk. A mennyiségi meghatározáshoz pedig ismert koncentrációjú (1.5-40  $\mu$ g/mL) clindamycin oldatokat használtunk.

#### **4. 2. 5 Statisztikai analízis**

Az adatokat átlagokban fejeztük ki, a mérési hibát standard deviáció formájában tüntettük fel. Összehasonlító elemzéseket Students T-teszttel végeztünk, és a statisztikailag szignifikáns eltéréseket  $p < 0.05$  esetén fogadtunk el.

## 5. EREDMÉNYEK

### 5. 1. MÁSODIK GENERÁCIÓS PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK PERMEABILITÁS VISZGÁLATA

#### 5. 1. 1. BPB kiáramlási kinetikák

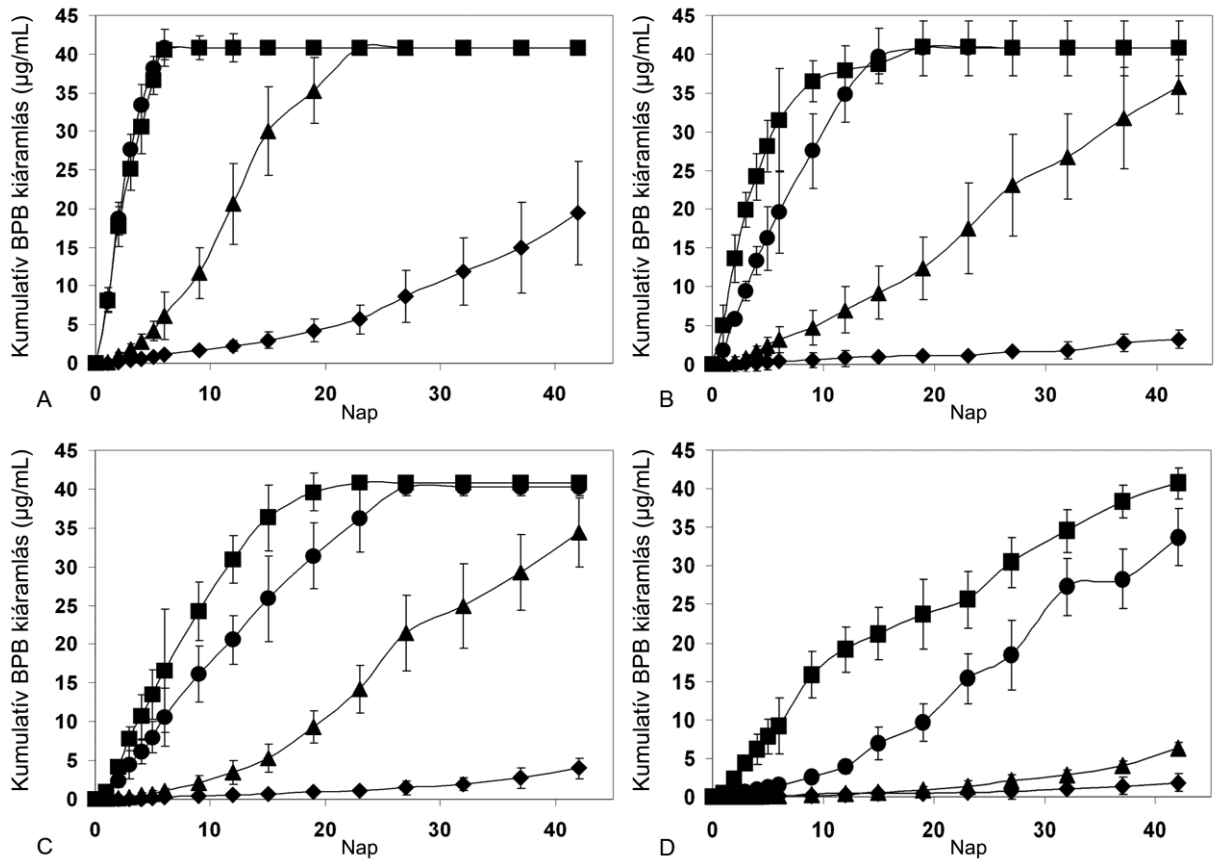
A kapszulákat azonos mennyiségű BPB-t tartalmazó oldattal megtöltve a szeptikus csontfolyamatok kezelését tekintve releváns időtartamon keresztül (42 nap) 1-1 mL fiz. sóoldatban inkubáltuk. A kapszulafal permeabilitását a környező sóoldatba átdiffundált BPB oldat mennyiségének meghatározásával 592 nm-en fotometriásan határoztuk meg.

Az idő függvényében különböző falvastagság és eltérő töltőanyag tartalom mellett kiáramlott BPB mennyiségének kumulatív görbéit a 14A-D. ábra mutatja. Az értékek 10 különböző kapszula mérési eredményeinek átlaga és standard hibája.

Minden ábra 4 alrészre 4 görbét tartalmaz; egy adott falvastagság és 4 különböző szorbitol tartalom (40, 50, 60 és 70 w/w %) mellett.

A 0.3 mm-es falvastagság esetén (14A. ábra), a 70 és 60 w/w % szorbitol tartalmú kapszulák jelentős kezdeti kiáramlást mutattak, és a 6. napra kiürültek. A BPB kiáramlás azonban jóval eltolódott ugyanezen falvastagság, de alacsonyabb szorbitol tartalom esetén. Az 50 w/w %-os kapszulák a 23. napra ürültek ki, míg a legalacsonyabb 40 w/w %-os kapszulák a 42. napra mintegy  $19.44 \pm 6,69 \mu\text{g/ml}$  BPB-t engedtek ki a belsejükből.

A 0.4 mm-es falvastagságú PMMA kapszuláknál (14B. ábra) a 70 és 60 w/w %-os minták már lényegesen lassabban, a 19. napra engedték ki teljes BPB tartalmukat. 50 w/w % mellett a kiáramlás relatív egyenletes volt, kb. a BPB 90%-a ( $35.80 \pm 3.54 \mu\text{g/ml}$ ) kiáramlott a vizsgálati periódus végére. A 40 w/w % szorbitol tartalmú kapszulák pedig meglehetősen lassú, és alacsony kiáramlást produkáltak. A kiáramlott BPB mennyisége a 10%-ot sem érte el ( $3.24 \pm 1.13 \mu\text{g/ml}$ ).



**14A-D. Ábra** A BPB kumulatív kiáramlási görbéi a PMMA-szorbitol kapszulákból 0.3 (A), 0.4 (B), 0.5 (C) és 0.6 mm (D) falvastagság, illetve 40 (◆), 50 (▲), 60 (●) és 70 w/w % (■) sorbitol tartalom mellett. A kapszulafal átteresztőképessége összefügg az idő előrehaladtával kiáramlott festék mennyiségével, vagyis a kapszulát körülvevő fiz. sóoldatban mért BPB koncentrációval. (Átlag ± SD (n=10)).

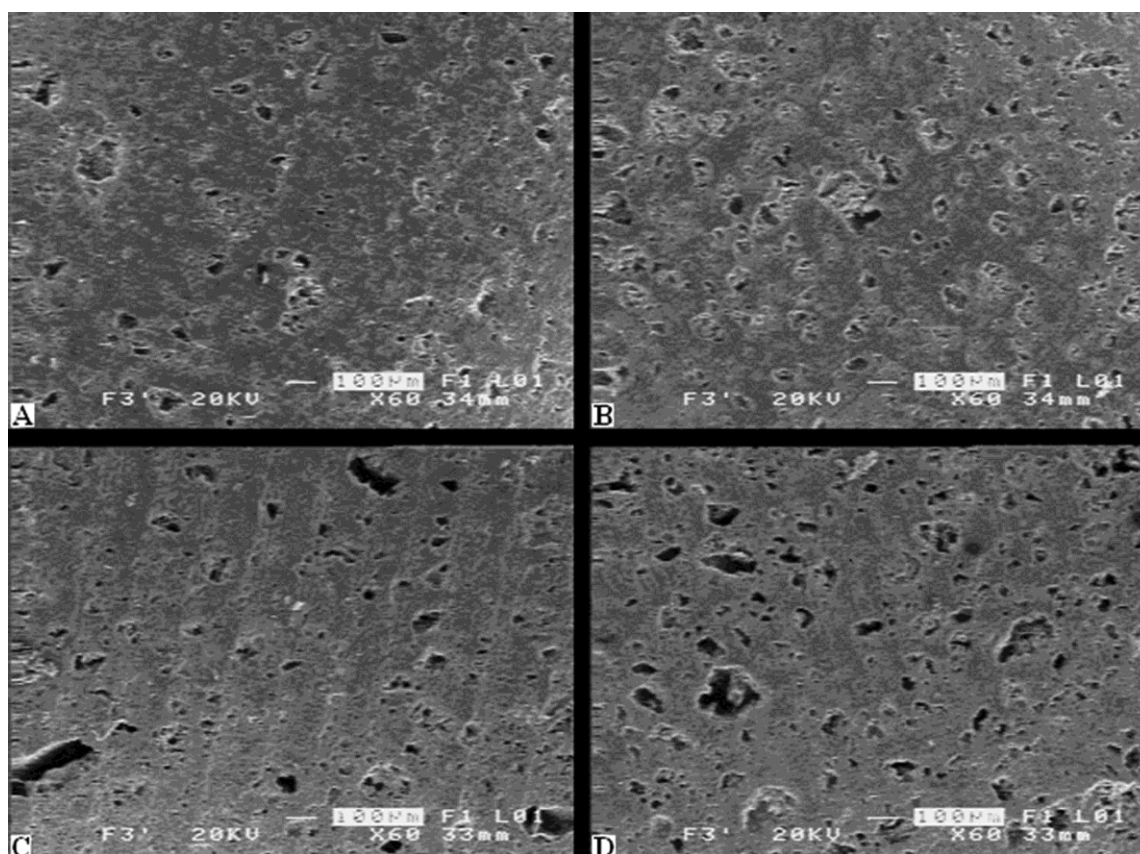
A 0.5 mm-es kapszulák (14C. ábra) 70 w/w % mellett a 23. npra, míg 60 w/w % mellett a 26. npra ürültek ki. Az alacsonyabb 50 w/w %-os sorbitol tartalom esetén a kapszulák  $34.43 \pm 4.42$  µg/ml-t, a kiindulási BPB kb. 85%-ának megfelelő kiáramlást mutattak. Nem meglepő, hogy a 40 w/w % mellett nagyon alacsony, kedvezőtlen kiáramlási kinetikát detektáltunk;  $4.01 \pm 1.29$  µg/ml BPB áramlott ki a 42. nap végére.

A 0.6 mm-es falvastagsággal rendelkező kapszulák (14D. ábra) 70 w/w %-os sorbitol tartalom mellett a 42. npra ürültek ki. A 60 w/w %-os kapszulák a vizsgálati időszak elején alacsony kiáramlást mutattak, azonban az idő előrehaladtával egyre fokozódott a kiáramlás; a 42. nap végére  $33.69 \pm 3.71$  µg/ml BPB-t adtak le (85%). Az 50 és

40 w/w % szorbitol tartalmú kapszuláknál elégtelen, mintegy  $6.34 \pm 2.19$   $\mu\text{g/ml}$ -es, illetve  $1.87 \pm 0.70$   $\mu\text{g/ml}$ -es BPB kiáramlást mértünk.

### 5. 1. 2. Felszíni morfológia vizsgálata SEM-vel

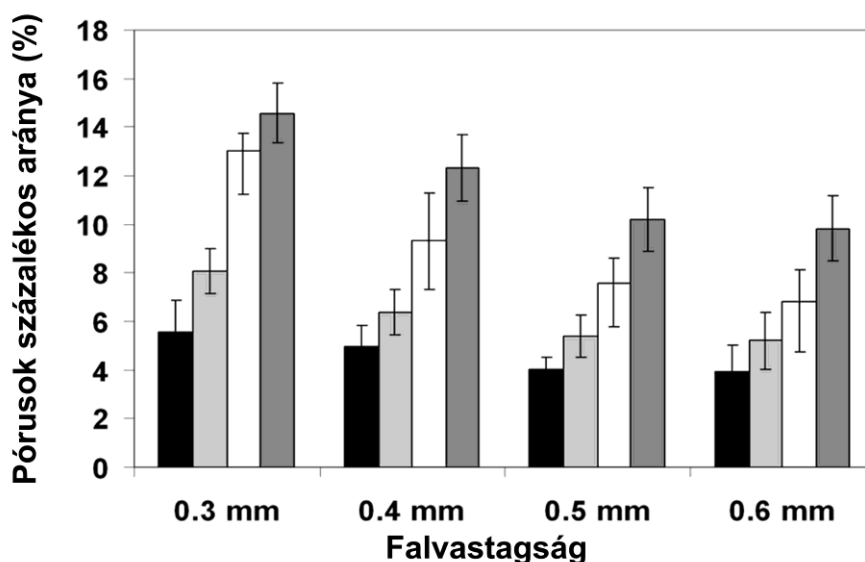
A kapszulák felszínéről a 42. napot követően SEM felvételeket készítettünk. A 15A-D. ábra 4 reprezentatív képet szemléltet azonos falvastagságú (0.6 mm), de eltérő szorbitol tartalmú kapszulák felszínéről.



**15A-D. ábra** Azonos nagyítással (60x) készült SEM felvételek a 0.6 mm-es falvastagságú PMMA-szorbitol kapszulák felszínéről 40 (A), 50 (B), 60 (C) és 70 w/w % (D) szorbitol tartalom mellett. A felszínen látható sötét foltok, lyukak a szorbitol kioldódása következtében létrejött pórusokat jelölik.

A képeken a kapszulák felszínén sötét foltok, pórusok láthatók. Minthogy a PMMA erősen hidrofób, ezért csak a szorbitol tudott a polimer mátrixból kioldódni, pórusokat, elúciós csatornákat képezve. Ezek a pórusok a képeken sötét foltok formájában láthatóak.

Bár szabad szemmel is jól láthatók a pórusok mennyiségében mutatkozó különbségek, a szubjektivitást kizáró számítógépes képanalízis eredményét a 16. ábra szemlélteti. Jól látszik, hogy míg a pórusok mennyisége a szorbitol tartalommal egyenesen, addig a falvastagsággal fordítottan arányos.



**16. ábra** A pórusok összterületének százalékos aránya a teljes felszín nagyságához viszonyítva a falvastagság és a szorbitol tartalom függvényében: 40 (■), 50 (■), 60 (□), 70 w/w % (■). A szorbitol tartalom egyenesen, míg a falvastagság fordított arányú összefüggést mutat a pórusok százalékos megoszlásához viszonyítva. (Átlag ± SD (n=3)).

### 5. 1. 3. Falvastagság és szorbitol tartalom összefüggése a BPB kiáramlási kinetikával

ANOVA eredménye alapján a kiáramlott BPB mennyisége, mint a falvastagság és a szorbitol tartalom függvénye szignifikáns ( $p < 0.001$ ) különbségeket mutatott minden mérési időpillanatban (1-42. nap). Továbbá a két faktor együttesen is jelentős hatást gyakorolt a kiáramlott BPB mennyiségére ( $p < 0.001$ ).

A „post hoc” analízis eredményeit a 7. táblázat mutatja.

| Kapszula     |                    | BPB kiáramlás      |                     |                     |
|--------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| Falvastagság | Szorbitol tartalom | 6. nap<br>Átlag±SD | 15. nap<br>Átlag±SD | 32. nap<br>Átlag±SD |
| 0.3 mm       | 70 w/w %           | 39,74±1,19         | 40,39±0,31          | 40,39±0,31          |
| 0.3 mm       | 60 w/w %           | 39,65±2,34*        | 40,57±0,57          | 40,57±0,57          |
| 0.4 mm       | 70 w/w %           | 31,10±6,71*        | 38,16±1,25          | 40,72±0,68          |
| 0.4 mm       | 60 w/w %           | 19,65±5,25*        | 40,29±3,54          | 40,29±3,54          |
| 0.5 mm       | 70 w/w %           | 16,52±7,94         | 36,30±4,24*         | 40,19±0,58          |
| 0.3 mm       | 50 w/w %           | 6,11±3,28          | 28,32±5,70          | 40,42±0,76          |
| 0.5 mm       | 60 w/w %           | 10,43±3,74*        | 25,98±5,45*         | 40,11±1,05*         |
| 0.6 mm       | 70 w/w %           | 9,10±3,57          | 21,12±3,37*         | 34,54±2,77*         |
| 0.4 mm       | 50 w/w %           | 3,33±1,61          | 9,46±3,19           | 27,56±5,51          |
| 0.6 mm       | 60 w/w %           | 1,99±0,63          | 6,89±2,14           | 27,29±3,67          |
| 0.5 mm       | 50 w/w %           | 1,10±0,25          | 5,45±1,82           | 24,11±5,44*         |
| 0.3 mm       | 40 w/w %           | 1,11±0,44          | 2,99±1,01           | 11,90±4,30*         |
| 0.4 mm       | 40 w/w %           | 0,36±0,12          | 0,94±0,38           | 1,77±1,12           |
| 0.5 mm       | 40 w/w %           | 0,24±0,07          | 0,72±0,24           | 1,922±0,82          |
| 0.6 mm       | 50 w/w %           | 0,12±0,04          | 0,61±0,20           | 3,11±0,69           |
| 0.6 mm       | 40 w/w %           | 0,1±0,03*          | 0,38±0,13*          | 1,10±0,42*          |

**7. táblázat** „Post hoc” analízis eredménye. A 6., 15. és 32. napon kiáramlott kumulatív BPB mennyiségeket az egyes kapszula típusoknak megfelelően páronként összevetettük. Azok a kapszulák, melyek fala az adott vizsgálati napon szignifikánsan nem különböző (hasonló mennyiségű) BPB-t eresztett át, egyforma színjelölést kaptak ( $p>0.05$ ). A legtöbb BPB-t leadott kapszulákat feketével, míg a legkevesebbet fehér színnel jelöltük. Az adott csoportban a \*-gal jelölt minták szolgáltak referenciaként. A kapszulákat ezután a kiáramlási értékeknek megfelelő színek szerint sorba rendeztük. A táblázatban jól látszik, hogy ha csak a falvastagságot vizsgáljuk, az fentről lefele egyre nagyobb értéket mutat, a szorbitol tartalom pedig éppen ellentétesen, egyre alacsonyabb. Ez azt bizonyítja, hogy az alacsony szorbitol tartalmú kapszulák egy adott időtartam alatt kevesebb BPB kiáramlást tesznek lehetővé, míg a vékonyabb falvastagság mellett a kapszulák pedig ezzel ellenkezőleg, fokozottabban permeabilisak.

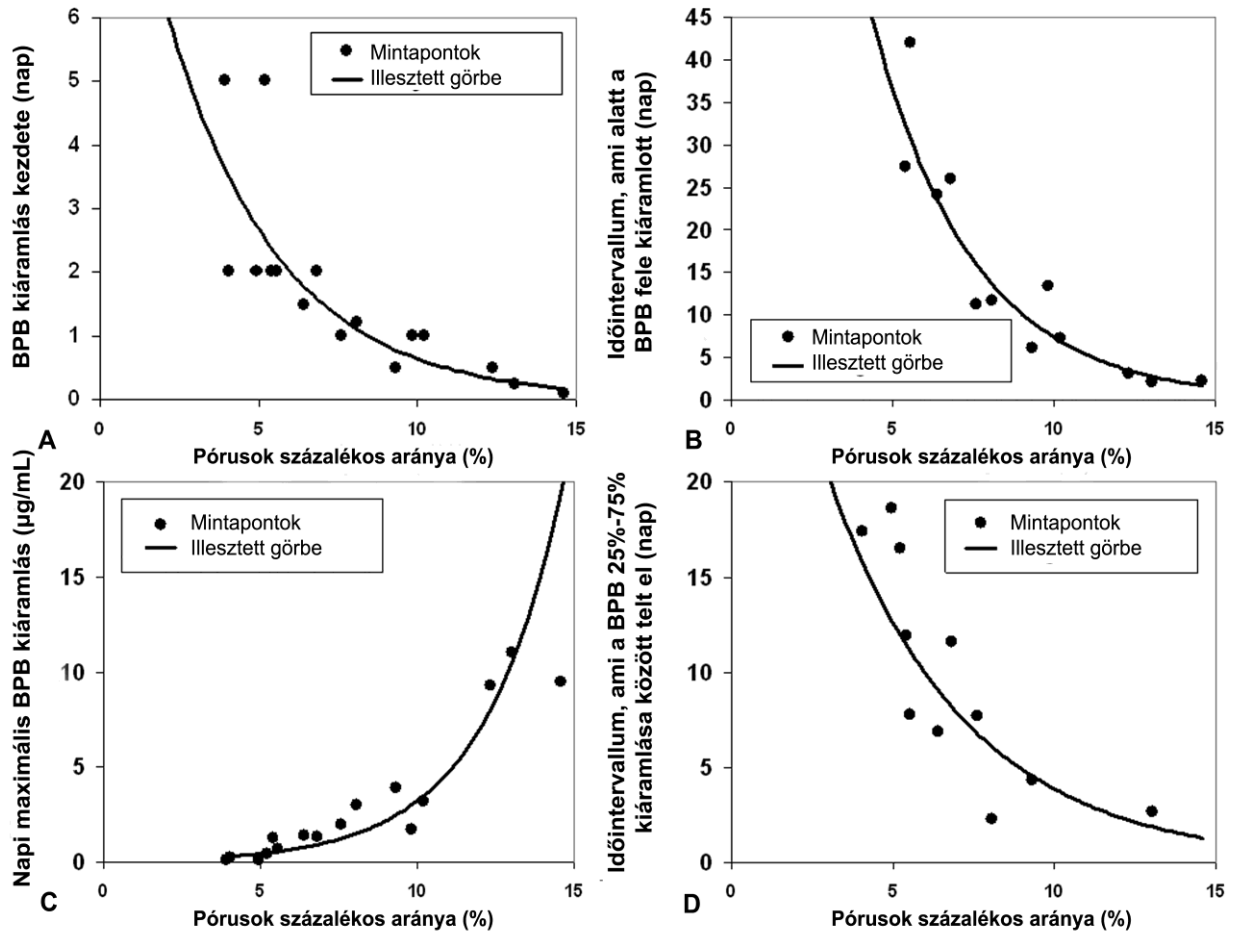
A 720 darab páronkénti összevetés alapján azokat a kapszulafajtákat, melyek a 3 különböző vizsgálati napon (6., 15., 32. napon) egymástól szignifikánsan különböző kumulatív mennyiségű BPB-t eresztettek át a falukon - vagyis az egymástól eltérő

kiáramlási kinetikát mutató kapszulákat - eltérő színnel jelöltük. A legtöbb BPB-t áteresztett kapszulákat a legsötétebb, míg a legkevesebbet a legvilágosabb színnel jelöltük, majd az így kialakult csoportokat színek szerint rendeztük sorba (sötétől a világosabb felé). Hangsúlyozandó tehát, hogy a sorrendet az adott vizsgálati napokon mért értékek szerint rangsoroltuk, fentről lefelé csökkenő sorrendben. A rangsor eredménye pedig az lett, hogy míg a minták falvastagsága fentről lefele növekszik, addig a szorbitol tartalmuk csökken. Ez azt bizonyítja, hogy az alacsony szorbitol tartalmú kapszulák egy adott időtartam alatt kevesebb BPB kiáramlást tesznek lehetővé, míg a vékonyabb falvastagság mellett a kapszulák pedig ezzel ellenkezőleg, fokozottabban permeabilisak.

Az utolsó vizsgálati összevetés eredményei a 17A-D. ábrán láthatók. Itt a kapszulák pórusainak teljes felszín nagyságához viszonyított összterületének százalékos arányát vettük fel az x tengelyre, míg az y tengelyen 4 különböző kiáramlási paramétert ábrázoltunk. Mivel a 42. nap után végeztük el a vizsgálatot, - ami egy statikus időpillanat, - így a pórusok összterületének százalékos arányát több, a kiáramlási dinamikára jellemző paraméterrel vetettük össze, hogy nagyobb biztonsággal értékelhessük a kapott eredményeket.

Az első összevetésben azt találtuk, hogy minél nagyobb a felszínen található pórusok területének százalékos aránya, annál hamarabb kezdődik a kiáramlás (17A. ábra). Az adatok szoros exponenciális kapcsolatot mutattak ( $R^2=0.868$ ,  $p<0.001$ ). Negatív exponenciális összefüggést találtunk egy másik paraméter tekintetében is, amikor a pórusok százalékos megoszlását azzal az időintervallummal vetettük össze, ami alatt a kapszulákból a BPB fele kiáramlott ( $R^2=0.945$ ,  $p<0.001$ ) (17B. ábra). A 17C. ábra szemlélteti a felszíni pórusok megoszlása és a napi maximális BPB kiáramlás közti összefüggést. Szintén erős exponenciális korrelációt mutattak az adatok ( $R^2=0.939$ ,  $p<0.001$ ). Végül a negyedik összevetés tekintetében is (17D. ábra) erős exponenciális korrelációt kaptunk a felszíni pórusok megoszlása és az az időtartam között, ami a BPB 25% és 75%-ának kiáramlása között telt el ( $R^2=0.945$ ,  $p<0.001$ ).





**17A-D. ábra** A pórusok a teljes felszín nagyságához viszonyított összterületének százalékos aránya és a kiáramlás kezdeti időpontja (A), az időintervallum, ami alatt a BPB 50%-a kiáramlott (B), a napi maximális BPB kiáramlás (C) és az időintervallum, ami a BPB 25 és 75%-ának kiáramlása között telt el (D) közti összefüggések. Minden vizsgálati aspektusban szoros exponenciális összefüggést találtunk.

## 5. 2. PMMA-SZORBITOL KAPSZULÁK IN VITRO ANTIBIOTIKUM KIÁRAMLÁS VIZSGÁLATA

### 5. 2. 1. Gentamicin, tobramycin, amikacin MIC értékei

Az eredményeink alapján az alkalmazott antibiotikumok a vizsgálat végéig megtartották biológiai aktivitásukat.

A kapott MIC értékek *S. aureus HNCMB 112002* törzs esetében a 8. táblázatban láthatók.

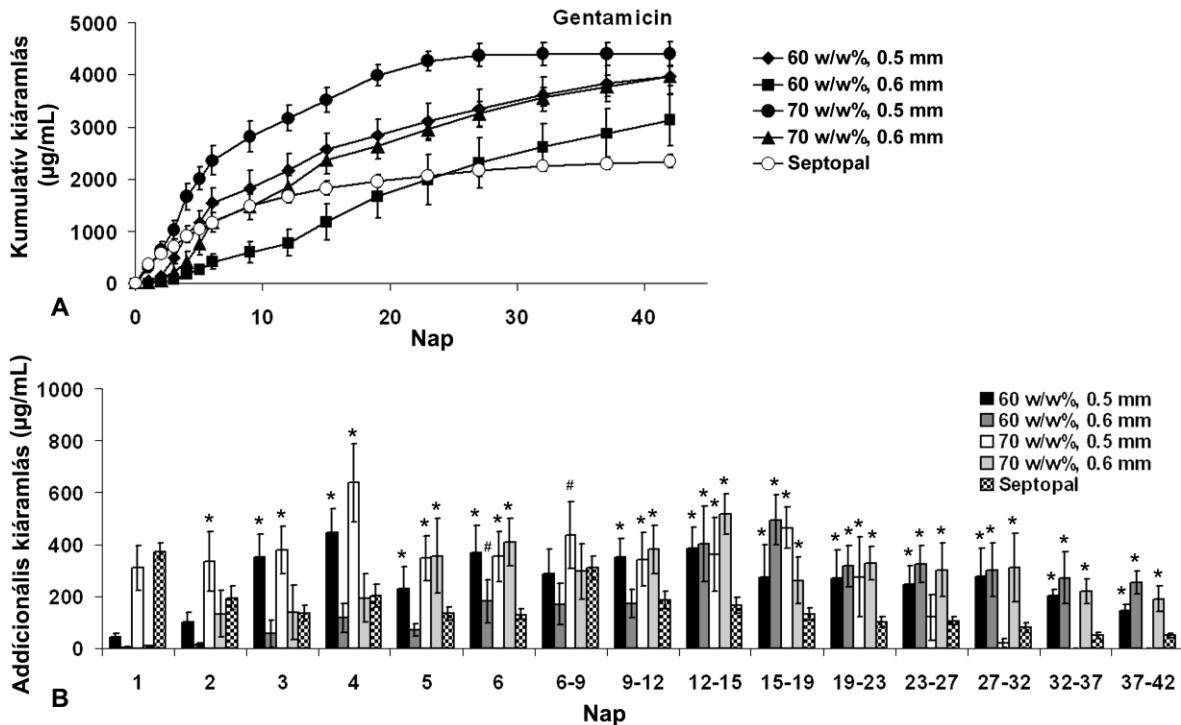
| Törzs                                     | MIC értékek ( $\mu\text{g/mL}$ ) |            |          |
|---|----------------------------------|------------|----------|
|   | gentamicin                       | tobramycin | amikacin |
| <i>Staphylococcus aureus HNCMB 112002</i> | 0.2                              | 0.2        | 0.8      |

8. táblázat Gentamicin, tobramycin, amikacin MIC értékei *S. aureus HNCMB 112002* törzsnél

### 5. 2. 2. Gentamicin

Az azonos mennyiségű gentamicinnel (4.5 mg) töltött PMMA-szorbitol kapszulából és a szintén 4.5 mg gentamicint tartalmazó Septopal gyöngyökből kiáramlott gyógyszer mennyiségeknek kumulatív (A) és addicionális (B) kiáramlási értékeit a 18A-B. ábra mutatja.

A PMMA-gyöngyök tipikus kétfázisos kiáramlást mutattak, kezdeti magas, majd azt követő hirtelen lecsökkent mennyiségű gentamicin kioldódással. Az első nap mértük a legmagasabb értéket ( $372.51 \pm 33.12 \mu\text{g/ml}$ ). A második naptól kezdve ez az érték szignifikánsan, kb. az előző napi érték mintegy felére lecsökkent ( $192.21 \pm 45.66 \mu\text{g/ml}$ ).



**18A-B. ábra** Kumulatív gentamicin kiáramlás (A) és adcionális gentamicin kiáramlás abszolút értéke (B) a PMMA-szorbitol kapszulákból a falvastagság és sorbitol tartalom függvényében a klinikailag releváns vizsgálati periódus ideje alatt (0-42 nap). (Átlag  $\pm$  SD (n=8)).

\* $p < 0.01$  versus Septopal, # $p < 0.05$  versus Septopal

A 3-9. nap között a gyöngyökből napi átlagra lebontva kb.  $100 \pm 30$  µg/ml, majd a 9-19. nap között  $50 \pm 10$  µg/ml, majd a 19-27. nap között  $25 \pm 5$  µg/ml gentamicin oldódott ki. A következő öt nap napi átlaga  $18 \pm 5$  µg/ml érték körül mozgott. Ezt követően a PMMA mátrixból kioldódott antibiotikum mennyisége átlagosan a MIC érték 50x-esét, a 10 µg/ml-t sem érte el naponta. A 42. napra a gyöngyök összesen az impregnált antibiotikum tartalmuk össz mennyiségének mintegy 50%-át adták le.

Ezzel szemben a PMMA-szorbitol kapszulák a falvastagság és sorbitol tartalom függvényében az antibiotikum tartalmuknak mintegy 70-100%-át adták le.

A vizsgálati időintervallum végére a 60 w/w % töltőanyag tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú kapszulák mutatták a legalacsonyabb kumulatív kiáramlást ( $3134.29 \pm 486.9$  µg/ml), míg a legmagasabbat a 70 w/w % sorbitol tartalmú és 0.5 mm-es falvastagságú kapszulák érték el ( $4401.87 \pm 226.91$  µg/ml). Ennek megfelelően ez utóbbi kapszula típus falán a beletöltött gentamicin mintegy 100%-a diffundált át a vizsgálat végére. A 70 w/w

%-os és 0.5 mm-es kapszulák a Septopalhoz hasonló kétfázisos kinetikát mutattak. Az 1. nap  $309.28 \pm 85.68$   $\mu\text{g/ml}$  gentamicin kiáramlást mértünk, mely nem különbözött szignifikánsan a kontrolltól. A 2. naptól kezdve egészen a 23. napig azonban a kontrollénál szignifikánsan több gyógyszer diffundált át a kapszulák falán. A 6. napig naponta átlagosan  $350 \pm 100$   $\mu\text{g/ml}$  gentamicin ürült, kivéve a 4. napon, amikor kiugróan magas  $638.14 \pm 150.37$   $\mu\text{g/ml}$  értéket mértünk. A 23. naptól azonban, mivel a kapszulák antibiotikum tartalmukat gyakorlatilag kiengedték, csak jelentéktelen kiáramlást detektáltunk.

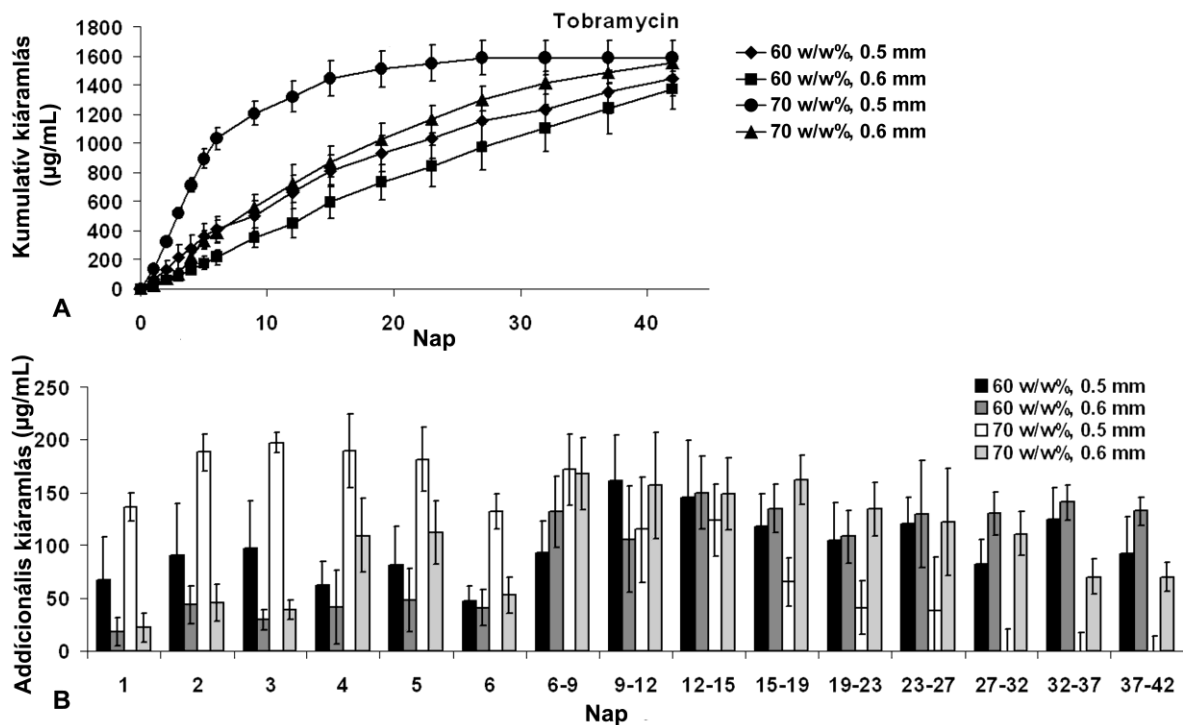
A többi, alacsonyabb töltőanyag tartalmú és/vagy 0.6 mm-es falvastagságú kapszula az inkubációs időtartam első fele alatt mérsékeltebb mennyiségű gentamicin leadást produkált, majd egyre fokozódó gyógyszerleadást mutattak a vizsgálat második részében.

A 60 w/w % szorbitol tartalmú és 0.5 mm-es kapszulák már a 3. naptól, a 70 w/w %-os és 0.6 mm-es minták az 5. naptól, míg a 60 w/w %-os és 0.6 mm-es kapszulák pedig a 6. naptól egészen a vizsgálat befejeztéig - a 6-9. nap között eltelt három napos intervallumot kivéve - végig a kontrollnál szignifikánsan magasabb gentamicin kiáramlást mutattak.

Az utóbbi 60 w/w % szorbitol tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú PMMA kapszulák mutatták a legmagasabb gentamicin kiáramlást a vizsgálati periódus második felében. Az antibiotikum kiáramlás a 12. napot követően ugrott meg. A 12-19. nap között a napi átlagot számolva mintegy  $130 \pm 30$   $\mu\text{g/ml}$ , majd a 19-32. nap között  $80 \pm 20$   $\mu\text{g/ml}$  értéket mértünk. Továbbá a mért értékek még a 32. napot követően sem csökkentek a MIC érték 250x-ese ( $50$   $\mu\text{g/ml}$ ) alá.

### **5. 2. 3. Tobramycin**

A PMMA-szorbitol kapszulákat 1.6 mg tobramycint tartalmazó Brulamycin injekciós oldattal töltöttük meg, és 42 napon keresztül mértük a kiáramlott antibiotikum mennyiségét a környező fiz. sóoldatban. A különböző falvastagság és szorbitol tartalom mellett a falon átdiffundált tobramycin mennyiségének kumulatív (A) és addicionális (B) kiáramlási eredményeit a 19A-B. ábra szemlélteti.



**19A-B. ábra** Kumulatív tobramycin kiáramlás (A) és addicionális tobramycin kiáramlás abszolút értéke (B) a PMMA-szorbitol kapszulákból a falvastagság és sorbitol tartalom függvényében a klinikailag releváns vizsgálati periódus ideje alatt (0-42 nap). (Átlag ± SD (n=8)).

A különböző típusú kapszulák kumulatív kiáramlási görbéinek lefutása tobramycinre nézve nagyon hasonló volt a gentamicinnel kapott azonos típusú kapszulák kumulatív görbéihez.

A 70 w/w %-os sorbitol tartalmú és 0.5 mm-es falvastagságú kapszulák ugyancsak tipikus kétfázisos kinetikát mutattak. Ezen kapszulák esetében az 1. napon  $136.43 \pm 23.6$  µg/ml, majd a következő négy napon átlagosan naponta  $190 \pm 30$  µg/ml, a 6. napon pedig ismételt 130 µg/ml körüli értékeket mértünk. Ezt követően folyamatosan csökkent a kiáramló tobramycin mennyisége, majd a gentamicinhez hasonlóan a 27. napra kiürültek a kapszulák. Tehát a 70 w/w % sorbitol tartalmú és 0.5 mm-es falvastagságú kapszulák antibiotikum tartalmának 100%-a leadásra került 27 nap alatt.

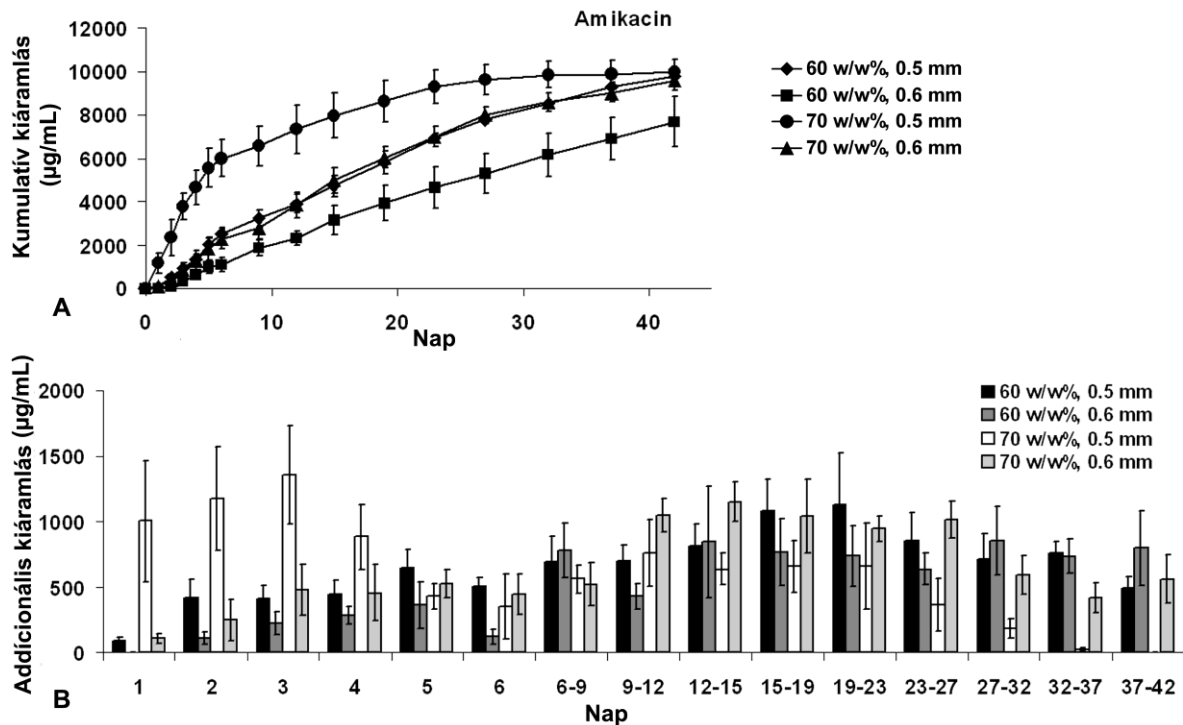
A kevesebb töltőanyag tartalmú, és/vagy vastagabb falú kapszulák kinetikája is nagymértékben hasonlított a gentamicinnel kapott kinetikákhoz. A kapszulák falai a kísérlet kezdetén mérsékelt, majd egyre fokozódó permeabilitást mutattak. A kísérlet második felében ugyanúgy a 60 w/w %-os, 0.6 mm-es falvastagságú kapszulák engedték át

a falukon a legnagyobb mennyiségben az antibiotikumot. A kapszulák a 9-19. nap között átlagosan naponta 35-50  $\mu\text{g/ml}$  antibiotikumot, majd a 19. nap után  $\sim 30 \mu\text{g/ml}$ -t adtak le. A kidiffundált tobramycin napi átlag értéke az utolsó öt napon sem csökkent a  $23.17 \pm 3.21 \mu\text{g/ml}$  alá. Azonban nemcsak a 60 w/w %-os és 0.6 mm-es, hanem a 70 w/w %-os és 0.6 mm-es, illetve a 60 w/w %-os és 0.5 mm-es kapszulákból is még az utolsó öt napban is napi átlagra lebontva a MIC értéknél mintegy 60-115x több tobramycin kiáramlást detektálunk.

#### **5. 2. 4. Amikacin**

A 20A-B. ábra demonstrálja a különböző típusú PMMA-szorbitol kapszulákból kiáramlott amikacin kumulatív (A) és addicionális (B) kiáramlási eredményeit. Minden kapszulát 40  $\mu\text{l}$ , 10 mg amikacint tartalmazó Likacin injekciós oldattal töltöttünk meg, majd 42 napon keresztül mértük az antibiotikum kiáramlást.

Az amikacin is az idő előrehaladtával a falvastagság és a szorbitol tartalom függvényében változó kinetikával diffundált át a különböző kombinációjú kapszulák falán. A leginkább permeabilis, tehát legvékonyabb falú és legmagasabb töltőanyag tartalmú 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák ismételten kétfázisos kinetikát mutattak. Az első három nap kiugróan magas 1000  $\mu\text{g/ml}$  feletti koncentráció értékeket kaptunk. Ez az érték ezt követően lecsökkent, majd a 27-32. nap között még minimális kioldódást mértünk, azonban a 32. naptól további gyógyszer leadást nem tapasztaltunk.



**20A-B. ábra** Kumulatív amikacin kiáramlás (A) és addicionális amikacin kiáramlás abszolút értéke (B) a PMMA-szorbitol kapszulákból a falvastagság és szorbitol tartalom függvényében a klinikailag releváns vizsgálati periódus ideje alatt (0-42 nap). (Átlag  $\pm$  SD (n=8)).

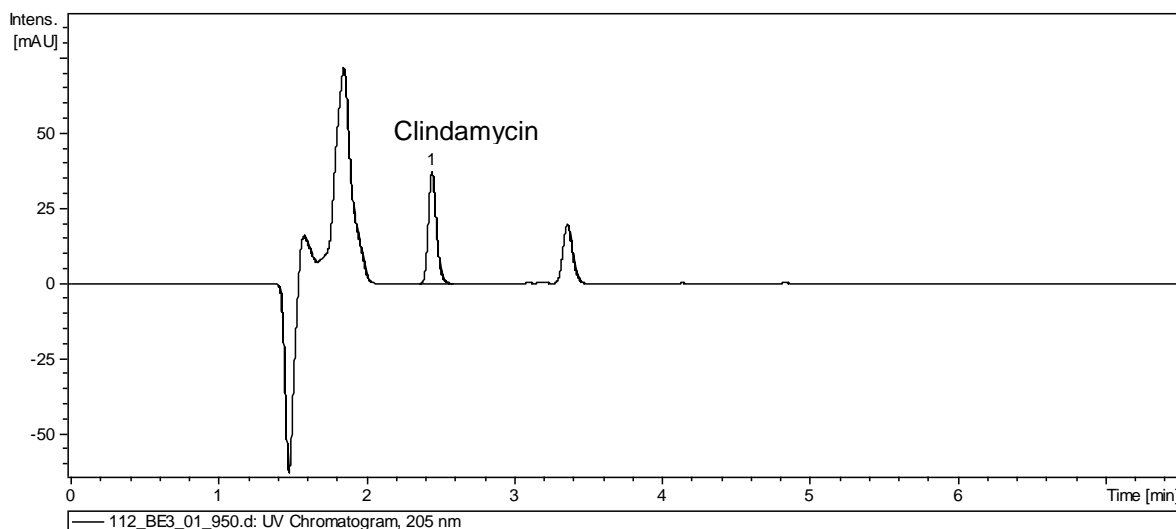
A vastagabb falú, illetve alacsonyabb szorbitol tartalmú kapszuláknál a jelentősebb kiáramlás logikusan időben eltolódott az amikacin esetében is. Azonban az elúciós csatornák folyamatos kialakulásával a vizsgálati időszak második felében ugyancsak fokozott antibiotikum leadást mutattak. A kísérlet utolsó öt napján a legmagasabb gyógyszer szintet a 60 w/w % szorbitol tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú kapszuláknál mértük. A kiáramlott antibiotikum a MIC érték mintegy 200-szorosa,  $159,7 \pm 56,4$  µg/ml volt.

### 5. 2. 5. Clindamycin

A kapszulákat 40 µl kereskedelmi forgalomban kapható Dalacin C antibiotikum oldattal töltöttük meg (6 mg/kapszula), majd a korábbi három antibiotikum mérésének megfelelően (gentamicin, tobramycin, amikacin) 42 napig inkubáltuk 1-1 mL fiz.

sóoldatban. Ezúttal a falon átdiffundált gyógyszer mennyiségét nem mikrobiológiai, hanem HPLC módszer segítségével határoztuk meg.

A minták clindamycin tartalmának azonosítását clindamycin standard oldat retenciós ideje alapján, míg a pontos koncentráció meghatározását pedig a standard hígítási sor alapján határoztuk meg. Az antibiotikum retenciós ideje 2.5 perc volt. A 21. ábrán a clindamycin tipikus UV kromatogramja látható.

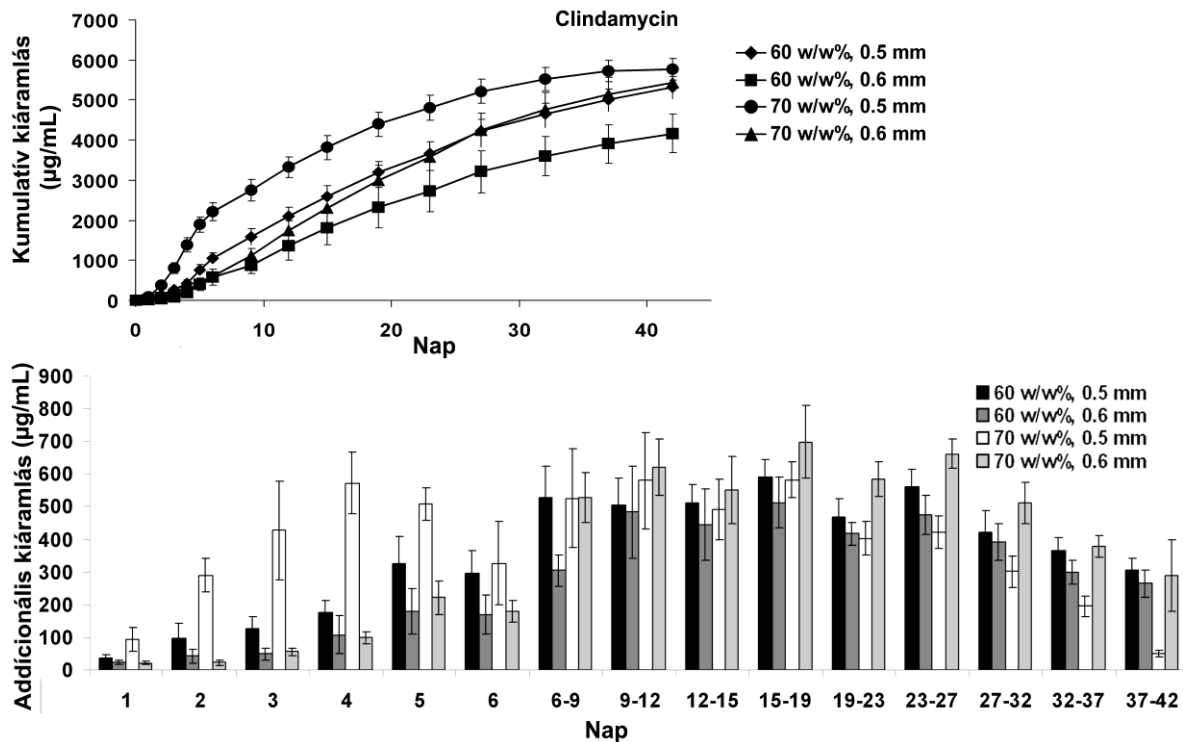


**21. ábra** Clindamycin UV kromatogramja

A PMMA-szorbitol kapszulákból kiáramlott antibiotikum kumulatív (A) és addicionális (B) kiáramlási eredményeit a 22A-B. ábra szemlélteti.

A 70 w/w %-os, 0.5 mm-es kapszulák mutatták a legmagasabb kezdeti kiáramlást. Az 1. nap  $93.1 \pm 36,5 \mu\text{g/ml}$ , a 2. nap  $289.8 \pm 51.8 \mu\text{g/ml}$ , majd a 6. napig  $\sim 400\text{-}500 \mu\text{g/ml}$  clindamycin áramlott ki a kapszulák belsejéből. A vizsgálati időszak végére pedig a teljes antibiotikum tartalom kiáramlott.





**22A-B. ábra** Kumulatív clindamycin kiáramlás (A) és addicionális clindamycin kiáramlás abszolút értéke (B) a PMMA-szorbitol kapszulákból a falvastagság és szorbitol tartalom függvényében a klinikailag releváns vizsgálati periódus ideje alatt (0-42 nap). (Átlag ± SD (n=8)).

A 70 w/w %, 0.6 mm és 60 w/w%, 0.5 mm kapszulák fokozatosabb, lassabb kiáramlást mutattak. Mindkét kapszulatípusnál a vizsgálat elején a 4. napig alacsonyabb mennyiségű (20-175 µg/ml), majd azt követően egyre fokozódó mennyiségű, átlagosan napi 200 µg/ml clindamycin áramlott ki. A 60 w/w % szorbitol tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú kapszulák esetén mértük a legalacsonyabb kumulatív kiáramlási értékeket.

## 6. MEGBESZÉLÉS

A PMMA évtizedek óta a legelterjedtebben alkalmazott és legszélesebb körben tanulmányozott anyag az ortopéd és traumatológiai sebészetben (Nelson, 2004). Az antibiotikummal impregnált PMMA-t először 1970-ben Buchholz és Engelbrecht használta. Bebizonyították, hogy az antibiotikum a PMMA csontcementhez keverve a polimerizációs szilárdulást követően depóként szolgál, és gyógyszert ad le (Buchholz et al., 1970).

Az antibiotikum leadás mechanizmusáról azóta kiderült, hogy nagymértékben függ a polimer permeabilitásától, porozitásától (McLaren et al., 2005). A környező testfolyadék hatására ugyanis a bekevert vízzoldékony antibiotikum kioldódik, majd a kioldódás helyén pórusok képződnek. Ezek a pórusok további hozzáférhető területet szabadítanak fel. Így a környező folyadék számára további antibiotikum kioldódást biztosítanak. Azonban a kioldódást a PMMA hidrofobicitása erősen korlátozza, mivel megakadályozza a mátrix belsejéből való gyógyszer felszabadulást (McLaren et al., 2005).

Ez a hidrofobicitás a legfőbb oka annak, hogy az eddig használatos PMMA rendszerekből kezdetben nagy mennyiségű, majd azt követően a lassú kanalizáció következtében az anyag belső, nehezen elérhető területeiről csak csekély antibiotikum leadás mérhető. Továbbá ez az anyagtani tulajdonság felel azért is, hogy az antibiotikum mintegy 90%-a a polimer belsejében marad (DiMaio et al., 1976, Bunetel et al., 1989, Miclau et al., 1993, Cabanillas et al., 2000, Zilberman et al., 2008). Számos szerző azért, hogy fokozza a mátrix belsejéből az antibiotikum felszabadulást vízzoldékony, biológiailag semleges töltőanyagot (dextrán, szukróz, glicin, eritrol, xilitol, antibiotikum, PVP) kevert a PMMA porba (Kuechle et al., 1991, McLaren et al., 2004, 2006, 2007, Dunne et al., 2007, Rasyid et al., 2009). A PMMA-ba kevert töltőanyag kioldódásával így megnövelték az anyag porozitását, és ebből adódóan az antibiotikum leadást is, mivel a kioldódott szemcsék helyén olyan pórushálózat alakult ki, mely felületnövelő hatásával több gyógyszer kioldódásnak tudott helyet adni. Azonban a teljes töltet 100%-os leadását még így sem sikerült elérniük, így továbbra is jelentős feleslegben kell az antibiotikumot felhasználni. További problémát jelent ezenfelül a polimerizációs láncreakció során

keletkező magas hőmérséklet, mely miatt csak hőstabil antibiotikumok lokális alkalmazása lehetséges (DiPisa et al., 1976, Rao et al., 2002). Továbbá a zavartalan keverés és kötés miatt a por formában elérhető antibiotikumok felhasználása javasolt (Popham et al., 1991, Roeder et al., 2000, Rao et al., 2002).

Munkacsoportunk célja így az volt, hogy egy olyan alternatív megoldást fejlesszen ki, mely a kezelés teljes ideje alatt egyenletes lokális antibiotikum szintet biztosít, illetve lehetőséget ad bármilyen, a célzott terápia szerint szükséges antimikrobiális szer alkalmazására.

Mivel a PMMA kiváló biokompatibilitással rendelkezik, számunkra is könnyen hozzáférhető és olcsó, így megmaradtuk a csontcementnél, és a Börzsei és munkatársai által kifejlesztett antibiotikum hordozó edényeket továbbfejlesztettük.

Először magát a PMMA falát kellett átjárhatóvá tennünk. Ehhez a fent említett vízdékony töltőanyag cementbe való keverése adta az ötletet. Töltőanyagként a fogorvostudományban elsősorban preventív céllal, és az élelmiszeriparban elterjedten használt semleges, vízdékony szorbitolt választottuk. A szorbitol ugyanis nem kariogén tulajdonságának köszönhetően egy olyan édesítőszer, melyet a baktériumok nem metabolizálnak (Burt, 2006).

A hipotézisünk az volt, hogy ha a szorbitollal kevert csontcementből készült kapszulákat megtöltjük, és azokat vizes közegbe helyezük, akkor a szorbitol kioldódás helyén először pórusok, majd a fal teljes keresztmetszetében pórusálózat alakul ki. Ha pedig változtatjuk a szorbitol mennyiségét, akkor a képződött pórusok mennyisége is változik, mely hatással van a fal permeabilitására. Azonban egy további változót is beiktattunk, ez pedig a falvastagság volt. Azt feltételeztük, hogy a falvastagság függvényében a falban képződött pórusláncolat kialakulásának ütemét is tudjuk szabályozni. Röviden; minél vékonyabb a fal, annál gyorsabban kialakul a fal teljes keresztmetszetében a hálózat, mely lehetővé teszi a kapszulába töltött anyag kiáramlását.

Az előzetes vizsgálatokban összesen 16 féle kapszulát készítettünk, és teszteltünk 4 egymástól eltérő falvastagsággal és 4 különböző töltőanyag tartalommal.

A BPB kiáramlási kinetikák görbéi alapján azt láttuk, hogy minden egyes falvastagság esetében a magasabb szorbitol tartalmú kapszulák meredekebb kumulatív görbét eredményeztek. Eszerint egy adott időpillanatban nagyobb mértékű és

dinamikusabb kiáramlást mutattak az azonos falvastagságú, de nagyobb töltőanyag tartalmú kapszulák. A falvastagság növelésével pedig jelentősen elnyúlt, hosszabb ideig tartó kiáramlást, laposabb görbét kaptunk. Például a legmagasabb, 70 w/w % szorbitol tartalmú, és legvékonyabb, 0.3 mm falvastagságú kapszulák a 6. napra kiengedték teljes BPB tartalmukat. Ezzel szemben a teljes kiáramlás időpontja jóval eltolódott abban az esetben, ha a falvastagságot megnöveltük; 19. (0.4 mm), 23. (0.5 mm) és a 42. nap (0.6 mm). Illetve hasonló tendenciát figyelhettünk meg, ha a szorbitol mennyiségét lecsökkentettük; a legalacsonyabb töltőanyag tartalmú (40 w/w %) és legvékonyabb falú (0.3 mm) kapszulák esetén a vizsgálati idő végére körülbelül a BPB-nek csak a fele áramlott ki, addig láthattuk, hogy ugyanennél a falvastagságnál a legnagyobb töltőanyag tartalom mellett (70 w/w %) a teljes kiáramlás időpontja már a 6. napra esett.

Továbbá a felszíni morfológia vizsgálatakor a SEM képeken egyértelműen látszottak a szorbitol kioldódás helyén keletkezett pórusok. Ezen pórusok összfelületének aránya egyenesen arányos volt a szorbitol tartalommal, és fordítottn arányos a falvastagsággal. Továbbá a statisztikai eredményeink is azt bizonyították, hogy szoros összefüggés van a felszíni porozitás, illetve a kiáramlás között, vagyis a BPB kiáramlás dinamikája valóban a falvastagság függvényében kialakult töltőanyag kioldódás következtében képződött elúciós csatornák miatt, és azzal összefüggésben jöhetett létre.

Összefoglalva tehát a kezdeti jelentős kiáramlás a magas szorbitol tartalommal, és a vékony falvastagsággal mutatott szoros összefüggést. Továbbá az alacsony töltőanyag tartalmú, illetve a vastag falú kapszulák a vártnak megfelelően pedig elnyújtottabb kiáramlást produkáltak. Mindezek pedig azt igazolták, hogy e két paraméter, a falvastagság és szorbitol tartalom változtatásával különböző kinetikájú kapszulákat lehet készíteni.

Miután megbizonyosodtunk, hogy a PMMA-szorbitol kapszulák valóban különböző áteresztőképességgel rendelkeznek, kiválasztottuk a legmegfelelőbb kombinációkat. Jóllehet a 0.3, illetve 0.4 mm-es kapszuláknál a vizsgálat során nem tapasztaltunk szivárgást, de mivel a töltés folyamán sérülékenynek bizonyultak, illetve a gyártás során is nehezebb volt a kivitelezésük, így nem vizsgáltuk tovább őket. Figyelembe véve a szerkezeti stabilitást, és a kiáramlási kinetikákat a 60 w/w %, 0.5 mm-es; 60 w/w %, 0.6 mm-es, 70 w/w %, 0.5 mm-es és a 70 w/w %, 0.6 mm-es kapszulákat választottuk ki további vizsgálatokra.

Kísérletsorozatunk következő lépéseként azt vizsgáltuk, hogy ezen kiválasztott kapszulák különböző antibiotikumokkal töltve milyen antibiotikum leadást mutatnak.

Aminoglikozidokkal (gentamicin, tobramycin, amikacin) töltött kapszulák vizsgálatakor a kiáramlott antibiotikum meghatározásához mikrobiológiai, míg clindamycin esetében pedig kromatográfiás analitikai módszert alkalmaztunk.

Első körben azért választottuk az aminoglikozidokat, mert nagyon stabilak, mely tulajdonságuk miatt a leggyakrabban keverik a PMMA-ba, és használják a szeptikus csontfolyamatok kezelésében. Így eredményeink az irodalmi adatokkal is jól összevethetők. Másrészt pedig az aminoglikozidok nagyon hatékonyak a csontvelőgyulladásból leggyakrabban izolált kórokozó (Lew et al., 1997, 2004), a *S. aureus* ellen (Wilson et al., 1976). Továbbá az aerob Gram-negatív fertőzések terápiájára is kiválóan alkalmasak, azonban csökkent hatékonysággal rendelkeznek a Gram-pozitív baktériumokkal szemben. Nem hatnak az anaerobokra és a *Streptococcusokra*, ellenben hatékonyak az *Enterobacteriaceae* és *Pseudomonas aeruginosa* ellen. Az aminoglikozidok közül az amikacin spektruma a legkedvezőbb, mivel amikacinra érzékeny törzsek száma jóval nagyobb, mint a többi aminoglikozidra érzékeny speciesteké. Legnagyobb hátrányuk azonban, hogy nefro- és ototoxikusak.

Clindamycinre pedig azért esett a választás, mert az egyik leghatásosabb antibiotikum a klinikailag fontos anaerob baktériumokkal szemben, különös tekintettel a *Bacteroides fragilis* csoportra (Addy et al., 2005). Továbbá aktív még a *S. aureus*, *S. epidermidis* és *Streptococcus* fajokkal szemben is (Addy et al., 2005). Mivel nagyon jól penetrál a legtöbb szövetbe, különös tekintettel a csontokra és a tályogüregekre (Nicholas et al., 1975, Norden et al., 1986, Summersgill et al., 1982, Addy et al., 2005), így gyakran használt parenterális gyógyszer a csontsebészetben is. Plazma felezési ideje 150 perc. Adagolása 8 óránként ajánlott. Mindezen kedvező tulajdonságok ellenére azonban különös körültekintést és óvatosságot igényel a szisztémás alkalmazása (Sutter, 1977, Addy et al., 2005). Ennek az oka, hogy egy súlyos állapot, a pszeudomembránózus enterokolitisz gyakori szövődménye a clindamycin terápiának (Freeman et al., 1999, Addy et al., 2005). Ezért a clindamycin lokális alkalmazásával jelentősen lecsökkenthetővé válna ezen súlyos mellékhatás kialakulásának kockázata.

A gentamicin kivételével a gyárilag előállított folyékony gyógyszerformát használtuk. A gentamicin esetében gentamicin-szulfát porból készítettünk oldatot, azért hogy minden kapszulába a kontrollként használt Septopal PMMA-gyöngyökkel megegyező mennyiségű antibiotikumot töltsünk. Ennek az az oka, hogy kereskedelmi forgalomban kapható legmagasabb koncentrációjú gentamicin injekció oldat 40 mg/ml gentamicint tartalmaz, mely 40 µl-ével megtöltve a kapszulákat még mindig jóval alatta maradunk a kontrollnak. Továbbá a gentamicin kiáramlás vizsgálatához a kereskedelmi forgalomban kapható Septopal gyöngyöket használtunk. Azért nem saját magunk készítettük a PMMA gyöngyöket, mert ezek antibiotikum leadási képessége jóval elmarad a gyári gyöngyökétől (Nelson et al., 1992).

A vizgálsorozatunk eredményeit tekintve a PMMA gyöngyök az irodalmi adatoknak megfelelően (Levin et al., 1975, Bunetel al., 1989, Kuechle et al., 1991, Wu et al., 2006; Dunne et al., 2007; Moojen et al., 2008; Squire et al., 2008; Zilberman et al., 2008) tipikus kétfázisos kiáramlást mutattak, kezdeti magas, majd azt követő hirtelen lecsökkent mennyiségű gentamicin kioldódással. A 42. napra összesen az impregnált antibiotikum tartalmuk összmennyiségének mintegy 50%-át adták le. Ennek az 50%-nak is mintegy felét a vizsgálati periódus első 5 napja alatt. Az 5. nap után valamivel mérsékeltebb kiáramlást tapasztalunk még, azonban azt követő 10 nap után már csak minimális gentamicin kioldódást mértünk. Ezzel szemben a PMMA-szorbitol kapszulák a falvastagság és a szorbitol tartalom függvényében az antibiotikum tartalmuknak mintegy 70-100%-ot adták le. A vizsgálati időintervallum végére a 60 w/w % töltőanyag tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú kapszulák mutatták a legalacsonyabb kumulatív kiáramlást, míg a legmagasabbat a 70 w/w % szorbitol tartalmú és 0.5 mm-es falvastagságú kapszulák érték el. Ennek megfelelően ez utóbbi kapszula típus falán a gentamicin tartalomnak mintegy 100%-a átdiffundált a 42. nap végére. Mindazonáltal a 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák kiáramlási kinetikája hasonlított leginkább a Septopal gyöngyök kinetikájához. Azonban lényeges különbség, hogy - mint fent említettem – míg a gyöngyök kb. 50%-át, addig a kapszulák gentamicin tartalmuknak mintegy 100%-át adták le, biztosítva ezzel a szignifikánsan nagyobb mennyiségű gyógyszer szintet. Ezek a kapszulák az első 19 nap alatt mindvégig jelentős, majd valamivel csökkent gentamicin kiáramlást mutattak. A 70 w/w %, 0.5 mm-es PMMA kapszulák esetén a 2. és 23. nap között a kontroll, Septopal

gyöngyökhöz képest szignifikánsan több antibiotikum leadást mértünk. A többi, alacsonyabb töltőanyag tartalmú és/vagy 0.6 mm-es falvastagságú kapszula az inkubációs időtartam első fele alatt mérsékelt mennyiségű gentamicin leadást produkált, majd az elúciós csatornák kialakulását követően egyre fokozódó gyógyszerleadást mutattak a vizsgálat hátralevő, második részében. Eszerint a 60 w/w %-os és 70 w/w %, 0.6 mm-es kapszulák a 9. nap után szignifikánsan több gentamicint adtak le, mint a kontroll gyöngyök. A 60 w/w % szorbitol tartalmú és 0.6 mm-es falvastagságú PMMA kapszulák mutatták a legmagasabb gentamicin kiáramlást a vizsgálati periódus második felében; a 23. és 42. nap között a MIC érték több százszorosának megfelelő mennyiségű antibiotikum diffundált át a kapszula belsejéből a környező fiz. sóoldatba.

A különböző típusú kapszulák kumulatív kiáramlási görbéinek lefutása tobramycinre nézve hasonló volt a gentamicinnel kapott azonos típusú kapszulák kumulatív görbéihez. Tobramycinre is a 70 w/w %-os szorbitol tartalmú és 0.5 mm-es falvastagságú kapszulák tipikus kétfázisos kinetikát mutattak. Nagy mennyiségű kiáramlás tapasztaltunk az első napokban, majd lecsökkent, a 27. napot követően pedig már további gyógyszerleadás nem mértük. Ezek a kapszulák a gentamicines méréseknek megfelelően ugyancsak 27 nap alatt ürültek ki. Ugyancsak azok a kapszulák, melyek kevesebb töltőanyag tartalommal, vagy vastagabb fallal rendelkeztek tobramycinre nézve is szintén a gentamicinhez hasonló kinetikákat eredményeztek. A kísérlet második felében ugyanúgy a 60 w/w %-os, 0.6 mm-es falvastagságú kapszulák engedték át a falukon a legnagyobb mennyiségben az antibiotikumot. Azonban nemcsak a 60 w/w %-os és 0.6 mm-es, hanem a 70 w/w %-os és 0.6 mm-es, illetve a 60 w/w %-os, 0.5 mm-es kapszulákból is még az utolsó 5 napban is a MIC érték többszörösét meghaladó tobramycin kiáramlást detektálunk.

A különböző típusú PMMA-szorbitol kapszulákból az amikacin kumulatív és addicionális kiáramlása is mind a gentamicinhez, mint pedig a tobramycinhez hasonló tendenciát mutatott.

A kapszulákból kiáramlott clindamycin meghatározása során ugyancsak a 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák esetén kaptuk a legmagasabb kezdeti kiáramlást, azonban ez nem volt annyira kifejezett, mint a másik három antibiotikum esetén. Ezek, a leginkább permeabilisabbnak mutatkozó kapszulák antibiotikum tartalmuknak mintegy 100%-át adták le, azonban az előző mérésekhez képest később, a vizsgálat végére ürültek ki

teljesen. A különbségek feltehetően az eltérő mérési módszerből és antibiotikumból adódnak. A 70 w/w %, 0.6 mm-es és 60 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák az előbbi kapszulákhoz képest egyenletesebb, lassabb kiáramlást produkáltak. Mindkét PMMA-szorbitol kapszula a vizsgálat elején csekélyebb, majd az elúciós csatornák folyamatos kialakulása miatt egyre fokozódó kiáramlást mutatott. A két típus kumulatív görbéi az eltérő paraméterek (falvastagság, szorbitol tartalom) ellenére szignifikánsan nem különbözött egymástól. Clindamycinre nézve is ugyancsak a 60 w/w %, 0.6 mm-es kapszulák estén detektáltuk a legalacsonyabb kumulatív kiáramlást.

Az eredményeink tehát az ösztöltethez képest leadásra került antibiotikum mennyiségeket tekintve az irodalmi adatokhoz képest jóval kedvezőbbek, hiszen a kapszulák 70-100%-ban kiürültek a 42 nap alatt. Ezzel szemben korábbi vizsgálatokban azt találták, hogy a PMMA töltött antibiotikumnak csupán 10%-a oldódik ki a cement mátrixból (Levin et al., 1975, Bunetel et al., 1989; Miclau et al., 1993; DiMaio et al., 1994, Cabanillas et al., 2000).

Levin és munkatársai Simplex P PMMA csontcementből összesen 11 féle antibiotikum kiáramlását vizsgálták 4 baktérium törzs esetén. Kanamycin, neomycin, polymyxin, colymycin esetén már 48 óra után nem alakultak ki gátlási zónák, gentamicin és carbenicillin esetén pedig 96 órát követően nem mértek antibakteriális hatást *E.coli* és *Pseudomonas aeruginosa* törzseknél. *S. aureus* és *S. epidermidis* törzseknél hosszú távú hatást egyedül clindamycin és cephalotin esetén mértek (Levin et al., 1975).

Miclau kutatócsoportja 4 különböző lokális antibiotikum terápiát szolgáló anyagot vizsgált tobramycinre nézve. A PMMA-ból az összantibiotikum tartalomnak kb. 10%-a oldódott ki, annak is jelentős része az első 24 órában (7%), majd azt követően elenyésző mennyiségű antibiotikum kiáramlást mértek mindösszesen 14 napig. Vizsgáltak továbbá csont graftokat, demineralizált csontmátrixot és POP-t is. A csontgraft esetén a 7. naptól, a demineralizált csontmátrix esetén már a 4. naptól nem detektáltak antibiotikum leadást. A POP tobramycin tartalmának 17%-át az első napon leadta, majd ezt követő 3 hét alatt ugyancsak csekély mennyiségű antibiotikum kioldódást tapasztaltak (Miclau et al., 1993).

DiMaio és munkatársai 0.5 és 1.0 g ciprofloxacinnal impregnált PMMA cementet vizsgáltak. Az előbbi esetén mintegy 0.012 g (2.4%), míg utóbbi estén 0.015 g (1.5%) antibiotikum kioldódást mértek (DiMaio et al., 1994).



Cabanillas és munkatársai közleményükben arról számoltak be, hogy az impregnált antibiotikumnak a nagy része (90 %<) a CMW1 akrilát csontcement belsejében maradt, továbbá a kioldódott mennyiségnek is a döntő többsége a kísérlet első pár órájában oldódott ki. A kezdeti hirtelen kiáramlást pedig egy jelentősen csökkent antibiotikum kioldódás követett (Cabanillas et al., 2000).

Ezzel szemben Rasyid és kutatótársai 59%-os gentamicin kioldódást mértek Septopal gyöngyökből (Rasyid et al., 2009). A mi esetünkben a kontrollként használt Septopal gyöngyökből mintegy 50%-os antibiotikum kioldódást mértünk.

Nelson munkatársaival publikált eredményei szerint a Septopal gyöngyök kétfázisos kiáramlása a következőképpen alakult; 1. nap: 589 µg, 2. nap: 332 µg, 5. nap: 173 µg, 10. nap: 129 µg, 25 nap: 42 µg, a 30. nap: 28 µg. Továbbá vizsgálták, és össze is hasonlították a Septopal gyöngyök antibiotikum leadását a kézzel készített egyéb PMMA cementekével. Eredményeik alapján a kézzel gyúrt gyöngyök gyógyszer kioldódása jóval alulmaradt a Septopalhoz képest (Nelson et al., 1992).

Moojen és munkatársai Palacos esetén összantibiotikum tartalomra vonatkoztatva  $2.1 \pm 0.2\%$ , Simplex P cementnél  $0.9 \pm 0\%$ , míg Septopal gyöngyök esetén  $34.9 \pm 1.7\%$  kioldódást találtak. Mindhárom PMMA esetén az első nap kiugróan magas antibiotikum koncentrációt mértek, majd ezt követően a kioldódott gyógyszer szintje szignifikánsan lecsökkent (Moojen et al., 2008).

Ugyancsak hasonló kétfázisos antibiotikum kiáramlást talált Squire kutatótársaival, akik 5 különböző előregyártott PMMA cementből készített korongból mérték az antibiotikum kiáramlást. A kialakult gálási zónák nagysága mindegyik minta esetén az 1. napot követően szignifikánsan visszaesett. A 7. vizsgálati napon pedig a zónák mérete a kiindulási méret mintegy 1/10-ére estek vissza ( $100 \text{ mm}^2$ >) (Squire et al., 2008).

Dunne és Kuechle is munkatársaival szintén bifázisos gentamicin kiáramlást detektáltak Palacos R, illetve Simplex cement esetén (Kuechle et al., 1991, Dunne et al., 2007, 2008). Továbbá Kuechle vízdékony dextrans hozzáadásával érte el a legjobb, 10 napig tartó antibiotikum leadást.

Adams kutatócsoportja 6 antibiotikum kioldódását vizsgálta *in vitro*. Cefazolin esetén az 1. napi 250 µg/ml-es kioldódást követően az antibiotikum koncentrációja 10 µg/ml-re esett vissza, majd a 28. napra ez a koncentráció már csak 3 µg/ml volt. Ciprofloxacinnál az első

24 órában 74.5 µg/ml antibiotikum áramlott ki, majd a további csökkenő kioldódás következtében a 28. npra csak 5.2 µg/ml-es értéket detektáltak. A legjobb eredményeket a clindamycinnel és tobramycinnel impregnált PMMA esetén kapták; a vizsgálat végére 93 µg/ml, illetve 200 µg/ml antibiotikum szabadult fel a cementmátrixból. Vancomycin és ticarcillin esetén a 28. napon már nem alakultak ki gátlási zónák (Adams et al., 1992).

Penner és munkatársai Palacos R és CMW akrilát csontcementek antibiotikum leadását hasonlították össze. Azt találták, hogy a Palacos R esetén szignifikánsan több antibiotikum került leadásra, azonban a leadott antibiotikum mennyisége meglehetősen alacsony; a 41. napon  $31 \pm 4$  µg, míg a 65. napon  $25 \pm 3$  µg volt (Penner et al., 1999).

Egyetemünkön korábban Bálint Lehel és munkatársai is széleskörben vizsgálták a lokális infekció kontroll kérdéskörét. Tanulmányozták a PMMA csontcementből történő antibiotikum felszabadulást nemcsak *in vitro*, hanem *in vivo* is, továbbá mind a rövidtávú, mindpedig hosszútávú gyógyszerleadást is mérték. *In vitro* körülmények között azt találták, hogy a gátlási zónák mérete ugyancsak az 1. napon volt a legmagasabb, azonban ez az érték a 3. napon már csak fele akkora volt, majd a gátlási zónák átmérője a hét végére a kezdeti érték mintegy 5%-ára esett vissza mind a 3 vizsgált cementtípus esetén. Ellenben a hosszútávú eredmények az összehasonlító standard sor hiánya következtében már nehezebben értékelhetőek. Ami biztos, hogy 24 óra elteltével a gátlási zónák mérete a 37-39 mm-ről az 1. hónap végére 3-5 mm-re, a 2. hónap végére egységesen 2 mm-re, majd a 1 év végére pedig 1 mm alá csökkentek. Az *in vivo* eredményeik tekintetében 6 óra elteltével mintegy  $2.642 \pm 5.7$  µg/mL, 28 óra után már csak  $1,256 \pm 3,11$  µg/mL, míg 48 óra elteltével pedig  $0,682 \pm 2,18$  µg/mL volt a felszabadult antibiotikum koncentrációja. Ezek szerint az *in vivo* eredmények is megerősítették a kezdeti magasabb, majd a hirtelen lecsökkent kiáramlási kinetikát a PMMA cementeknél. Továbbá hosszútávon 5 beteg esetén átlagosan 9.2 év elteltével a beültetett csontcementből jelentős gátlási zónát eredményező antibiotikum kiáramlást mértek, azonban ezek az eredmények is a standard sor, kontroll minta hiányában nem igen adnak érdemi információt (Bálint et al., 2002a, b, c, 2004a, b). További szerzők is publikálták az *in vivo* körülmények között kapott eredményeiket a PMMA rendszerekről.

PMMA-ból *in vivo* Chapman és Hadley 37 napig mért gentamicin és clindamycin kioldódást nyulak esetén (Chapman et al., 1976).

Letsch munkacsoportja gentamicinnel átitatott kollagén spongiosa és gentamicinnel impregnált PMMA gyöngyök hatását vizsgálta. Szérum, vizelet és sebváladék antibiotikum koncentrációkat mértek. A PMMA esetén bár hosszabb ideig tartó eliminációt mértek, mégis a koncentráció értékek alacsonyabbak voltak. A kollagénből gyors eliminációt detektáltak, továbbá a PMMA-hoz képest 10%-kal alacsonyabb volt a gyógyulás is (Letsch et al., 1993).

Még ugyanebben az évben Gerhart munkatársaival közölt publikációjában nem talált szignifikáns különbséget patkány oszteomiELITISZ esetén a PMMA és a biodegradábilis csontcement terápia hatása között (Gerhart et al., 1993).

1995-ben Henry és munkatársa azt igazolta, hogy az antibiotikum tartalmú PMMA lánc helyben magas, azonban a szisztémás keringésben alacsony gyógyszer szintet biztosít (Henry et al., 1995).

Egyes kutatócsoportok pedig Bálint Lehel és munkatársaihoz hasonlóan hosszabb távú antibiotikum kioldódást is mértek PMMA-ból. *In vivo* körülmények között a kioldódás időtartama tág határok között mozog; napoktól évekig (Nandi et al., 2009, Masri et al., 1998). Ezek az eltérő eredmények elsősorban a nem standardizált mérési körülményeknek köszönhetők (készítés, PMMA fajta, minta méret, minta alak, hőmérséklet, mérési módszer, antibiotikumfajta, antibiotikum/PMMA keverési arány, töltőanyag tartalom, mérések gyakorisága, stb.) (Belt et al., 2001). Azonban nagy az egyetértés azon a téren, hogy a kioldódás - akár *in vitro* vagy *in vivo* vizsgálva - kivétel nélkül kétfázisos; kezdeti magas, majd nagymértékben csökkent gyógyszer kioldódással. Azonban az alacsony, ámde hosszú ideig fennálló antibiotikum kioldódás felvet bizonyos problémákat; rendkívül megnöveli az antibiotikummal szembeni rezisztencia kialakulásának veszélyét. Ez is az egyik fő oka annak, hogy az antibiotikum hordozó, nem biodegradábilis PMMA testek eltávolítása javasolt. Természetesen ez egy újabb beavatkozást igényel, mely talán a legnagyobb hátránya is a rendszereknek, azonban a biodegradábilis rendszerek nagy része még kísérleti stádiumban van, illetve az alkalmazásuk is meglehetősen költséges.

Együttvéve - mint vártuk - minden kapszula a falvastagságnak és a szorbitol tartalomnak megfelelő antibiotikum leadást mutatott. Minden gyógyszer esetében a 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák kétfázisos kiáramlást mutattak (hasonlóan a PMMA

gyöngyökhöz). A gyors gyógyszerkiáramlásnak pedig terápiás szempontból kiemelkedő jelentősége van. Továbbá, mint azt a gentamicin esetében láthattuk a kontrollhoz képest szignifikánsan több antibiotikum diffundált ki a kapszulákból. A többi kapszula típusnál a kiáramlás valamivel később, az elúciós csatornák folyamatos kialakulásával érte el maximumát. A 60 w/w %-os és 0.5 mm-es, illetve a 70 w/w %-os és 0.6 mm-es kapszulák kumulatív kiáramlása között jelentősebb különbséget nem tapasztaltunk egyik antibiotikum esetén sem. Ennek feltehetően az az oka, hogy a plusz 10 w/w % szorbitol tartalom körülbelül a 0.1 mm-es falvastagsághoz hasonló permeabilitást tesz lehetővé, vagyis a két típus esetén e két paraméter változtatásával körülbelül hasonló áteresztőképességet értünk el. Azonban mint láthatjuk munkacsoportunknak sem sikerült egy eszközzel biztosítani a 42. napig tartó folyamatosan egyenletes gyógyszer szintet. Ellenben kiemelkedő eredmény, hogy a gyorsabb és a lassabb kinetikát mutató kapszulák egyidejű kombinálásával ezen cél elérésére lehetőségünk nyílt. Így mire a gyors kapszulák falán keresztül a kapszulába töltött antibiotikum átdiffundált, a lassabb kapszulák elnyújtottabb kiáramlásának köszönhetően csak a terápia második felében produkálnak jelentősebb gyógyszerleadást; biztosítva ezzel a relatív egyenletes, jóval a MIC értéket meghaladó gyógyszer szintet. Továbbá mivel a kapszulákat a polimerizációt követően töltjük meg, így a célzott terápiának megfelelő (bármilyen) antimikrobiális szerrel (szerekkel) is megtölthetjük, következésképp egy újabb, a PMMA rendszerekre jellemző hátrány kiküszöbölésére nyílik lehetőségünk.

A gyakorlatban a PMMA-szorbitol kapszulák felhasználása a következőképp működne; a sebészi debridementet követően vagy a műtőben, vagy még közvetlenül műtét előtt a mikrobiológiai vizsgálatok eredménye szerinti célzott antibiotikum oldattal megtöltjük a kapszulákat. A megtöltést követően a lezárt kapszulákat a csontvelőüregben elhelyezzük. Ezt követően kb. 6 hét elteltével pedig egy második műtéttel a kapszulákat eltávolítjuk.

Összegezve az eredményeket, az általunk kifejlesztett PMMA-szorbitol kapszulák egyik legnagyobb előnye, hogy a falvastagság és a szorbitol tartalom változtatásával a kapszulákba töltött folyadék kiáramlási kinetikáját befolyásolni tudjuk. Így segítségükkel lehetőségünk nyílik, hogy időben szabályozható, előre megjósolható gyógyszerleadást biztosítsunk lokálisan a fertőzött területen. Ennek megfelelően a különböző kinetikát

mutató kapszulák kombinálásával elsősorban a 70 w/w %-os és 0.5 mm-es, illetve a 60 w/w %-os és 0.6 mm-es kapszulák egyidejű alkalmazásával a kezelés teljes ideje alatt egyenletes, a MIC érték több százszorosával megegyező gyógyszer szintet érhetünk el. Ezáltal a korábbi rendszerekkel ellentétben jelentősen csökkenthető az antibiotikum rezisztencia kialakulásának veszélye. Mindemellett, mivel a kapszulákat a polimerizációs folyamat lezajlása után töltjük meg, elviekben bármilyen antimikrobiális szert alkalmazhatunk (leoltás, és antibiotikum rezisztencia vizsgálatra alapozva). Továbbá egyéb gyógyszerek, akár kemoterápiás szerek lokális alkalmazására is lehetőség nyílik; például csont metasztázisok kezelésénél (Draenert et al., 2008). Végül, de nem utolsó sorban pedig a PMMA-szorbitol kapszulák előállításának költsége is meglehetősen kedvező.

Mindezeket egybevéve úgy gondoljuk, hogy a PMMA-szorbitol kapszulák potenciális, új, költségkímélő lehetőséget nyújthatnak már a közeli jövőben a szeptikus csontfolyamatok lokális kezelésében. Ennek igazolására szolgáló in vivo állatkísérletek már folyamatban vannak.

## 7. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A tézis célkitűzése egy a csontsebészetben használható lokális antibiotikum terápiát szolgáló eszköz kifejlesztése volt, mely időben szabályozható, a kezelés teljes időtartalma alatt egyenletes gyógyszer szintet biztosít. Továbbá lehetőséget nyújt bármilyen antimikrobiális szer lokális alkalmazására.

Az eszköz alapanyagának az évtizedek óta használt PMMA-t választottuk. Azonban az eddig használatos felhasználási formától eltérően egy kapszularendszert hoztunk létre. Hipotézisünk az volt, hogy a kapszulák gyógyszerleadási kinetikáját vízdékony töltőanyag tartalmának és falvastagságának szabályozásával befolyásolni tudjuk.

Kísérleteink új eredményei a következők:

1. Létrehoztunk egy PMMA alapú kapszularendszert eltérő szorbitol töltőanyag tartalommal és különböző falvastagsággal. Továbbá az előállítási technológiának köszönhetően a zárszerkezet század milliméter pontossággal illeszkedett a kapszulákba - megakadályozva ezzel a szivárgást.
2. In vitro körülmények között a környező sóoldatba kiáramlott BPB mennyisége arányos volt a kapszulák falának átteresztőképességével. A magasabb szorbitol tartalom a kapszulák falán egy adott időintervallum alatt nagyobb mennyiségű BPB diffúziót eredményezett. A növekvő falvastagság pedig elnyújtotta a BPB kiáramlást.
3. A kapszulák falának morfológiáját tanulmányozva azt találtuk, hogy a töltőanyag kioldódás helyén a falban pórusok, elúciós csatornák képződtek, melyek teljes felület nagysághoz viszonyított aránya egyenesen arányos volt a töltőanyag tartalommal.

4. Az *in vitro* permeabilitás vizsgálat eredményei és a morfológiai vizsgálatok együttesen azt bizonyították, hogy a két változó paraméter (töltőanyag tartalom, falvastagság) szabályozásával befolyásolni tudjuk a kapszulába töltött BPB oldat kiáramlását, vagyis a kapszula falának átteresztőképességét.
5. *In vitro* antibiotikum kiáramlást vizsgálva a kiválasztott kapszulák kinetikája a falvastagság és szorbitol tartalom függvényében változott. A 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák relatív gyors, kétfázisos jellegű gyógyszerleadást, míg a többi kapszula elnyújtottabb kiáramlást eredményezett. Így míg a 70 w/w %, 0.5 mm-es kapszulák a vizsgálat elején, addig a többi kapszula a vizsgálat végén is akár a *S. aureus* MIC értékét több százszorosát meghaladóan képes volt kidiffundálni a kapszulák belsejéből.
6. Összehasonlító vizsgálatunk során, azonos mennyiségű antibiotikum tartalom esetén a jelenleg „arany standardként” használt PMMA-gentamicin-gyöngyöknél az általunk előállított kapszulák kedvezőbb, szignifikánsan magasabb gentamicin kiáramlást mutattak *in vitro* körülmények között.

## 8. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Őszinte és hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek *Prof. Dr. Miseta Attilának*, aki érdemesnek talált arra, hogy ezen a témán dolgozzam, és akinek fáradhatatlan támogatása, szakmai útmutatásai nélkül nem ölthetett volna formát dolgozatom.

Köszönöm programvezetőmnek, *Prof. Dr. Olasz Lajosnak* és a Fogászati és Szájsebészeti Klinika korábbi és jelenlegi Igazgatójának, *Prof. Dr. Szabó Gyulának* és *Dr. Nagy Ákosnak* segítőkészségét és támogatását.

Továbbá köszönettel tartozom *Dr. Nagy Tamásnak* és *Dr. Kátai Emesének*, akik helyes útmutatásaikkal, lényegre törő tanácsaikkal segítették munkámat.

Köszönettel tartozom még *Prof. Dr. Kovács L. Gábor* Intézetvezető Úrnak és *Montskó Gergelynek*, hogy a HPLC vizsgálatok elvégzésében segítettek.

Megköszönöm továbbá *Dr. Borsiczky Balásznak*, *Dr. Cseh Gellértnek* és *Dr. Börzsei Lászlónak* támogatását, mellyel hozzájárultak a munkám elvégzéséhez.

Köszönöm ezen felül *Szvacsek Ferencnek* a kapszulák gyártásában nyújtott segítségét.

Köszönetet szeretnék mondani *Dr. Kocsis Bélának* és kedves feleségének, *Kocsis Erikának* biztatásukért, és a mikrobiológiai vizsgálatokban nyújtott segítségükért.

Továbbá köszönöm *Prof. Dr. Seress Lászlónak* és *Dolgos Bélának* a támogatását, és a pásztázó elektronmikroszkópos vizsgálatok elvégzésében nyújtott önzetlen segítségét.

Köszönettel tartozom *Dr. Pótó Lászlónak*, és *Dr. Juricskay Istvánnak* a statisztikai számítások elvégzésében nyújtott hathatós munkájáért.

Ezen felül szeretnék köszönetet mondani *Dr. Nőt László Gergelynek* és *Dr. Patczai Balásznak*, amiért a PTE KK Mozgásszervi Sebészeti Intézet Traumatológiai és Kézsebészeti Klinikai Tanszék beteganyagának röntgen felvételeit rendelkezésemre bocsátották.

Köszönetemet fejezem ki még *minden kollégámnak és munkatársamnak*, akik valamilyen módon segítséget nyújtottak, hozzájárultak munkám sikeres befejezéséhez.



Végül, de nem utolsó sorban köszönöm *Családomnak, Férjemnek és Barátaimnak* kitartó türelmüket, támogatásukat, megértésüket és segítőkész hozzáállásukat, mely nélkül nem születhetett volna meg e dolgozat.

## 9. IRODALOMJEGYZÉK

Adams K, Couch L, Cierny G, Calhoun J, Mader JT. In vitro and in vivo evaluation of antibiotic diffusion from antibiotic-impregnated polymethylmethacrylate beads. *Clin Orthop Relat Res.* 1992; 278: 244-252.

Addy LD, Martin MV. Clindamycin and dentistry. *Br Dent J.* 2005; 199 (5): 23-26.

Apple DJ, Sims J, Harold Ridley and the invention of the intraocular lens. *Surv Ophthalmol.* 1996; 40: 279–292.

Bálint L, Kocsis B, Szántó Z, Szabó G. In vitro measurement of the time-related efficacy of gentamicin sulfate release from bone cements. *Chemotherapy.* 2004a; 50(6): 302-307.

Bálint L, Koós Z, Kocsis B, Szabó G: Csontcementből történő gentamycin in vitro és in vivo kiáramlásának összehasonlítása. *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet.* 2002a; 45 (Suppl) I.41.

Bálint L, Koós Z, Liszt F, Kocsis B, Farkas B, Szabó G. The comparison of in vivo and in vitro elution of gentamycin from bone cement. *Orv Hetil.* 2004b; 145(28): 1467-1471.

Bálint L, Szántó Z, Kocsis B, Szabó G. Antibiotikum emisszió vizsgálata csontcementből I. (in vitro kísérlet). *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet.* 2002b; 45 (3): 163-170.

Bálint L, Szántó Z, Kocsis B, Szabó G. Csontcementből történő antibiotikum emisszió in vitro vizsgálata II. (Hosszú távú eredmények). *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet.* 2002c; 45(3): 170-177.

Bayston R, Milner RDG: Sustained release of antimicrobial drugs from bone cement. *J Bone Joint Surg.* 1982; 64-B: 460-464.

Belt H, Neut D, Schenk W, Horn JR, Mei HC, Busscher HJ. Infection of orthopedic implants and the use of antibiotic-loaded bone cements. A review. *Acta Orthop Scand.* 2001; 72: 557-571.

Berk RH, Yazici M, Atabey N, Ozdamar OS, Pabuccuoglu U, Alici E. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in formaldehyde solution-fixed, paraffin-embedded tissue by polymerase chain reaction in Pott's disease. *Spine.* 1996; 21: 1991-1995.

Bibbo C, Patel DV. The effect of demineralized bone matrix-calcium sulfate with vancomycin on calcaneal fracture healing and infection rates: a prospective study. *Foot Ankle Int.* 2006; 27(7): 487-493.

- Birmingham MC, Rayner CR, Meagher AK, Flavin SM, Batts DH, Schentag JJ. Linezolid for the treatment of multidrug-resistant, gram-positive infections: experience from a compassionate-use program. *Clin Infect Dis*. 2003; 36: 159-168.
- Blyth MJ, Kincaid R, Craigen MA, Bennet GC. The changing epidemiology of acute and subacute haematogenous osteomyelitis in children. *J Bone Joint Surg Br*. 2001; 83: 99-102.
- Börzsei L, Mintál T, Horváth A, Koós Z, Kocsis B, Nyárády J. Comparative study of antibiotic-containing polymethylmethacrylate capsules and beads. *Chemotherapy*. 2006a; 52: 1-8.
- Börzsei L, Mintál T, Koós Z, Kocsis B, Helyes Zs, Kereskai L, Nyárády J. Examination of a novel, specified local antibiotic therapy through polymethylmethacrylate capsules in a rabbit osteomyelitis model. *Chemotherapy*. 2006b; 52: 73-79.
- Breusch SJ, Kühn KD. Knochenzemente auf basis von polymethylmethacrylat. *Orthopäde*. 2003; 32: 41-50.
- Buchholz HW, Engelbrecht H. Über die Depotwirkung einiger Antibiotica bei Vermischung mit dem Kunstharz Palacos. *Chirurg*. 1970; 41: 511-515.
- Bunetel L, Segui A, Cormier M, Percheron E, Langlais F. Release of gentamicin from acrylic bone cement. *Clin Pharmacokinet*. 1989; 17: 291-297.
- Burt BA. The use of sorbitol- and xylitol-sweetened chewing gum in caries control. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137: 190-196.
- Cabanillas PF, Pena ED, Barrales-Rienda JM, Frutos G. Validation and in vitro characterization of antibiotic-loaded bone cement release. *Int J Pharm*. 2000; 209: 15-26.
- Carragee EJ, Kim D, van der Vlugt T, Vittum D. The clinical use of the erythrocyte sedimentation rate in pyogenic vertebral osteomyelitis. *Spine*. 1997; 22: 2089-2093.
- Chant C, Reybak MJ: Quinupristin/dalfopristin (RP59500): A new streptogramin antibiotic. *Ann Pharmacother* 1995; 29: 1022-1027.
- Chapman MW, Hadley WK. The effect of polymethylmethacrylate and antibiotic combinations on bacterial viability: an in vitro and preliminary in vivo study. *J bone Joint Surg Am*. 1976; 58A: 76-81.
- Cierny G 3rd, Mader JT, Penninck JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Contemp Orthop*. 1985; 10: 17-37.
- Cierny G, Mader JT. The surgical treatment of adult osteomyelitis. In: Evarts CMC, editor. *Surgery of the musculoskeletal system*. New York: Churchill Livingstone; 1983. 15-35.

Cierny G, Mader JT: Adult chronic osteomyelitis. *Orthopedics* 1984; 7: 1557-1564.

Dacquet V, Varlet A, Tandogan RN, Tahon MM, Fournier L, Jehl F, Monteil H, Bascoulergue G. Antibiotic-impregnated plaster of Paris beads. Trials with teicoplanin. *Clin Orthop Relat Res.* 1992; 282: 241-249.

De Jonghe M, Glaesener G. Type B Haemophilus influenzae infection. Experience at the Pediatric Hospital of Luxembourg. *Bull Soc Sci Med Grand Duché Luxemb.* 1995; 132: 17-20.

DiMaio FR, O'Halloran JJ, Quale JM. In vitro elution of ciprofloxacin from polymethylmethacrylate cement beads. *J Orthop Res.* 1994; 12: 79-82.

DiPisa JA, Sih GS, Berman AT. The temperature problem at the bone-acrylic cement interface of the total hip replacement. *Clin Orthop Relat Res.* 1976; 121: 95-98.

Dunne NJ, Hill J, McAfee P, Todd K, Kirkpatrick R, Patrik S, Tunney M. Incorporation of large amounts of gentamicin sulphate into acrylic bone cement: effect on handling and mechanical properties, antibiotic release, and biofilm formation. *J Eng Med.* 2008;22:355-365.

Dunne NJ, Hill J, McAfee P, Todd K, Kirkpatrick R, Tunney M, Patrik S. In vitro study of the efficacy of acrylic bone cement loaded with supplementary amounts of gentamicin. *Acta Orthop.* 2007; 78: 774-785.

Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol Microbiol Scand [B] Microbiol Immunol.* 1971; 217(Suppl): 81-90.

Frazer RQ, Byron RT, Osborne PB, West KP. PMMA: an essential material in medicine and dentistry. *J Long Term Eff Med Implants.* 2005; 15(6): 629-39.

Freeman J, Wilcox MH. Antibiotics and Clostridium difficile. *Micrbes and Infection.* 1999; 1: 377-384.

Gerhart TN, Roux RD, Hanff PA, Horowitz G, Renshaw AA, Hayes WC. Antibiotic-loaded biodegradable bone cement for prophylaxis and treatment of experimental osteomyelitis in rats. *J. Orthop. Res.* 1993; 11 (2): 250-255.

Gillespie WJ. Epidemiology in bone and joint infection. *Infect Dis Clin North Am.* 1990; 4: 361-376.

Gogia JS, Meehan JP, Di Cesare PE, Jamali AA. Local antibiotic therapy in osteomyelitis. *Semin Plast Surg.* 2009; 23: 100-107.

- Greene N, Holton PJ, Warren CA, Ressler RL, Shepherd L, McPherson EJ, Patzakis MJ. In vitro elution of tobramycin and vancomycin polymethylmethacrylate beads and spacers from Simplex and Palacos. *Am J Orthop*. 1998; 27: 201-205.
- Haboush EJ. A new operation for arthroplasty of the hip based on biomechanics, photoelasticity, fast-setting dental acrylic, and other considerations. *Bull Hosp Joint Dis*. 1953; 14: 242-77.
- Hanssen AD. Local antibiotic delivery vehicles in the treatment of musculoskeletal infection. *Clin Orthop Relat Res*. 2005; 437: 91-96.
- Hedstrom SA. The prognosis of chronic staphylococcal osteomyelitis after long-term antibiotic treatment. *Scand J Infect Dis*. 1974; 6: 33-38.
- Hendriks JG, van Horn JR, van der Mei HC, Busscher HJ. Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection. *Biomaterials*. 2004; 25(3):545-56
- Henry SL, Galloway KP. Local antibacterial therapy for the management of orthopedic infections. Pharmacokinetic considerations. *Clin. Pharmacokinet*. 1995; 29: 36-45.
- Ikpeme IA, Ngim NE, Ikpeme AA. Diagnosis and treatment of pyogenic bone infections. *African Health Sciences*. 2010; 10(1):82-88.
- Jorge LS, Chueire AG, Rossit AR. Osteomyelitis: a current challenge. *Braz J Infect Dis*. 2010; 14 (3): 310-315.
- Judet J, Judet R. The use of an artificial femoral head for arthroplasty of the hip joint. *J Bone Joint Surg Br*. 1950; 32-B: 166-73.
- Kiss J. A cefotaxim profilaktikus és terápiás alkalmazása a sebészetben. *Magyar Sebészet*. 1992; 45: 158-190.
- Klemm K. Gentamicin-PMMA beads in treating bone and soft tissue infections (author's transl). *Zentralbl Chir*. 1979; 104: 934-942.
- Kuechle DK, Landon GC, Musher DM, Noble PC. Elution of vancomycin, daptomycin, and amikacin from acrylic bone cement. *Clin Orthop Relat Res*. 1991; 264: 302-308.
- Kustos I, Kustos T, Kilár F, Rappai G, Kocsis B. Effect of antibiotic treatment on bacterial attachment to a DePuy Enduron Orthopedic Implant. *Chemotherapy*. 2005; 51:286-290.
- La Scola B, Michel G, Raoult D. Use of amplification and sequencing of the 16S rRNA gene to diagnose *Mycoplasma pneumoniae* osteomyelitis in a patient with hypogammaglobulinemia. *Clin Infect Dis*. 1997; 24: 1161-1163.

Laky R. The use of polymethyl-methacrylate balls and beads containing Gentamycin for the treatment of chronic posttraumatic osteomyelitis (author's trans). *Magy Traumatol Orthop Helyreallito Seb.* 1979; 22(1):25-32.

Laky R, Horváth A, Kubatov M. treatment of experimental osteomyelitis with polymethyl methacrylate pellets containing tobramycin or cephalothin. *Magy Traumatol Orthop Helyreallito Seb.* 1982; 25(4):280-286.

Laky R, Kocsis B, Kubatov M, Szittyai B. Model studies of the antibiotic release of gentamycin, tobramycin and cephalothin polymethylmethacrylate beads in vivo. *Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe.* 1983; 16(5):306-314.

Lazzarini L, Mader JT, Calhoun JH. Osteomyelitis in Long Bones. *J Bone Joint Surg Am.* 2004; 86: 2305-2318.

Letsch R, Rosenthal E, Joka T. Locale antibiotica-Application in der osteomyelitisbehandlung-Eine Vergleichstudie mit zwei verschiedenen Tragersubstanzen. *Aktuelle Traumatol.* 1993; 23: 324-329.

Levin PD. The effectiveness of various antibiotics in methyl methacrylate. *J Bone Joint Surg Br.* 1975; 57: 234-337.

Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *N Eng J Med.* 1997; 336:999-1007

Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. *Lancet.* 2004; 364:369-379.

Li XD, Hu YY. The treatment of osteomyelitis with gentamicin-reconstituted bone xenograft-composite. *J Bone Joint Surg Br.* 2001; 83(7):1063-1068.

Mackey D, Varlet A, Debeaumont D. Antibiotic loaded plaster of Paris pellets: an in vitro study of a possible method of local antibiotic therapy in bone infection. *Clin Orthop Relat Res.* 1982; 167: 263-268.

Masri BA, Duncan CP, Beauchamp CP. Long-term elution of antibiotics from bone-cement: an in vivo study using the prosthesis of antibiotic-loaded acrylic cement (PROSTALAC) system. *J Arthroplasty.* 1998; 13(3): 331-338.

Matsuno H, Yudoh K, Hashimoto M, Himeda Y, Miyoshi T, Yoshida K, Kano S. A new antibacterial carrier of hyaluronic acid gel. *J Orthop Sci.* 2006;11(5):497-504.

McLaren AC, McLaren SG, Hickmon MK. Sucrose, xylitol, and erythrol increase PMMA permeability for depot antibiotics. *Clin Orthop Relat Res.* 2007; 461: 60-63.

McLaren AC, McLaren SG, Smeltzer MS. Xylitol and glycine fillers increase permeability of PMMA to enhance elution of daptomycin. *Clin Orthop Relat Res.* 2006; 451: 25–28.

- McLaren AC, Nelson CL, McLaren SG, Wassel DL. Phenolphthalein used to assess permeability of antibiotic-laden polymethylmethacrylate: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res.* 2005; 439: 48-51.
- McLaren AC, Nelson CL, McLaren SG, DeClerk GR. The effect of glycine filler on the elution rate of gentamicin from acrylic bone cement: a pilot study. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 427: 25-27.
- McLaren AC. Alternative materials to acrylic bone cement for delivery of depot antibiotics in orthopaedic infections. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 427: 101-106.
- McLaren RL, McLaren AC, Vernon BL. Generic tobramycin elutes from bone cement faster than proprietary tobramycin. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466 (6):1372-1376.
- McQueen M, Hughes SP, May P, Verity L: Cefuroxim in total joint arthroplasty: intravenous or in bone cement. *Arthroplasty.* 1990; 5: 169-176.
- Mendel V, Simanowski HJ, Scholz HC, Heymann H. Therapy with gentamicin-PMMA beads, gentamicin-collagen sponge, and cefazolin for experimental osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2005; 125(6): 363-368.
- Meyer PR Jr, Lautenschlager EP, Moore BK. On the setting properties of acrylic bone cement. *J Bone Joint Surg Am.* 1973; 55-A: 149-156.
- Miclau T, Dahners LE, Lindsey RW. In vitro pharmacokinetics of antibiotic release from locally implantable materials. *J Orthop Res.* 1993; 11(5): 627-632.
- Modi SP, Eppes SC, Klein JD. Cat-scratch disease presenting as multifocal osteomyelitis with thoracic abscess. *Pediatr Infect Dis J.* 2001; 20: 1006-1007.
- Moojen DJ, Hentenaar B, Vogeley C, Verbout AJ, Castelein RM, Dhert WJ. In vitro release of antibiotics from commercial PMMA beads and articulating hip spacers. *J Arthroplasty.* 2008; 23:1152-1156.
- Munson FT, Heron DF. Facial reconstruction with acrylic resin. *Am J Surg.* 1941; 3: 291-50.
- Nandi SK, Mukherjee P, Roy S, Kundu B, Kumar De D, Basu D. Local antibiotic delivery systems for the treatment of osteomyelitis-A review. *Mat Sci Eng C.* 2009; 29: 2478-2485.
- Nelson CL, McLaren SG, Skinner RA, Smeltzer MS, Thomas JR, Olsen KM. The treatment of experimental osteomyelitis by surgical debridement and the implantation of calcium sulfate tobramycin pellets. *J Orthop Res.* 2002; 20(4): 643-647.
- Nelson CL. The current status of material used for depot delivery of drugs. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 427: 72-78.

- Nicholas P, Meyers BR, Levy RN, Hirschman SZ. Concentration of clindamycin in human bone. *Antimicrob Agents Chemother* 1975; 8: 220-221.
- Nomura M, Shin M, Ohta M, Nukui Y, Ohkusu K, Saito N. Atypical osteomyelitis of the skull base and craniovertebral junction caused by actinomyces infection. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2011; 51(1): 64-66.
- Norden CW, Shinnors E, Niederriter K. Clindamycin treatment of experimental chronic osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*. 1986; 153: 947-959.
- Otsuka M, Sawada M, Matsuda Y, Nakamura T, Kokubo T. Antibiotic delivery system using bioactive bone cement consisting of Bis-GMA/TEGDMA resin and bioactive glass ceramics. *Biomaterials*. 1997; 18(23): 1559-1564.
- Passuti N, Gouin F. Antibiotic-loaded bone cement in orthopedic surgery. *J Bone Spine*. 2003; 70: 169-174.
- Penner MJ, Duncan CP, Masri BA. The in vitro characteristics of antibiotic-loaded CMW and Palacos-R bone cement. *J Arthroplasty*. 1999; 14: 209-214.
- Penner MJ, Masri BA, Duncan CP. Elution characteristics of vancomycin and tobramycin combined in acrylic bone cement. *J Arthroplasty*. 1996; 11: 939-944.
- Perry CR, Pearson RL, Miller GA. Accuracy of cultures of material from swabbing of the superficial aspect of the wound and needle biopsy in the preoperative assessment of osteomyelitis. *J Bone Joint Surg Am*. 1991; 73: 745-749.
- Perry M. Erythrocyte sedimentation rate and C reactive protein in the assessment of suspected bone infection—are they reliable indices? *J R Coll Surg Edinb*. 1996; 41: 116-118.
- Popham GJ, Mangino P, Seligson D, Henry SL. Antibiotic-impregnated beads. Part II: Factors in antibiotic selection. *Orthop Rev*. 1991; 20: 331-337.
- Raff MJ, Melo JC. Anaerobic osteomyelitis. *Medicine Baltimore*. 1978: 57-83.
- Rao N, Santa ER. Ant-Infective therapy in orthopaedics. *Oper Tech in Ortop*. 2002;12(4): 247-252.
- Rasyid HN, Van der Mei HC, Frijlink HW, Soegijoko S, Van Horn JR, Busscher HJ, Neut D. Concepts for increasing the gentamicin release from handmade bone cement beads. *Acta Orthop*. 2009; 80: 508–513.
- Reckling FW, Dillon WL. The bone-cement interface temperature during total joint replacement. *J Bone Joint Surg Am*. 1977; 59-A: 80-82.



Renner A. Traumatológia. Medicina. Budapest. 2003. 128-135.

Rimnac CM, Wright TM, McGill DL. The effects of centrifugation on the fracture properties of acrylic bone cements. *J Bone Joint Surg Am.* 1986; 68: 281-287.

Roeder B, Gils van CC, Maling S. Antibiotic Beads in the treatment of diabetic pedal osteomyelitis. *J Foot Ankle Surg.* 2000; 39(2): 124-130.

Roine I, Faingezicht I, Arguedas A, Herrera JF, Rodriguez F. Serial serum C-reactive protein to monitor recovery from acute hematogenous osteomyelitis in children. *Pediatr Infect Dis J.* 1995; 14: 40-44.

Schierholz JM, Steinhauser H, Rump AF, Berkels R, Pulverer G. Controlled release of antibiotics from biomedical polyurethanes: morphological and structural features. *Biomaterials.* 1997; 18(12): 839-844.

Schulak DJ, Rayhack JM, Lippert FG 3rd, Convery FR. The erythrocyte sedimentation rate in orthopaedic patients. *Clin Orthop.* 1982; 167: 197-202.

Shinto Y, Uchida A, Korkusuz F, Araki N, Ono K. Calcium hydroxyapatite ceramic used as a delivery system for antibiotics. *J Bone Joint Surg Br.* 1992; 74(4): 600-604.

Simpson AH, Deakin M, Latham JM. Chronic osteomyelitis. The effect of the extent of surgical resection on infection-free survival. *J Bone Joint Surg Br.* 2001; 83: 403-407.

Squire MW, Ludwig BJ, Thompson JR, Jagodzinski J, Hall D, Andes D. Premixed antibiotic bone cement: an in vitro comparison of antimicrobial efficacy. *J Arthroplasty.* 2008; 23(Suppl.1):110-114.

Srinivasan A, Dick JD, Perl TM. Vancomycin resistance in staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(3): 430-438.

Summersgill VL, Schupp LG, Raff MJ. Comparative penetration of metronidazole, clindamycin, chloramphenicol, cefoxitin, tircacillin, and moxalactam into bone. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982; 21: 601-603.

Sutter VL. In vitro susceptibility of anaerobes: Comparison of clindamycin and other antimicrobial agents. *J Infect Dis.* 1977; 135 (Suppl):7-12.

Toksvig-Larsen S, Franzen H, Ryd L. Cement interface temperature in hip arthroplasty. *Acta Orthop Scand.* 1991; 62: 102-105.

Wagner DK, Collier BD, Rytel MW. Long-term intravenous antibiotic therapy in chronic osteomyelitis. *Arch Intern Med.* 1985; 145: 1073-1078.

- Waldvogel FA, Medoff G, Swartz MN. Osteomyelitis: a review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects. *N Engl J Med.* 1970; 282: 198-206, 260-266, 316-322.
- Webb JC, Spencer RF. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89(7): 851-857.
- Webb ND, McCanless JD, Courtney HS, Bumgardner JD, Haggard WO. Daptomycin eluted from calcium sulfate appears effective against *Staphylococcus*. *Clin Orthop Relat Res.* 2008; 466(6): 1383-1387.
- Weiss BD, Weiss EC, Haggard WO, Evans RP, McLaren SG, Smeltzer MS. Optimized elution of daptomycin from polymethylmethacrylate (PMMA) beads. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53 (1): 264-266.
- Wilson SG, Sanders CC. Selection and characterisation of strains of *Staphylococcus aureus* displaying unusual resistance to aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother* 1976; 10: 519-525.
- Wu P, Grainger WD. Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis. *Biomaterials.* 2006; 25: 2450-2467.
- Zhou H, Zheng Z, Wu S, Tai, Caoc X, Pan Y. Separation and characterization of clindamycin and related impurities in bulk drug by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Pharm Biom Anal* 2006; 41: 1116–1123.
- Zilberman M, Elsner JJ. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J Control Release.* 2008; 130: 202-215.

## 10. TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

### Jelen PhD dolgozat alapjául szolgáló közlemények

**Frank D**, Cseh G, Nagy T, Pótó L, Kocsis B, Miseta A  
Polymethyl-Methacrylate-Sorbitol Based Capsules as Local Drug Delivery Vehicles: A Preliminary Study  
Cell Biol Int. 2011; 35(5):499-504.  
**IF: 1.8 (2009)**

**Frank D**, Cseh G, Kocsis B, Nagy T, Borsiczky B, Tóké-Füzesi M, Miseta A  
Polymethyl-Methacrylate-Sorbitol Based Capsules as Local Drug Delivery Vehicles: In Vitro Antibiotic Elution Study  
Cell Biol Int. 2011; 35(3):267-272.  
**IF:1.8 (2009)**

**Frank D**, Montsko G, Juricskay I, Borsiczky B, Cseh G, Kocsis B, Nagy T, Nagy AK, Kovács LG, Miseta A  
Clindamycin Release Determined by High Performance Liquid Chromatography from a Novel Low-Cost Local Drug Delivery System: A New Potential Treatment Option for Chronic Osteomyelitis  
Közlésre elfogadva: J Chemother  
**IF: 1.166 (2009)**

### Jelen PhD dolgozat alapjául szolgáló hazai és nemzetközi előadások

**Frank D**, Cseh G, Borsiczky B, Miseta A  
A polimetil-metakrilát egy újfajta felhasználási lehetősége a muszkuloskeletális infekciók kezelésében  
2009.08.21-22.  
HMAA Balatonfüredi Nyári Diákkonferencia (Balatonfüred, Magyarország)

**Frank D**, Cseh G, Nagy T, Borsiczky B, Seress L, Miseta A  
A novel local drug delivery device in the management of musculoskeletal infections  
Preliminary testing  
2009.11.19-22.  
6th International Medical Postgraduate Conference (Hradec Kralove, Csehország)

**Frank D**, Cseh G, Borsiczky B, Börzsei L, Miseta A  
PMMA-szorbitol kapszulák diffúziós vizsgálata  
2010.06.17-19.  
A Magyar Ortopéd Társaság és a Magyar Traumatológus Társaság 2010. évi Közös Kongresszusa (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Cseh G, Borsiczky B, Börzsei L, Kocsis B, Miseta A  
PMMA-szorbitol kapszulák antibiotikum kiáramlás vizsgálata  
2010.06.17-19.

A Magyar Ortopéd Társaság és a Magyar Traumatológus Társaság 2010. évi Közös Kongresszusa (Pécs, Magyarország)

Borsiczky B, Börzsei L, Jancsik V, **Frank D**, Miseta A, Cseh G  
Nyúl tibiáján létrehozott kísérletes osteomyelitis lokális terápiája antibiotikummal töltött PMMA-szorbitol kapszulák közvetítésével  
2010.06.17-19.

A Magyar Ortopéd Társaság és a Magyar Traumatológus Társaság 2010. évi Közös Kongresszusa (Pécs, Magyarország)

Börzsei L, Borsiczky B, Cseh G, Kocsis B, **Frank D**, Miseta A  
Szeptikus csontfolyamatok lokális antibiotikum terápiájának lehetőségei és egy újabb antibiotikum hordozó: A PMMA-szorbitol kapszula  
2010.06.17-19.

A Magyar Ortopéd Társaság és a Magyar Traumatológus Társaság 2010. évi Közös Kongresszusa (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Cseh G, Borsiczky B, Kocsis B, Miseta A  
PMMA-sorbitol capsules  
2010.08.20-21.

Hungarian Medical Association of America. HMAA Summer conference in Balatonfüred (Balatonfüred, Magyarország)

**Frank D**  
PhD hallgatói előadás-PMMA-szorbitol kapszulák  
2010.08.30-09.3.

Fogorvosok számára kötelező szintentartó tanfolyam és gyakorlati kurzus, Fogorvostudományi tudományos ülés (Pécs, Magyarország)

**Frank D**  
PMMA-szorbitol kapszulák permeabilitás és in vitro antibiotikum kiáramlás vizsgálata  
2010.09.27.

Pécsi Tudományegyetem Orvostudományi és Egészségtudományi Szakosztály Tudományos Ülése- Tanulságos Estek Fóruma- Felkért előadás (Pécs, Magyarország)

Cseh G, Jancsik V, Börzsei L, **Frank D**, Jávor S, Borsiczky B  
PMMA sorbitol capsules for the treatment of pyogenic bone infection: experimental study in rabbits  
2011.06.26-30.

Br J Surg. 2011 Jun;98 Suppl 5:S1-69  
46th Congress of the European Society for Surgical Research (Aachen, Németország)  
**IF: 4.077 (2009)**

**Frank D**, Borsiczky B, Montskó G, Cseh G, Kocsis B, Kolarovszki B, Nagy T, Nagy Á, Kovács LG, Miseta A  
A novel local drug delivery system  
2011.08.31-09.03.  
45th Meeting of the Continental European Division of the International Association for Dental Research with the Scandinavian Division (Budapest, Magyarország)  
**IF:3.773 (2009)**

#### **Jelen PhD dolgozat alapjául szolgáló nemzetközi poszterek**

**Frank D**, Borsiczky B, Börzsei L, Kocsis B, Nagy T, Miseta A, Cseh G  
Release Properties of a Novel Local Drug Delivery System  
2010.06.16-17.  
8th Central European Orthopaedic Congress (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Montskó G, Borsiczky B, Cseh G, Kocsis B, Kolarovszki B, Nagy T, Kovács LG, Miseta A  
Clindamycin Release from a Novel Local Antibiotic Delivery System for the Management of Chronic Osteomyelitis  
2011.06.24-30.  
4th Congress of European Microbiologist FEMS 2011 (Genf, Svájc)

#### **Egyéb közlemények**

Nagy T, Balasa A, **Frank D**, Rab A, Rideg O, Kotek G, Magyarlaki T, Bogner P, Kovács GL, Miseta A  
O-GlcNAc modification of proteins affects volume regulation in Jurkat cells  
European Biophysics Journal. 2010;39:1207-1217.  
**IF: 2,437 (2009)**

**Frank D**, Nagy T, Kátai E, Yahiro RKK, Bakó C, Zrínyi Z, Poór VS, Kovács GL, Miseta A  
Lithium induces unfolded protein response and enhance O-GlcNAc modification of proteins in Jurkat cells grown on galactose  
(Bírálat alatt)

#### **Egyéb idézhető absztraktok**

Nagy T, **Frank D**, Poor VS, Rab A, Kovacs GL, Miseta A  
Impaired galactose metabolism by lithium treatment leads to increased unfolded protein response and elevated O-GlcNAc modification of proteins  
Glycobiology.2010;(20)11; 1481-1482. Meeting Abstract: 103  
2010.11.7-10.  
2010 Annual Conference of the Society for Glycobiology (St Pete Beach, FL, USA)  
**IF: 3,929 (2009)**

## **Egyéb előadások**

**Frank D**, Benke B

Teljes kivethető lemezes fogpótlás szerkezeti stabilitásának növelési lehetősége  
2008.08.22-23.

Tobacco Epidemic in Hungary Conference in Budapest (Budapest, Magyarország)

Benke B, **Frank D**, Marada G, Cseh K, Szabó G

The effect of reinforcement with glass fibers and fracture characteristic of damaged acrylic-resin based specimen sas analysed by SEM

2008.09.4-6.

32nd Annual Congress of European Prosthodontic Assotiation (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Nagy T, Rab A, Poór VS, Kovács LG, Miseta A

Lithium treatment induces unfolded protein response and increases O-GlcNAc modification of proteins in Jurkat cells grown on galactose

2010.08.20-21.

HMAA Balatonfüredi Nyári Konferencia 2010 (Balatonfüred, Magyarország)

Nagy T, **Frank D**, Miseta A

Protein O-glycosylation; A new diagnostic Tool?

2010.08.26-28.

A Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 55. Nagygyűlése (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Nagy T, Rab A, Poór VS, Kovács LG, Miseta A

Lithium influences the signaling mechanism of O-glycosylation by the modulation of Ca<sup>2+</sup>-stores in galactose-fed Jurkat cells

2010.11.18-20.

7th International Medical Postgraduate Conference (Hradec Kralove, Csehország)

## **Egyéb poszterek**

**Frank D**, Pandúr E, Poór VS, Sarnyai Á, Nagy T, Miseta A, Sipos K

A hepcidin kimutatása a nagy nyálmirigyekből

2009.05.19-22.

39. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

**Frank D**, Nagy T, Rab A, Miseta A

A foszfoglükomutáz (PGM) szerepe a lítium hatásmechanizmusában Jurkat sejteken

2009.05.19-22.

39. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

Nagy T, **Frank D**, Balasa A, Józsa G, Rab A, Miseta A

O-glikoziláció: calcium szabályozás hypoxiás folyamatokban  
2009.05.19-22.

39. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

**Frank D**, Szalma J, Rideg O, Nagy T, Miseta A, Olasz L

Humán papillomavírusok (HPV) szerepe a szájüregi daganatos megbetegedésekben

2009.11.5-7.

Magyar Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Társaság XIII.Kongresszusa (Pécs, Magyarország)

**Frank D**, Nagy T, Kovács LG, Miseta A

A lítium hatása a galaktóz metabolizmusra és az O-glikozilációra Jurkat sejteken

2010.05.18-21.

40. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

**Frank D**, Nagy T, Kátai E, Poór VS, Kovács LG, Miseta A

Lítium a galaktóz metabolizmus megváltoztatásával fokozza a fehérjék O-glikozilációját és az UPR-t

2011.05.17-20.

41. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

Kátai E, Nagy T, **Frank D**, Kovács LG, Miseta A

Lítium új preventív lehetőség az Alzheimer betegségben?

2011.05.17-20.

41. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

Nagy T, Yahiro KKR, Kátai E, **Frank D**, Balogh A, Kovács LG, Miseta A

Az O-típusú protein glikoziláció szerepe a TRPC1 kalcium-csatorna szabályozásában

2011.05.17-20.

41. Membrántranszport Konferencia (Sümege, Magyarország)

Kolarovszki B, Barla-Szabó P, **Frank D**, Fülöp G

Biszfoszfónát – kezelés mellékhatásaként fellépő állcsontnekrózis – „lerágott csont”

2011.09.2-3.

51. Somogyi Egészségügyi Napok (Siófok, Magyarország)