Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta

Disertační práce

Miniinvazivní odběr spongiózních štěpů v traumatologické indikaci – experimentální a klinická studie

Minimally Invasive Cancellous Bone Graft Harvesting in Trauma Indication – Experimental and Clinical Study

Školitel: MUDr. Martin Kloub, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací. Prohlašuji, že odevzdaná tištěná verze práce a verze elektronická nahraná do Studijního informačního systému jsou totožné.

V Praze, 1.5.2020 MUDr. PAVEL LÁTAL

Identifikační záznam

LÁTAL, Pavel. *Miniinvazivní odběr spongiózních štěpů v traumatologické indikaci – experimentální a klinická studie*. [Minimally invasive cancellous bone graft harvesting in trauma indication – experimental and clinical study]. Praha, 2020. 68 stran, 1 příloha. Klasická disertační práce. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta. Ortopedicko-traumatologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha.

Vedoucí závěrečné práce/školitel: MUDr. Martin Kloub, Ph.D.

Klíčová slova: Kostní dřeň, Kmenové buňky, Hojení zlomenin, Kostní štěp, Autograft, Miniinvazivní chirurgie

Keywords: Bone marrow, Stem cells, Bone healing, Bone graft, Autograft, Miniinvasive surgery

Disertační práce byla vypracována v rámci postgraduálního doktorského studia biomedicíny, OR Experimentální chirurgie. Práce vznikla na pracovišti Oddělení úrazové chirurgie Nemocnice České Budějovice a.s., Oddělení patologie Nemocnice České Budějovice a.s. a Ortopedicko-traumatologické klinice 3. LF UK a FNKV v Praze.

Autor práce: **MUDr. Pavel Látal**

Vedoucí závěrečné práce/školitel: **MUDr. Martin Kloub, Ph.D.**

Oponenti práce:

Datum obhajoby:

Hodnocení:

Abstrakt

Disertační práce „Miniinvazivní odběr spongiózních štěpů v traumatologické indikaci“ pojednává o strategii léčby komplikovaných zlomenin a pakloubů s využitím miniinvazivně získaných kostních štěpů. Práce má část experimentální a klinickou. Cílem experimentální části je laboratorní srovnání zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně odebraných kostních štěpů z deseti kadaverózních preparátů ze zvolených oblastí s referenčním odběrem z hřebenu lopaty kosti kyčelní. V klinické části studie se zaměřujeme na praktické výsledky této operační techniky, zejména na množství odebrané spongiózy, efektivitu jejího použití a případné komplikace. Hodnotíme bolest v oblasti odběrového místa štěpů a srovnáváme ji s bolestí po standardním odběru z lopaty kosti kyčelní. V experimentální části práce jsme potvrdili, že je zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně odebraných kostních štěpů z oblastí velkého trochanteru, distálního femuru a proximálního humeru srovnatelné se štěpy z lopaty kosti kyčelní. Štěpy odebrané z proximální tibie a proximální ulny vykazují červené kostní dřeně podstatně méně. Část klinická prokázala, že lze miniinvazivně odebrat dostatečné množství tkáně pro léčení komplikovaných defektních zlomenin a léčbu pakloubů. Spongioplastika je s využitím těchto štěpů efektivní s minimálním podílem nezhojených zlomenin. Představuje techniku s nízkým rizikem výskytu pooperačních a pozdních komplikací. Disertační práce tak přináší nový pohled na strategii léčby dislokovaných defektních zlomenin či pakloubů, u kterých plánujeme augmentaci spongiózními kostními štěpy. Jako stěžejní výhody operační metody hodnotíme blízkost odběru operačnímu poli, efektivitu, a nízkou hladinu bolestivosti v pooperačním období.

Abstract

The thesis „Minimally invasive cancellous bone graft harvesting in trauma indication" deals with the strategy of treatment of complicated fractures and false joints using miniinvasively collected bone grafts. The thesis includes experimental and clinical parts. The aim of the experimental part is a laboratory comparison of red bone marrow content in mini-invasively taken bone grafts from ten cadaver specimens from chosen sites with the reference collection from the ilium of the hip bone. In the clinical part of the study we focus on the practical results of this surgical technique, especially on the amount of spongy bone tissue collected, efficiency of its use and complications. We evaluate the pain in the area of graft collection site and compare it with the pain after the standard collection from the ilium of the hip bone. In the experimental part of the thesis, we confirmed the content of red bone marrow in mini-invasive bone grafts from the area of the greater trochanter, distal femur, and proximal humerus is comparable with grafts taken from the ilium of the hip bone. The grafts taken from the proximal tibia and proximal ulna show significantly less red bone marrow. The clinical part has shown that sufficient tissue can be mini-invasively taken for the treatment of complicated defective fractures and false joints. Using these grafts, spongioplasty is effective with a minimum proportion of unhealed fractures. It represents a technique with a low risk of postoperative and late complications. The thesis brings a new insight into the strategy of treatment of displaced defective fractures or false joints where augmentation with spongy bone grafts is planned. The main advantages of the surgical method are the proximity of collection to the surgical field, efficiency and low level of pain in the postoperative period.

PODĚKOVÁNÍ 9

SEZNAM ZKRATEK 10

1 Úvod 12

1.1. Úvod do obecné osteologie a hojení kosti 12

1.2. Úvod do vlastní studie 15

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST STUDIE 16

2.1. Úvod 16

2.2. Cíl a hypotéza experimentální části studie 16

2.3. Materiál a metodika 17

2.3.1. Soubor 17

2.3.2. Vlastní odběr vzorků ze zemřelého dárce 17

2.3.3. Laboratorní zpracování vzorků 18

2.3.4. Zhodnocení připravených vzorků 18

2.4. Výsledky 19

2.5. Diskuse 21

2.6. Závěr experimentální části studie 24

3 KLINICKÁ ČÁST STUDIE 25

3.1. Historický úvod 25

3.2. Cíl a hypotéza klinické části studie 39

3.3. Materiál a metoda 39

3.3.1. Soubor pacientů 39

3.3.2. Metoda 40

3.3.3. Sběr dat 42

3.3.4. Statistické zhodnocení 42

3.4. Výsledky 42

3.5. Případové studie 46

3.5.1. Pacient 1 46

3.5.2. Pacient 2 49

3.5.3. Pacient 3 52

3.6. Diskuse 55

3.7. Závěr klinické části studie 59

4 ZÁVĚR 60

5 POUŽITÁ LITERATURA 62

6 PŘÍLOHA 69

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych rád poděkoval mému školiteli MUDr. Martinu Kloubovi, Ph.D., primáři Oddělení úrazové chirurgie Nemocnice České Budějovice a.s., bez jehož dlouholeté podpory by se moje práce nemohla nikdy uskutečnit. Dále bych chtěl poděkovat všem kolegům z oddělení, kteří mě při vědecké práci podporovali, a kteří mě zastupovali v době mé nepřítomnosti na pracovišti.

Neocenitelnou pomoc v experimentální části mojí práce mi poskytla i úzká spolupráce s Patologickým oddělením Nemocnice České Budějovice a.s., jmenovitě MUDr. Zuzanou Štikovou, která byla hlavním koordinátorem laboratorního zpracování vzorků.

SEZNAM ZKRATEK

ACDF – ANTERIOR CERVICAL DISCECTOMY AND FUSION

AICBG – ANTERIOR ILIAC CREST BONE GRAFT

ALP – ANTEROLATERAL PLATE

AO – ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR OSTEOSYNTHESEFRAGEN

BMP – BONE MORPHOGENETIC PROTEINS

CT – COMPUTED TOMOGRAPHY

DBM – DEMINERALIZED BONE MATRIX

DF – DISTÁLNÍ FEMUR

DT – DISTÁLNÍ TIBIE

HIV – HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS

HLA – HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN

ICBG – ILIAC CREST BONE GRAFT

LCP – LOCKING COMPRESSION PLATE

LHS – LOCKING HEAD SCREW

LKK – LOPATA KOSTI KYČELNÍ

MRI – MAGNETIC RESONANCE IMAGING

MSS – MUSCULUS SUPRASPINATUS

MTT – METATARS

Pa – PASCAL (jednotka tlaku)

PH – PROXIMÁLNÍ HUMERUS

PT – PROXIMÁLNÍ TIBIE

PU – PROXIMÁLNÍ ULNA

RIA – REAMER IRRIGATOR ASPIRATOR

SIAP – SPINA ILIACA ANTERIOR POSTERIOR

SIAS – SPINA ILIACA ANTERIOR SUPERIOR

TPF – VELKÝ TROCHANTER PROXIMÁLNÍHO FEMURU

VT – VELKÝ TROCHANTER PROXIMÁLNÍHO FEMURU

1 Úvod

1.1. Úvod do obecné osteologie a hojení kosti

Vlastní kost je specializovaná pojivová tkáň obsahující kalcifikovanou matrix a tři typy buněk: osteocyty uložené v matrix lakun, osteoblasty syntetizující organické komponenty matrix a osteoklasty starající se o resorpci kosti (1). Matrix se skládá z bílkovin, hlavně kolagenu I. typu, dále ze sialoproteinu, osteokalcinu, osteonektinu. Výměna látek mezi osteocyty a kapilárami závisí na mezibuněčných kontaktech.

Osteoblast je kostní buňka, která vytváří kostní matrix, vylučuje tedy do svého okolí kolagen I. typu, proteoglykany a glykoproteiny. Tento materiál je jednou ze základních složek kostní tkáně. Postupně se během jejich života v okolí hromadí zmíněná kostní matrix a mění se na osteocyty. To je základní buňka vyzrálé kosti a již netvoří mezibuněčnou hmotu. Stará se o metabolismus – uvolňuje minerální látky z kosti, podle potřeby se může přeměnit na osteoblast nebo retikulární buňku. Osteoblasty tvoří kostní tkáň a starají se o její remodelaci. Vznikají z kmenových buněk, které jsou v tkáni (2).

Osteoklast je větší rozvětvená kostní buňka schopná pohybu. Její hlavní funkcí je odbourávat kostní tkáň. Rozvolňuje kostní matrix. Patří do monocytomakrofágového systému. Vylučuje různé kolagenázy a další enzymy, dále produkuje vodíkové kationty, čímž rozpouští vápenaté krystaly. Aktivita osteoklastů je poměrně přísně regulována hormonálně, roli hrají hlavně cytokiny, parathormon a kalcitonin (1,2).

Makroskopicky lze kost rozdělit na kompaktní a spongiózní část. Dutinky houbovitých kostí a dutiny dlouhých kostí jsou vyplněny kostní dření, která může být ve dvou formách – červená kostní dřeň – hemopoetická (klíčová pro naši studii) a žlutá kostní dřeň – tvořená tukovou tkání.

Zlomenina znamená přerušení souvislosti kosti. Způsob hojení zlomeniny závisí na tom, jaký je kontakt mezi fragmenty, a jaká je mezi nimi pohyblivost. Perren (3) rozlišil tři základní typy hojení, tedy hojení svalkem, hojení přímé (primární) a štěrbinové. V tuzemské literatuře se problematice kostního hojení věnuje pregnantně Prof. MUDr. Bartoníček, DrSc., ve své publikaci „Základy klinické anatomie pohybového aparátu“ (4).

Hojení svalkem je nejběžnější, přirozený způsob hojení. Takto se hojí zlomeniny neoperačním způsobem léčby, ošetřené zevním fixatérem, nitrodřeňovým hřebem. Vlastní vývoj svalku má několik fází – proliferační, diferenciační, osifikační, modelace a remodelace. V místě kontaktu fragmentů, jejichž okraje propadnou nekróze, způsobují mechanické pohyby další poškození kostní tkáně a následně dochází k osteoklastické resorpci (5,6). Zároveň dochází k aktivaci osteoprogenitorových buněk, které tvoří jemné kostní lamely, směřující po obvodu hematomu a k místu lomné linie. Tento jev označujeme jako primární periostální reakci (4). Rozhodující úlohu přebírá svalek, který se vyvíjí v hematomu z pluripotentních buněk, pocházejících z různých zdrojů. Buňky rychle proliferují a vytvářejí primární svalek charakteru mezenchymového blastému, do kterého vrůstají nové cévní kličky (4). Při vlastní diferenciaci svalku dochází v jeho povrchové části ještě ne zcela pevného svalku k tahovému napětí a vzniká hlavně vazivo. V centrální části svalku vystavené koncentrickému tlaku se pak diferencuje tkáň chrupavčitá. Když je takto svalek dostatečně zpevněn dochází teprve k jeho osifikaci. Fibrózní, povrchová část svalku se mění na vláknitou kost mineralizací, ukládáním krystalů apatitu na povrch kolagenních vláken. Teprve další vrstvy kosti mají lamelární charakter (4). V centru svalku probíhá tzv. chondrogenní osifikace. Do svalku vrůstají cévní pupeny s chondroklasty v čele, dochází k tvorbě nepravidelných kostních lamel a trámců. V oblasti původní stěny diafýzy se kost zahustí v kompaktu, periostální a dřeňová část kostěného svalku řídne. V poslední fázi se přebytečná část svalku z povrchu resorbuje, obnovuje se dřeňová dutina a probíhá zároveň haverská remodelace kostní tkáně svalku. Pro

jeho vývoj jsou velmi důležité mechanické faktory, hlavně v období diferenciace, protože zde vznikají z nediferencovaného mezenchymového blastému tři různé tkáně – vazivo, chrupavka a kost (4). Vazivo vznikne tehdy, když je nezralá pojivová tkáň deformována v jednom směru. Chrupavka se utvoří tehdy, když na tkáň působí hydrostatický tlak. Dochází tak zřejmě změnou metabolismu ke ztrátě vody, a také ke kompresi přívodných cév (7). Kost vzniká naproti tomu v místě relativního mechanického klidu pod vlivem chemických, metabolických podnětů, které vycházejí z degenerované chrupavky nebo z vaziva. V podmínkách relativního mechanického klidu tak může začít osifikace, nejprve většinou desmogenní v povrchových vrstvách svalku. Zcela klíčovou podmínkou pro osifikaci svalku je, aby deformace svalku nepřesáhla hranici tolerance kostní tkáně (5,8). Vliv na vyzrání svalku má také jeho dynamická komprese, které je využíváno při zajištěném nitrodřeňovém hřebování. Uplatňují se tak tlakové a tahové mikrodeformace aktivující osteoblasty na povrchu kostních trámců (9,10,11).

Způsobem přímého hojení se hojí kost po kompresivní osteosyntéze dlahou, při dokonalé adaptaci a stabilizaci fragmentů, při dosažení absolutní stability. Na lomných plochách se aktivují cévní pupeny. Některé rekanalizují a částečně resorbují původní osteony, jiné v podobě razicích pupenů prorůstají z jednoho fragmentu do druhého plynule přes linii lomu (4). Vzniklý kanál se uzavře novým lamelárním systémem, osteonem. Tento proces je vlastně shodný s trvale probíhající haverskou remodelací (4). Vlastní výhodou je, že osteony přemosťují linii lomu již v definitivním směru, nevýhodou je pomalý růst cévních pupenů. Tímto procesem primárního hojení se kost hojí několik měsíců (12,13).

Specifickým pojmem je tzv. hojení štěrbinové, primárně angiogenní osteogeneze. Dochází k němu při stabilní dlahové osteosyntéze v místech neúplného kontaktu mezi fragmenty. Nejprve dojde k vyplnění štěrbiny nediferencovaným mezenchymem, který ale osifikuje přímo. Kost má tak nejprve vláknitý charakter, pak lamelární (3).

1.2. Úvod vlastní studie

U celé řady traumat a jejich následků se neobejdeme bez kvalitní náhrady defektu, deficitu kostní tkáně. Podpora kostního hojení štěpem u avitálních pakloubů je společně se stabilní osteosyntézou a dekortikací metodou volby. Máme v podstatě následující tři možnosti, jakým způsobem získat náhradu kostní tkáně. První variantou je umělá kostní matrix. Na trhu je celá řada preparátů na bázi anorganických kalcium-fosfátových sloučenin. Další možností je alogenní kostní štěp získaný z kostní banky. Třetí alternativou je autologní kostní štěp získaný přímo z tkání pacienta. Již v roce 1952 ve své monografii Alfred N. Witt publikoval práci „Léčba pakloubů“, ve které zmiňuje a doporučuje transplantaci autologního kostního štěpu jako operaci, která slibuje v léčbě pakloubů největší úspěch (14). Od roku 1966 se technika dekortikace doplněná o aplikaci autologních spongiózních kostních štěpů stala nedílnou součástí léčby pakloubů zásluhou prof. Čecha (15). Autologní štěp je všeobecně považován za nejkvalitnější náhradu kostní tkáně. Nejčastěji je odebírán z lopaty kosti kyčelní. Tato metoda má řadu nevýhod, jako prodloužení doby operace, riziko perioperačních a pooperačních komplikací, pooperačních bolestí pacienta. Bolesti v místě odběru jsou v pooperačním období často výraznější než v oblasti samotné operační rány. Možnými perioperačními komplikacemi jsou hlavně rizika poranění nervus cutaneus femoris lateralis a rozlomení lopaty kosti kyčelní v oblasti spina iliaca nesprávným operačním postupem. Proto jsme na našem pracovišti (Oddělení úrazové chirurgie Nemocnice České Budějovice a.s.) začali od března 2012 v indikovaných případech odebírat štěpy novou miniinvazivní operační technikou, buď přímo v operačním poli nebo jeho blízkosti. K odběru štěpů jsme použili speciální frézy požadovaného průměru k zisku válce kostní tkáně, který je následně upravován. Techniku jsme začali používat ve snaze minimalizovat pooperační bolesti pacienta v oblasti odběrového místa a urychlit, zefektivnit, vlastní operační výkon.

2 Experimentální část studie

2.1. Úvod

Spongiózní kostní tkáň slouží jako důležitá substance pro výplň kostního defektu u komplikovaných zlomenin a při operaci pakloubů. Kostní štěpy se standardně odebírají z hřebenu lopaty kosti kyčelní, kdy odklápíme kortikális a spongiózu odebíráme speciálním dlátkem. U získaných kostních štěpů je podstatný jejich potenciál k hojení, aby byla vlastní spongioplastika efektivní.

Miniinvazivní operační technikou pomocí frézy jsme odebrali válce kostní tkáně z různých anatomických lokalit – proximálního humeru, proximální ulny, proximálního a distálního femuru, proximální tibie. Otázkou bylo, zda je takto získaná tkáň stejně kvalitní jako v případě standardního odběru z lopaty kosti kyčelní. Rozhodli jsme se proto zkoumat zastoupení červené kostní dřeně obsahující kmenové buňky v takto odebraných válcích kostní tkáně (1). Tímto faktorem se zabýval také Schottel, zkoumal aspirát kostní dřeně při hojení pakloubů (16). Jednoznačně vymezil důležitost aktivity červené kostní dřeně. Ta obsahuje mezenchymové kmenové buňky diferencující se v osteoblasty, osteocyty, adipocyty a chondrocyty. Ostatní parametry, například kostní trámce či vlastní architektonika tkání nebyly pro naší studii podstatné. Nehodnotili jsme pevnost kosti, ale schopnost remodelace.

2.2. Cíl a hypotéza experimentální části studie

Cílem našeho experimentu bylo srovnání zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně odebraných kostních štěpů z kadaverózních preparátů ze zvolených oblastí s referenčním odběrem z hřebenu lopaty kosti kyčelní.

Byly stanoveny následující hypotézy:

1. Zastoupení červené kostní dřeně je u miniinvazivně odebraných kostních štěpů ze

zvolených oblastí stejné či obdobné jako v případě standardního odběru z lopaty kosti kyčelní.

2. Podíl zastoupení červené kostní dřeně je mezi jednotlivými odběrovými oblastmi srovnatelný.

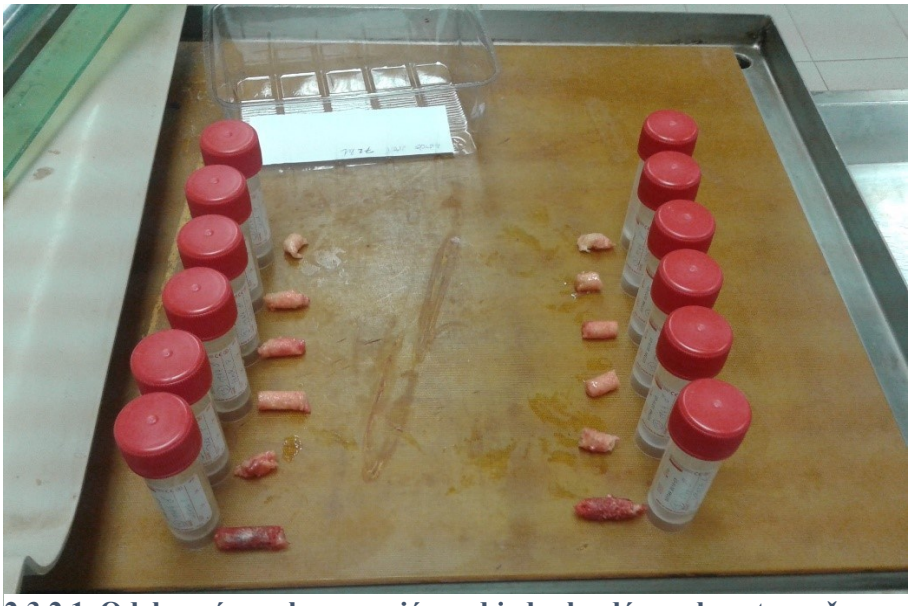
2.3. Materiál a metodika

2.3.1. Soubor

Z patologického oddělení nemocnice bylo pro experiment získáno 10 kadaverózních preparátů – 7 mužského a 3 ženského pohlaví. Při jejich výběru byl věk omezen na 18 – 50 let, dalšími vylučujícími kritérii byly těžké úrazy a uhoření jako mechanismy mající vliv na stav opěrné soustavy, kostní choroby kromě osteoporózy a maligní onemocnění.

2.3.2. Vlastní odběr vzorků ze zemřelého dárce

Odběr byl proveden do šesti hodin od úmrtí pacienta. Od každého dárce jsme odebrali celkem dvanáct vzorků spongiózní kostní tkáně z předem definovaných pěti odběrových míst oboustranně – proximálního humeru (PH), proximální ulny (PU), velkého trochanteru proximálního femuru (VT), distálního femuru (DF), proximální tibie (PT)



2.3.2.1. Odebrané vzorky spongiózy od jednoho dárce oboustranně. Zdroj autorův archiv

a oboustranně z lopaty kosti kyčelní (LKK), kterou jsme definovali jako referenční oblast. V případě proximálního humeru jsme vrtali 2 cm pod vrcholem velkého hrbolu horizontálně, u proximální ulny z apexu okovce v ose kosti. U dolní končetiny jsme cílili z oblasti apexu velkého trochanteru proximálního femuru šikmo kaudálně, odběrová oblast z distálního femuru se nacházela laterálně 5 cm nad kloubem, z proximální tibie pak 5 cm pod kolenním kloubem. K odběru štěpů jsme použili frézu o průměru 10 mm, kterou jsme zaváděli po vodícím drátu s olivkou. Takto získané válečky spongiózní kosti jsme pomocí skalpelu zkrátili seříznutím přebývající spongiózy na jednotnou délku 30 mm (Obr. 2.3.2.1.).

2.3.3. Laboratorní zpracování vzorků

Materiál jsme fixovali v neutrálním 5% formolu po dobu 24 hodin a odvápnili jsme jej směsí kyseliny mravenčí, chlorovodíkové a destilované vody. Materiál jsme uzavřeli do očíslovaných krabiček, které jsme prali v tekoucí vodě po dobu dvou hodin, zpracovali autotechnikou (neutrální 5% formol, odvodnění 96% ethanolem, 2 x lázně s xylenem a 4 x lázně s parafínem) a zalili parafínem do tkáňových bločků. Vlastní bločky jsme nakrájeli na mikrotomu. Tyto tkáňové řezy jsme pak napnuli na hladině teplé destilované vody s želatinou a nalepili na podložní sklíčko odmaštěné alkoholem. Materiál jsme sušili při 56 °C po dobu 30 minut. Pak jsme řezy odparafínovali (xylen 20 minut, zavodnění ethanolem, promytí ve vodě). Na závěr jsme vzorky nabarvili hematoxylinem-eosinem, přiložili je na podložní sklíčko a sušili po dobu 30 minut.

2.3.4. Zhodnocení připravených vzorků

Jednotlivé vzorky jsme hodnotili mikroskopicky (Obr. 2.3.4.1. – 6.). U každého vzorku jsme procentuálně stanovili zastoupení kostní tkáně a spongiózy. Jako parametr potenciálu hojivosti jsme stanovili zastoupení červené kostní dřeně a vyjádřili jsme její poměr k dřeni

žluté (Příloha 6.1.). Jiné hodnocení a zpracování vzorků nebylo technicky možné. Jednalo se o větší části tkání, což přináší potřebu delšího procesu odvápňování. Tím dochází k znehodnocování materiálu k případnému imunohistochemickému vyšetření (2).

Porovnali jsme jednotlivé oblasti odběru mezi sebou a s referenčním odběrovým místem z lopaty kosti kyčelní. Pravá a levá strana jednotlivých kadáverů byly pro toto srovnání průměrovány. Pro kontinuální proměnné jsme stanovili průměr. Pro testování hypotézy jsme použili metodu Analýzy rozptylu ANOVA (17).

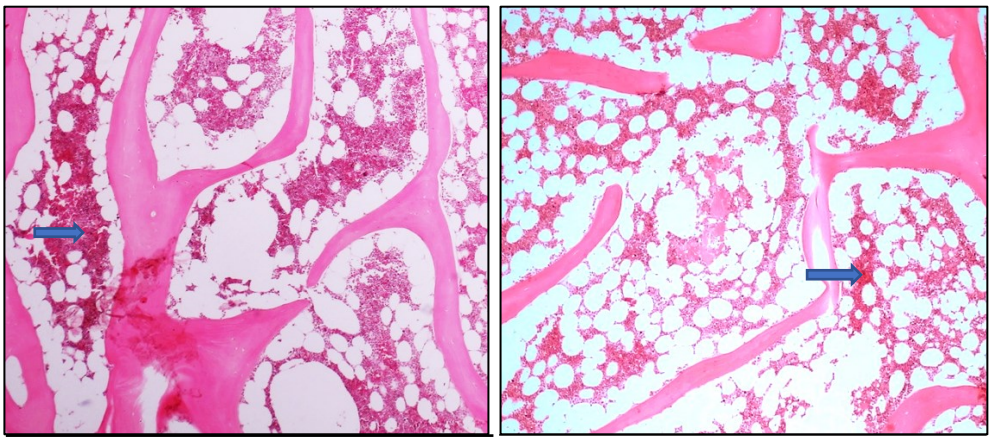
2.4. Výsledky

Největší zastoupení červené kostní dřeně měly spongiózní štěpy odebrané z lopaty kosti kyčelní 34,95 %, dále velkého trochanteru proximálního femuru 31,70 %, distálního femuru 26,90 % a proximálního humeru 21,90 %. Její zastoupení bylo zanedbatelné v případě proximální tibie (2,55 %) a proximální ulny (0,15 %).

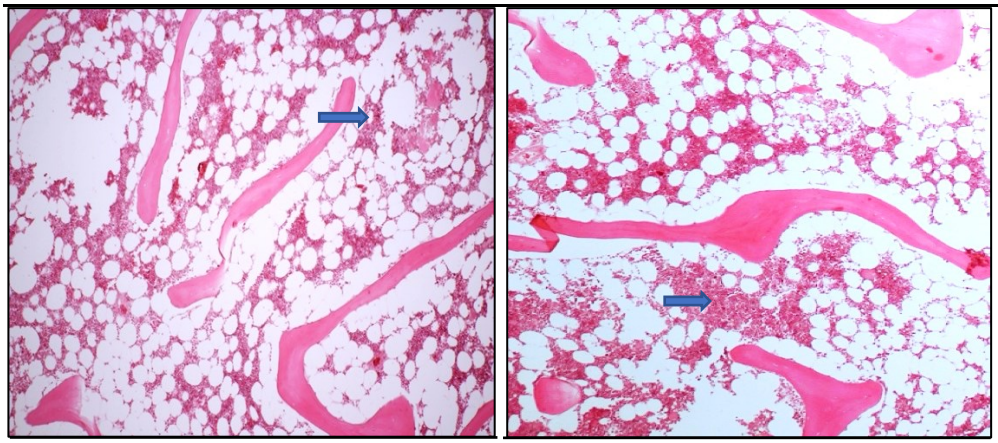
Nejprve jsme statistickou metodou ANOVA porovnali hodnoty referenčních vzorků lopaty kosti kyčelní a velkého trochanteru (Tab. 2.4.1.). F hodnota testovaného kritéria vyšla 0,28 a P hodnota 0,60. Výsledek nebyl statisticky signifikantní ($p < 0,05$). Dále jsme srovnali odběry z lopaty kosti kyčelní a z distálního femuru. F hodnota testovaného kritéria byla 0,51 a P hodnota 0,48. Výsledek nebyl opět signifikantní ($p < 0,05$). Statistickou metodou rozptylu jsme porovnali odběr z lopaty kosti kyčelní a proximálního humeru. F hodnota testovaného kritéria nám vyšla 0,93 a P hodnota 0,34. Výsledek nebyl opět statisticky významný při hladině významnosti $p < 0,05$. Na závěr jsme takto statisticky srovnali referenční vzorky s materiálem z proximální tibie a proximální ulny. Zde již byl patrný statisticky významný rozdíl mezi referenčním odběrem z lopaty kosti kyčelní a proximální tibií (F 14,61, P 0,0008) a proximální ulnou (F 19,05, P 0,0002), hladina významnosti $p < 0,05$ (Tab. 2.4.1.).

2.4.1. Tabulka: Statistické porovnání podílu červené kostní dřeně referenčních vzorků LKK a ostatních odběrových míst. LKK – lopata kosti kyčelní, VT – velký trochanter proximálního femuru, DF – distální femur, PH – proximální humerus, PT – proximální tibie, PU – proximální ulna

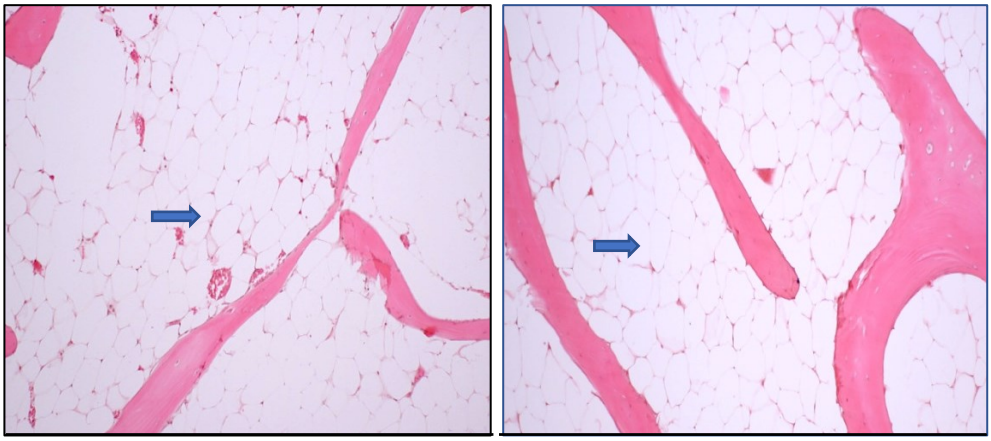
Dárce	LKK (Σ %)	VT (Σ %)	DF (Σ %)	PH (Σ %)	PT (Σ %)	PU (Σ %)
1	60	54	58	42	0	0
2	26	32	18	25	0	0
3	71	65	68	58	0	0
4	25	21	15	6	0	0
5	80	95	72	78	0	0
6	85	68	62	38	8	0
7	97	80	69	40	0	1
8	58	47	61	40	0	0
9	107	85	39	55	43	0
10	90	87	76	56	0	2
Průměr	34,95 %	31,70 %	26,90 %	21,90 %	2,55 %	0,15 %
P	1,00	0,60	0,48	0,34	0,0008	0,0002



2.3.4.1. Mikroskopický nález vzorku lopaty kosti kyčelní vlevo, 2.3.4.2. Mikroskopický nález vzorku velkého trochanteru proximálního femuru vpravo, šipkou označena červená kostní dřeň, zvětšení 100 x



2.3.4.3. Mikroskopický nález vzorku distálního femuru vlevo, 2.3.4.4. Mikroskopický nález vzorku proximálního humeru vpravo, šipkou označena červená kostní dřeň, zvětšení 100 x



2.3.4.5. Mikroskopický nález vzorku proximální tibie vlevo, 2.3.4.6. Mikroskopický nález vzorku proximální ulny vpravo, šipkou označena červená kostní dřeň, zde s patrnou převahou adipocytů, zvětšení 100 x

2.5. Diskuse

V literatuře jsme neobjevili žádnou práci, která by se daným tématem v tomto rozsahu zabývala. Z uvedených výsledků plyne, že lze v praxi použít v rámci plánované spongioplastiky štěpy z lopaty kosti kyčelní, stejně tak ale i kvalitou rovnocenné štěpy z oblasti velkého trochanteru, distálního femuru nebo proximálního humeru. Je patrný významný rozdíl mezi referenční lopatou kosti kyčelní a proximální tibií či proximální ulnou. K diskusi se nabízí, čím může být způsoben výrazný rozdíl v zastoupení červené kostí dřeně

oblasti proximální tibie a ulny. Z klinické praxe totiž víme, že hlavně štěpy z oblasti proximální tibie vykazují příznivé parametry hojení. V případě proximální tibie se domníváme, že nebylo zcela správně zvoleno odběrové místo, neboť předpokládáme větší množství červené spongiózy kraniálněji, směrem k plateau tibie. To mohlo mít vliv na výsledky. Dalším důležitým faktorem může ale také být výrazný pokles tvorby kostních buněk této oblasti po 18 roku života, po dokončení růstu. V případě proximální ulny mohly být výsledky ovlivněny technickým faktorem. Tedy poměrně silnou kortikális v této oblasti a vlastním technicky obtížným odběrem (poloha lokte, cílení).

Patterson zkoumal ve své práci rozdíl kvality, zastoupení osteogenních progenitorů, štěpů z lopaty kosti kyčelní získaných aspirací a klasickým odběrem (18). Měl soubor celkem 33 pacientů. Používal k hodnocení aspirát a trikortikální štěp. U trikortikálního štěpu oddělil skupinu buněk trabekulárního prostoru disociovaných enzymaticky a buňky vlastní kostní dřeně disociovaných mechanicky. Aspirátů odebral celkem osm, každý o objemu 8 ml. Z výsledků uvedl jako nejvyšší podíl osteogenních progenitorů buněk z trabekulárního prostoru. Jejich aktivita byla v rámci srovnání aspirátu a standardního spongiózního štěpu 3 x nižší. Aspirát kostní dřeně jsme v naší studii nehodnotili, neboť nemá pro naši operační praxi význam.

Guarnieri zkoumal v histologické a histomorfometrické analýze kvalitu anorganické minerální bovinní matrix. Sledoval její schopnost degradace (19). Použil materiál získaný od pacienta 24 měsíců po augmentaci kostní tkáně. Histologickou analýzou zhodnotil s pomocí mikroskopu celkem tři vzorky. Novotvořená kost vykazovala různě zrající četné osteocyty, přičemž jich byl větší podíl blíže k charakteru štěpu. Histomorfometrie ukázala průměrné hodnoty novotvořené kosti 40,84 %, 33,58 % rezidua štěpu, 23,84 % kostní dřeně a 1,69 % osteoidní tkáně. Klasifikoval tyto štěpy jako dlouhodobě degradovatelné materiály. Naše studie neměla možnost v určených laboratorních podmínkách histomorfometrickou analýzu

využít (metoda umožňuje kvantitativní hodnocení bioptických vzorků kosti, např. pro objem osteoidu, šířky trabekul).

Shousaku zkoumal aktivitu osteoprogenitorů, tzv. HipOPs (20). Úspěšně ve své studii purifikoval nové mesenchymální kmenové buňky, které mají vysokou schopnost produkce mineralizované kostní tkáně in vitro a in vivo. Tyto buňky jsou multipotencionální s vysokou schopností tvořit kolonie osteoblastů. Ve studii byly umístěny na kolagenní houby a transplantovány imunodeficientní myši. Byla pozorována regenerace kostní tkáně, produkce osteoblastů, osteocytů, osteoklastů a buněk kostní dřeně.

Mesenchymálními kmenovými buňkami se zabýval i Hayashi (21). Zkoumal jejich osteogenní diferenciační schopnosti. Hodnotil kmenové buňky kostní dřeně a buňky diferencované z tukové tkáně. Mezenchymální buňky jsou plasticky adherentního charakteru za standardních kultivačních podmínek s fibroblastickým vřetenovitým vzhledem. Oba typy buněk jsou schopny vytvářet kolonie v kultivačních podmínkách. Bylo zjištěno, že mohou být buňky diferencované z tukové tkáně udržovány v podmínkách in vitro po delší dobu. Osteogenní potenciál štěpů kostní dřeně se s pokračujícím věkem snižuje (21). Tento potenciál lze ovlivnit pomocí různých aditiv a růstových faktorů. To je podstatou současných světových výzkumů. Zkoumá se zejména úloha 1,25-dihydroxyvitaminu D3, BMP-2, dexamethasonu a kyseliny askorbové. Zdá se být též důležitá úloha mechanické a elektrické stimulace k ovlivnění regenerace kosti.

Nejvýraznější osteogenní potenciál měly kmenové buňky kostní dřeně a periostu. Možnost zkoumání mesenchymálních kmenových buněk přesáhla rozsah a možnosti našeho experimentálního výzkumu.

2.6. Závěr experimentální části

Na základě experimentální studie porovnávající zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně odebraných štěpů z oblastí velkého trochanteru, distálního femuru a proximálního humeru jsou tyto vzorky srovnatelné se štěpy z lopaty kosti kyčelní.

Štěpy odebrané z proximální tibie a proximální ulny vykazují mizivé zastoupení červené kostní dřeně a pro klinickou praxi je jejich použití sporné.

3 Klinická část studie

3.1. Historický úvod

Spongioplastika a přenos kostní tkáně zajímá lidstvo již tisíce let. První autologní transplantace byla již popsána ve Starém zákoně, kdy jedno Adamovo žebro posloužilo k vytvoření Evy. I řecká mytologie se této problematiky dotkla v legendě o Tantalovi, zpupném králi, který zabil svého syna Pelopa, a pozval bohy na hostinu k sobě do paláce. Bohové tuto lest rozpoznali a uvrhli nelidského Tantala do nejhlubšího podsvětí, do Tartaru. Pozůstatky Tantalova syna Pelopa vhodili bohové do kotle a sudička Klóthó vyňala z kotle Pelopa ještě krásnějšího než býval a vzkřísila ho k životu. Chyběl z něho jen kousek lopatky, jež snědla při hostině roztržitá Démétér. Snědený kousek nahradili bohové kouskem slonové kosti. Všichni z toho rodu mívali pak bílou skvrnu na lopatce. Historickému vývoji spongioplastiky a využití slonoviny se se zájmem věnoval italský ortoped a traumatolog Vittorio Putti (22). Mytologie pojala slonovinu jako důležitý rekonstrukční materiál. Sám Putti prohlásil, že si mezi historicky užívanými osteoplastickými materiály zaslouží slonovina zmínku a využití jejích malých tyček a odštěpků mohly být organismem dobře snášeny. Mohly být v širokém měřítku využity při léčbě pakloubů. Vrátíme-li se do historie léčení zlomenin, tak již Aztékové poznali, že ke zhojení kosti je potřebné správné osové postavení končetiny a imobilizace. Pokud tato myšlenka v praxi nefungovala, pak vkládali do dřeňového kanálu upravenou dřevěnou tyčinku (23). Pokrokovými v léčbě zlomenin byli Egypťané (24,27). To ukazují výzkumy mumie kněze Usermontu, která je uchována v San José. Ty se týkají speciální protézy v oblasti levého kolene. Laboratorní rozbory ukázaly, že se jedná o protézu z čistého železa, která byla stmelena pryskyřicí. Egypťané také položili základy protetiky, kdy existuje popis ženy, která po amputaci končetiny obdržela dřevěnou náhradu. Domníváme se podle Smithova papyru, že Egypťané měli o ortopedii četné znalosti. Starověcí Řekové Herophilus a Erasistratus z Alexandrijské školy (2. a 3. století před naším

letopočtem) dali základy svého poznání k tomu, aby mohli Římští chirurgové provádět složité operace jako amputace končetiny a resekce nádorů pohybové aparátu (23). Pokrok v průběhu staletí a touha nahradit anatomické části, které byly ztraceny poraněním, nemocemi nebo defekty, stále vzbuzovaly zvědavost lidstva a inspirovaly umělce.

Ve středověku vyobrazovala poranění a jejich léčbu řada malířů. Asi nejslavnější je zázrak svatého Kosmy a Damiána malíře Fra Angelica „The black leg miracle“ (Obr. 3.1.1.). Kostelní sluha Justinian měl pravou nohu napadenou hnilobou a ve velkých bolestech čekal na smrt. Kosma a Damián se případu ujali a rozhodli se končetinu amputovat. Mezitím ale začali uvažovat o transplantaci. Dozvěděli se, že toho dne zemřel nějaký Habešan a nechali si mrtvolu černocha přinést. Nemocného uspali makovým odvarem a postiženou končetinu odřízli. Habešanovi amputovali „zdravou“ končetinu a transplantovali ji Justinianovi. Když se nemocný Justinian probudil ze spánku s překvapením zjistil, že má jednu dolní končetinu bílou a druhou černou. Interpretací tohoto vyobrazení je touha lidstva vykonávat komplexní ortopedické operace, což položí základy pro koncept dárce a hostitele v rámci moderních transplantačních technik. Moderní doba spongioplastiky začíná prací lékaře Joba van Meekerena (Obr. 3.1.2.), který v roce 1668 inkorporoval první alogenní štěp lebky psa do skeletu lebky poraněného vojáka. Operace byla úspěšná, štěp se zhojil. Pacient se navíc po rekonvalescenci dožadoval vyjmutí cizorodého materiálu, aby mohl znovu navštěvovat

3.1.1. Fra Angelico: The black leg miracle (25)

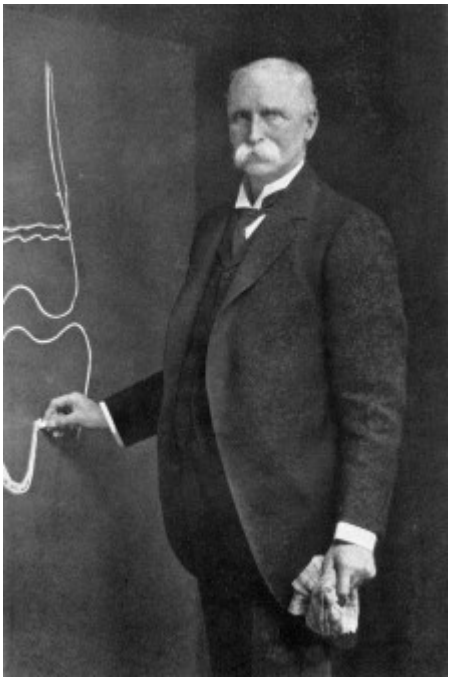
církevní obřady (26).

3.1.2. Heel- en geneeskonstige aanmerkingen. Reprodukováno Alphen a.d. Rijn, Stafleu, 1979.

V sedmnáctém a osmnáctém století zaměřili ortopedi svoji pozornost na vlastní strukturu kosti. Právě složením kosti se v roce 1674 zabýval ve svém pojednání „Filozofické transakce“ Antoni van Leeuwenhoek (26). Stanovil termín Haversových kanálků, kostní kalus, resorpce kosti. V roce 1743 publikoval Duhamel výsledky svých experimentů na zvířatech a vymezil klíčovou roli periostu v rámci osteogeneze. Vypracoval techniku tzv. ‚Subperiostální resekce’, která byla používána k léčbě pakloubů (27). Jako první lékař, který provedl první autologní spongioplastiku, je označován německý chirurg Philips von Walter, který po trepanaci lebky nahradil chybějící fragment kostním štěpem. V roce 1861 publikoval Leopold Ollier (Obr. 3.1.3.) studii o regeneraci kostí „Traité experimental et clinique de la régénération des os“. Publikoval dokument, který popisuje poprvé pojem kostního štěpu, ‚Greffe osseusse’. Experimentální práce provedl na

3.1.3. Luis Leopold Ollier (28)

králících a psech (26). Tvrdil, že implantované kostní fragmenty jsou životaschopné a mohou růst ve vhodném okolním prostředí. Vyzdvihuje důležitost periostu. Otevřel tak cestu pro komplexní experimentální a klinická sledování v problematice spongioplastiky. Zároveň ve stejné době však Barth dosáhl odlišných výsledků a uvedl, že tkáně autologního kostního štěpu odumírají a jsou nahrazeny regenerátem okolní kostní tkáně. Curtis poznamenal, že Haverské kanálky umožňují jednoduchou cestu pro růst granulační tkáně. Zcela zásadní je podle Curtise zastoupení červené kostní dřeně. Phemisterem je tento proces později nazýván ‚Creeping substitution' (volně lze přeložit jako ‚Postupná rekonstrukce') (26). Za otce alogenní spongioplastiky je považován skotský chirurg William Macewen (Obr. 3.1.4.), který vložil štěp z tibie dítěte stiženého křivicí do infikovaného pakloubu humeru jiného dítěte (29). V dalších letech se mu podařilo také včlenit štěp z hrudní kosti do defektu mandibuly. V této problematice pozorujeme jako stěžejní dílo Vittoria Puttiho z roku 1912 (Obr. 3.1.5.). Citoval práce předchozích autorů a jejich klinické a experimentální výsledky. Zaměřil se na práce Olliera, Bartha, Axhausena, Macewana. Popsal své osobní zkušenosti a definoval základní klinické indikace – fraktura, pseudoartróza, artrodéza, korekce deformit končetiny a náhrada kloubní s ohledem na způsoby použití různých typů kostních štěpů. Postuloval deset vlastních základních pravidel (24):

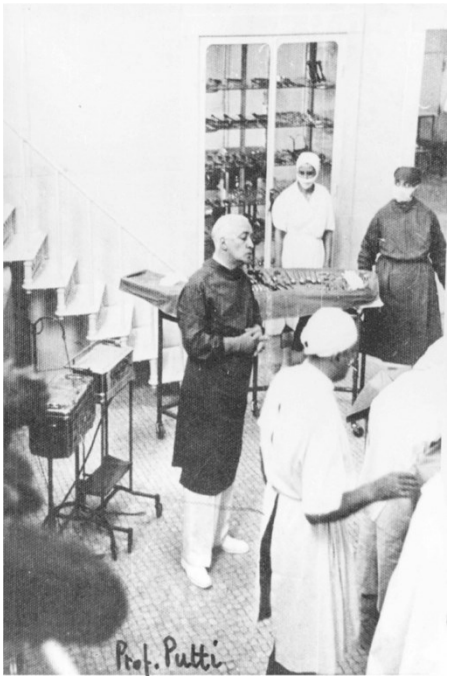


3.1.4. Sir William Macewen. Zdroj Archives University of Glasgow

1. Být sebekritický.
2. Důležitá je jednotnost procesů integrace kostního štěpu.
3. Výrazně nižší schopnost integrace heteroblastických kostních štěpů – štěp z jiného

zvířecího druhu působí stejně jako mrtvá kost nebo cizí materiál (30).

4. Nedostatečný osteogenní potenciál štěpu, tkáňová složka odumírá a musí být nahrazena.
5. Vyzdvihuje osteogenní potenciál periostu, přijal Ollierovu teorii.
6. Výrazné snížení biologických schopností kostní tkáně, která byla konzervována, vařena nebo macerována.
7. Uvědomil si význam kvality tkání, do kterých je kostní štěp implantován – vlastní kostní štěp by měl být chráněn dostatečnými vrstvami měkkých tkání (24).
8. Zdůraznil význam mechanických vlastností štěpu a jeho fixace.
9. Význam asepse – pokud nejsou pravidla asepse zaručena, pokud je hostitelské prostředí nebo štěp infikován, a pokud se nám nepodaří ochránit operační pole před vnější kontaminací, je štěp povinen selhat (24).
10. Význam fyzioterapie – imobilizace neznamená nehybnost (24).



3.1.5. Prof. Vittorio Putti (27)

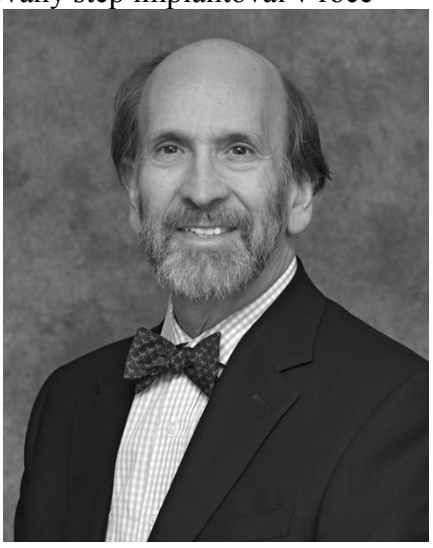
Historie spongioplastiky pokračuje autoritativními publikacemi F. H. Albee o chirurgii kostních implantátů. V roce 1915 zavedl pravidla pro používání kostních štěpů. Ve své další publikaci z roku 1932 definoval principy a použití spongioplastiky, publikoval dobré výsledky v léčbě 810 pakloubů končetin. Všechny jím využívané štěpy byly autologní

3.1.6. Albeeho operační set. Zdroj Archives Museum of Health Care, Kingston

(Obr. 3.1.6).

Urist a jeho kolegové zavedli termín osteoindukce. Domnívali se, že mediátory z kostního štěpu jsou schopni rekrutovat buňky pro její novotvorbu (26). Inclan v roce 1942 poprvé veřejně uvažoval o problémech spojených s imunitní odpovědí příjemce. Zavedl do praxe možnosti konzervace materiálu, které popsal jako rutinu. Spočívaly v jeho umístění do sterilní nádobky a následně uchování v chladničce při teplotě 2 – 5 °C (31). Moderní kostní banky byly zavedeny až po evoluci chladicích technik. V roce 1947 poprvé autoři Bush a Wilson konzervovali štěpy při teplotě – 20 °C (32,33). Od roku 1951 založili Mouly, Sicard a Herbert první kostní banky ve Francii. Zároveň od roku 1950 založil George Hyatt námořní tkáňovou banku pod záštitou amerického námořnictva. Byl zaznamenán pokrok nejen ve zlepšování úspěšnosti implantátů, ale také bezpečnosti příjemce ve vztahu k infekčnímu přenosu bakterií a virů (34). Od 70. let minulého století se pozornost vědy v této problematice obrátila k popisované imunitní odpovědi organismu na přijímaný štěp. Kanadská vědecká skupina vedená Langerem prokázala, že riziko odloučení štěpu je nižší v případě jeho zmrazení. To ukazuje, že lze blokační protilátku ovlivnit redukcí teploty. Byla tak odstartována nová éra spongioplastiky. První vaskularizovaný štěp implantoval v roce 1975 Taylor (26). Jednalo se o fibulární štěp kontralaterální končetiny, který byl vložen do kostního tibiálního defektu.

Nedávné studie Friedlaendera ukázaly (35) (Obr. 3.1.7.), že klinický výsledek byl signifikantně lepší u pacientů, kteří dosáhli shody s antigeny HLA třídy II. Dárci začali být testováni na možná bakteriální nebo virová onemocnění.



3.1.7. Gary E. Friedlaender. Zdroj Archives of Yale New Haven Hospital

Byla stanovena optimální pravidla pro zmrazení a rozmrazení preparátů.

V moderní době dnešní medicíny je v případě plánované spongioplastiky potřebné zvážení několika faktorů. To je zejména zdroj kostního štěpu (autograft versus allograft), správné načasování jeho implantace, strategie vyhnutí se možným komplikacím (osteomyelitida). Zásadní je i vývoj náhrad spongiózního štěpu, zejména syntetických kostních náhrad a osteoinduktivních proteinů. Důležitým poznatkem dalších výzkumů je fakt, že schopnost štěpů podporovat hojení závisí na jejich osteokonduktivních (‚lešení' pro růst nové kosti), osteogenních (přítomnost osteoblastů), osteoinduktivních (přítomnost růstových faktorů a cytokinů v kostním štěpu) a osteopromočních (potenciace osteoinduktivních parametrů) vlastnostech (36). Kostní štěp z lopaty kosti kyčelní (ICBG) je považován za zlatý standard (Obr. 3.1.8.). Je štěpem kortikospongiózním s osteokonduktivními a osteoinduktivními vlastnostmi (36). Takemoto prokázal, že má kostní štěp získaný z lopaty kosti kyčelní vyšší expresi BMP (bone morphogenetic protein), BMP receptorů a dalších faktorů důležitých pro hojení zlomenin (37).

3.1.8. Kostní štěpy odebrané standardním odběrem z lopaty kosti kyčelní. Zdroj autorův archiv

ICBG štěp je zatížen morbiditou odběrového místa a prodloužením času operačního

výkonu (38,39). I z toho důvodu se začali zkoumat náhrady kostních štěpů. Jedná se hlavně o allografty, demineralizované kostní matrix (DBM), osteokonduktivní materiály a osteoinduktivní proteiny. Allografty s sebou přináší riziko rejekce štěpu, přenosu chorob a pozdní resorpce. Vlastní reakce organismu na zhojení zlomeniny je širokým procesem. Ten také zahrnuje zánětlivou odpověď na chirurgický výkon, imunitní odpověď organismu proti allograftu a odpovídající buněčné proliferace, diferenciace a buněčné migrace do místa implantace štěpu. Revaskularizace transplantovaného štěpu a jeho inkorporace do hostitelského lůžka vede ke zhojení kostního defektu (40). Přenos allograftu je tedy procesem kostního transferu mezi dvěma geneticky odlišnými jedinci stejného biologického druhu.

Allograft získaný od žijícího dárce je v podstatě omezen na pacienty podstupující arthroplastiku kyčelního kloubu (41). V naprosté většině je však použit štěp kadaverózního dárce, který je zpracován do 24 hodin od úmrtí. Je materiálem vysoce osteokonduktivním, méně osteoinduktivním a je připravován jako čerstvý (fresh), čerstvě zmrazený (fresh frozen) (Obr. 3.1.9.) nebo lyofilizovaný materiál. Čerstvé štěpy mají optimální osteoinduktivní, osteokonduktivní a osteogenní vlastnosti. Nesou ale riziko časné imunitní odpovědi hostitele a riziko přenosu nemocí. Proto se používají jen zřídka (42).

3.1.9. Fresh frozen allograft z LKK (72)

Imunitní odpověď na allograft může být vyvolána mnoha různými faktory. Jedná se hlavně o proteiny matrix se silnou korelací s HLA systémem (Human Leucocyte Antigen). Je to vlastně systém antigenů, které se vyskytují v buňkách našeho organismu. HLA komplex je důležitý k rozpoznání buněk tělu vlastních od buněk cizorodých. Tyto cizorodé HLA komplexy jsou napadány imunitním systémem. HLA systém se dělí do několika tříd. 1.třída

se nachází na povrchu všech buněk v organismu. Jsou schopny odlišit vlastní buňky od buněk cizorodých. Umožňují ale také prezentaci nitrobuněčných antigenů na povrch buňky. 2. třída HLA systému umožňuje prezentaci původně zevních cizorodých antigenů, čímž opět umožní jejich rozpoznání imunitním systémem. Ty se nevyskytují na všech buňkách. Najdeme je na povrchu specializovaných antigen prezentujících buňkách, které prezentují fagocytózou pohlcené zevní antigeny imunitnímu systému. Nakonec antigeny HLA 3. třídy obsahují informace, které jsou zásadní pro činnost komplementu. To je důležitá nebuněčná složka imunitního systému.

Imunitní odpověď na alogenní kostní štěp může být ovlivněna fyzikálními vlastnostmi, jako je zmrazení nebo lyofilizace. Proces zmrazení totiž narušuje buněčné membrány, což má za následek buněčnou smrt (43). Tím se redukuje buněčný objem a brání se procesu rozpoznávání HLA systémem. Čerstvě zmrazené allografty mohou být uchovány až 1 rok při teplotě – 20 °C, aniž by došlo k jejich strukturální změně (42). Technika lyofilizace má tři fáze (44). Nejdříve se vlhký materiál zmrazí pod teplotu, při které nemůže existovat v kapalném skupenství. Obvykle se mrazí na teplotu mezi – 20 °C až – 50 °C. Tuto fázi je nutné provádět velmi opatrně, neboť může dojít při tuhnutí vody k mikroskopickému poškození materiálu. Pak následuje fáze primárního sušení. To se v mrazícím zařízení sníží tlak vzduchu na několik stovek Pa. Následně je dodáno tolik tepla (hlavně vedením a zářením), aby voda mohla začít sublimovat. Tím se odstraní z materiálu asi 95 % vody. Primární sušení trvá několik hodin až dnů. Sublimaci je potřeba neuspěchat, aby nedošlo k narušení sušeného materiálu. Vznikající vodní pára desublimuje na chladičích nebo je přiváděna na kondenzátor mimo prostor sublimační komory, kde se opět změní v led, který se po skončení cyklu odstraní. V případech, kdy je potřebné dosažení ještě suššího stavu materiálu, přistupujeme k druhé fázi sušení. Tou se odstraňují zbývající nezmrzlé molekuly vody, které se drží na povrchu pevných látek díky adsorpci. Po druhém sušení zůstává

v materiálu okolo 1 – 4 % vody. Tímto procesem upravené kostní štěpy mají neomezenou trvanlivost. Lyofilizované kostní štěpy mají slabší osteoinduktivní vlastnosti ve srovnání s čerstvě zmrazenými štěpy. Jsou ale také méně imunogenní (42). Mezi základní výhody lze zahrnout vlastnost, kdy jsou za snížené teploty a tlaku potlačeny chemické změny složek sušeného materiálu včetně oxidace. Jsou také výrazně sníženy ztráty těkavých složek ze sušeného materiálu. Základní výhodu pozorujeme v zachování sterility produktu. Vysoušený materiál je disperzní, nedochází ke koagulaci složek a je vyloučena aglomerace jednotlivých částí. Oproti tomu se však jedná o nejdražší způsob odvodňování, navíc je potřebné specializované zařízení. To jsou hlavní nevýhody technologického postupu lyofilizace.
V souhrnu tedy platí, že obě techniky zmrazení materiálu i lyofilizace snižují imunogenní vlastnosti štěpu a umožňují delší skladování a distribuci. Nežádoucím účinkem je ale eliminace buněčného potenciálu allograftu, čímž jsou ovlivněny osteoinduktivní i osteogenní vlastnosti (41).

Velkou nevýhodou allograftu je možnost přenosu virových onemocnění, včetně hepatitidy C, hepatitidy B a HIV. Riziko přenosu HIV je přibližně u jednoho vzorku z 1,6 milionu správně prověřených a zpracovaných allograftů. Od roku 1980 byly takto evidovány pouze dva případy přenosu (45). Rizikům přenosu onemocnění v souvislosti s použitím kostních štěpů od dárce lze zabránit důsledným screeningem a jejich ošetřením gamma zářením. Mezi správné zásady zpracování kostního štěpu patří pečlivé odstranění přebytečných měkkých tkání a sterilizace.

Současné studie zabývající se allografty potvrzují, že jsou zmrazené štěpy imunogenní (46). Výsledná zánětlivá reakce organismu má tak důležitý vliv na osud kostního štěpu a na výskyt komplikací – mechanické selhání štěpu, porucha jeho inkorporace, resorpce či dokonce rejekce štěpu. Tyto komplikace se obvykle vyskytují v prvních 3 letech po operaci. Protože jsou allografty implantovány bez ohledu na stav HLA systému, jsou dárci

senzibilizováni na cizí antigeny. To by se projevilo jako rizikový faktor v případě, kdy by pacientův stav vyžadoval orgánovou transplantaci (srdce, játra). Výrazně by se totiž zvýšilo riziko rejekce orgánu. Nicméně mají ale čerstvě zmrazené štěpy proti autograftům řadu již dříve zmíněných výhod. Je to hlavně jejich dostupnost a výrazně nižší, či žádná, morbidita v oblasti odběrového místa. Proces zmrazení štěpů nemění biomechanické vlastnosti materiálu tak intenzivně, jako je tomu v případě lyofilizace.

3.1.10. Marshall Urist. Zdroj Archives University of Chicago

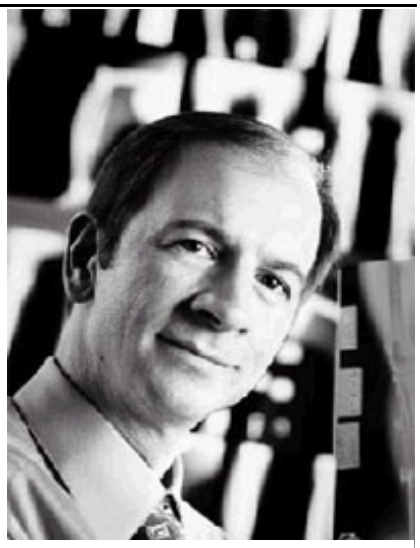
Alternativou pro alogenní štěpy je DBM, která je z allograftů připravována. Má zejména osteokonduktivní vlastnosti, méně osteoinduktivní (47). Byla poprvé popsána Marshallem Uristem v roce 1965 (Obr. 3.1.10.), který zjistil, že odstranění anorganické složky allograftu umožní potencovat aktivitu biologicky aktivních morfogenetických proteinů. Růstové faktory modulují diferenciaci progenitorových buněk na osteoprogenitorové, které jsou odpovědné za tvorbu kostí a chrupavek. DBM štěp je tak biologicky aktivnější než nedemineralizované kostní štěpy. Vzhledem k této demineralizaci jsou ale nepříznivě ovlivněny jeho mechanické vlastnosti. DBM je k dispozici jako lyofilizovaný prášek, a také ve formě drcených granulí nebo štěpků. Další výhodou těchto štěpů je eliminace imunitní odpovědi příjemce a snížení potenciálu pro možný přenos infekce.

Syntetické osteokonduktivní materiály jsou v dnešní době často užívány jako alternativa kostního štěpu. Obsahují hlavně hydroxyapatit, $CaPO_4$ a $CaSO_4$. Výhodou hydroxyapatitu je jeho porézní struktura. Typickou vlastností těchto materiálů je osteokondukce. Mechanická pevnost je však malá, nezabezpečuje primární stabilitu v oblasti jejich aplikace. Mineralizace a remodelace tohoto materiálu může vést ke vzniku zralé kosti. Nevýhodou syntetických materiálů je nulový osteogenní a osteoinduktivní potenciál (36). Kalcium-fosfátová substituta

se používají též jako tzv. ‚graft extenders', čímž doplníme jejich osteokonduktivní vlastnosti osteoinduktivními faktory. Tím umožňují buněčnou diferenciaci a proliferaci, stimulují vývoj mezenchymálních kmenových buněk na kostní buňky a indukují novotvorbu kostní tkáně. Osteoinduktivní vlastnosti jsou schopny vyvolat materiály na bázi biokeramiky (calcium ceramics). Zlepšení biologických vlastností vstřebatelných biokeramik se dosahuje pomocí kolagenních nebo tkáňových materiálů jako jsou autologní kostní dřeň, nebo specifické kostní morfogenetické proteiny a tkáňové faktory (48). Syntetické kostní náhrady jsou obvykle k dispozici ve formě bločků, granulí či pasty. Trikalciumfosfát lze aplikovat i miniinvazivně perkutánně. Eliminujeme tím možné nevýhody otevřeného operačního výkonu. Při tuhnutí materiálu v místě implantace nevzniká exotermická reakce, není tak termicky poškozena kostní tkáň (49).

V současné době je výzkum obrácen ke studiu nanokompozitních materiálů pro rekonstrukci kostní tkáně (50). Tento vývoj určují požadavky na náhradu tkáně, což je již zmíněná biokompatibilita, bioaktivita a biodegradabilita. Takový implantát by měl být navržen jako vláknový a nanokrystalický materiál s použitím kolagenu a hydroxyapatitu (50). Vláknová složka materiálu je ideálně vyrobena z kolagenu I. typu (výborná bioaktivita a biodegradabilita). Zároveň hydroxyapatit podporuje adhezi, osídlování a rozmnožování osteoblastů. Kromě kolagenu mohou ale vytvářet vláknitou složku umělých kostí i některé syntetické polymery. To jsou materiály na bázi polylaktidů nebo polyglykolidů (50). Ty se vyznačují různou dobou biodegradace. To nám umožňuje například navrhnout kostní náhrady pro pacienty různého věku (50). Pro vlastní výrobu se jeví nejperspektivnější metoda elektrostatického zvlákňování, tzv. ‚electrospinningu'. Ta se již nějakou dobu používá pro přípravu nanovláken z organických i anorganických prekurzorů. Tato metoda s úspěchem používá stejnosměrné napětí mezi tryskou, do které je přiveden roztok polymeru, a sběrnou elektrodou, přičemž rozpouštědlo se z roztoku odpaří ještě před dopadem vláken na sběrnou

elektrodu. Takto připravená nanovlákna a jejich vlastnosti (rozměry, orientace, porozita) lze ovlivnit parametry jak procesem zvlákňování, tak vlastními parametry prekurzoru (50).



3.1.11. J. M. Wozney. Zdroj Archives University of Cambridge

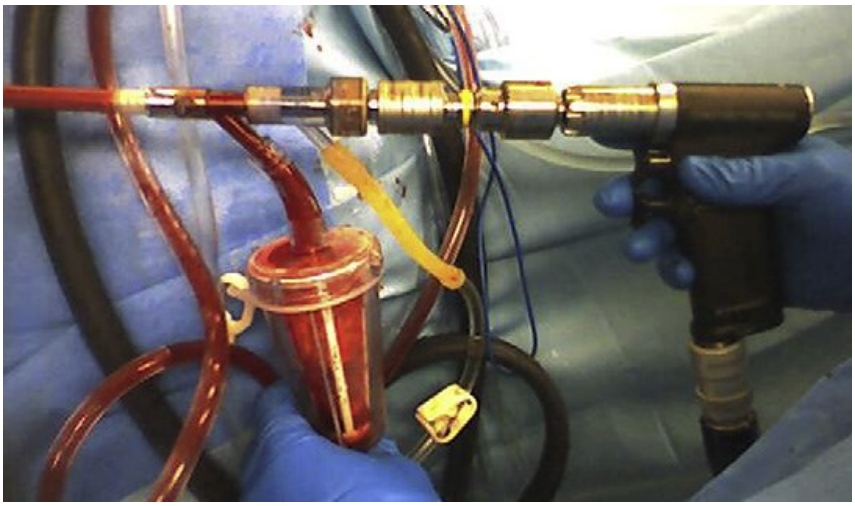
BMP sekvenoval poprvé John M. Wozney v roce 1988 (51) (Obr. 3.1.11). Od té doby bylo celkem popsáno 20 subtypů, 15 jich bylo identifikováno u lidí (52). BMP patří do rodiny transformujících růstových faktorů β, velké rodiny růstových a diferenciačních faktorů, které se podílejí na několika stádiích embryonální organogeneze a na různých stádiích intramembranózní a enchondrální osifikace během hojení zlomenin (53,54). BMP-7 stimuluje proliferaci (55) a diferenciaci (56) pluripotentních mezenchymálních buněk. Ovlivňuje také angiogenezi prostřednictvím vaskulárního endoteliálního růstového faktoru odvozeného od osteoblastů (57). BMP-7 zvyšuje inherentní osteoinduktivní kapacitu autologních kostních štěpů. Na základě toho zahraniční literární zdroje popisují tzv. ‚expanze kostního štěpu'. Jedná se o kombinaci standardního autologního spongiózního štěpu a rekombinantního lidského BMP-7. Při použití takto upravených štěpů nebyly nežádoucí účinky popsány (osteolýza, resorpce kosti, heterotopické osifikace, alergické reakce). Giannoudis demonstroval tento synergický efekt mezi ICBG a BMP-7 v malé kohortě pacientů se 100 % výsledkem zhojení zlomenin (58).

Pro reálné zhodnocení kvality štěpu je nutné uvažovat základní kritéria:

1. Je důležitá schopnost štěpu zhojit zlomeninu, tedy jeho osteokonduktivní, osteoinduktivní, osteogennní vlastnosti a stupeň jeho vaskularizace.
2. V některých případech mohou vyvstat technické obtíže při odběru kostního štěpu, tím i ovlivnění jeho kvality.

3. Morbidita a možné komplikace při hojení odběrového místa.
4. Nejdůležitějšími parametry jsou klinický výsledek, efektivita léčby a náklady na odběr štěpu.

Další důležitou jednotkou spongioplastiky jsou kostní štěpy získané metodou RIA (Reamer Irrigator Aspirator) (obr. 3.1.12.). Základní výhodou je možný zisk poměrně velkého objemu tkáně s potencionálně menší morbiditou odběrového místa. Problémem zůstávají vyšší náklady. Recentní literární zdroje se shodují, že kostní štěpy získané RIA metodou mají dostatečný osteokonduktivní, osteoinduktivní a osteogenní potenciál (59,60,61).



3.1.12. Reamer Irrigator Aspirator (RIA) v perioperačním použití. Převzato z (73)

Histologické studie inkorporace kostních štěpů vymezují dvě překrývající se fáze intenzivního zánětu s kostní resorpcí a nástupem novotvorby kosti (62). To je právě důvod, proč někdy spongioplastiku neindikujeme při akutním ošetření. Postupujeme principem léčby vytvoření indukované membrány, kdy větší defekt skeletu vyplňujeme cementem. Spongioplastika je pak indikována s odstupem 4 – 6 týdnů, kdy minimalizujeme riziko pozdní resorpce štěpu. V současné době však neexistuje evidence pro tento postup odložené

spongioplastiky a je nutné zvážení aktivnějšího přístupu k ošetření kostních defektů.

3.2. Cíl a hypotéza klinické části studie

Klinická část práce si dala za cíl zhodnotit výsledky miniinvazivních odběrů spongiózní kostní tkáně v traumatologické indikaci. Zaměřili jsme se na zhodnocení klinických výsledků této techniky, zejména množství odebrané spongiózy, efektivitu jejího použití a komplikace. Hodnotili jsme bolest v oblasti odběrového místa štěpů a srovnali ji s bolestí po standardním odběru z lopaty kosti kyčelní.

Byly stanoveny následující hypotézy:

1. Technikou miniinvazivního odběru kostních štěpů lze odebrat dostatečné množství tkáně pro léčení defektních zlomenin a pakloubů.
2. Miniinvazivní spongioplastika je efektivní s minimálním podílem nezhojených zlomenin, či pakloubů. Pro pacienty je to operační technika méně bolestivá ve srovnání se standardními odběry z lopaty kosti kyčelní.
3. Předpokládáme nezávislost bolesti v oblasti odběrového místa a věku pacientů.

3.3. Materiál a metoda

3.3.1. Soubor pacientů

Do souboru byli prospektivně zahrnuti všichni pacienti ve věku 18 – 90 let, u kterých byla na našem pracovišti odebrána spongióza technikou miniinvazivního odběru pomocí kostní frézy. Tento odběr byl plánován a indikován:

1. Předoperačně u pakloubů drobných kostí.
2. Perioperačně v situaci, kdy bylo nutné vyplnit defekt vzniklý
   a) po debridementu avitální tkáně

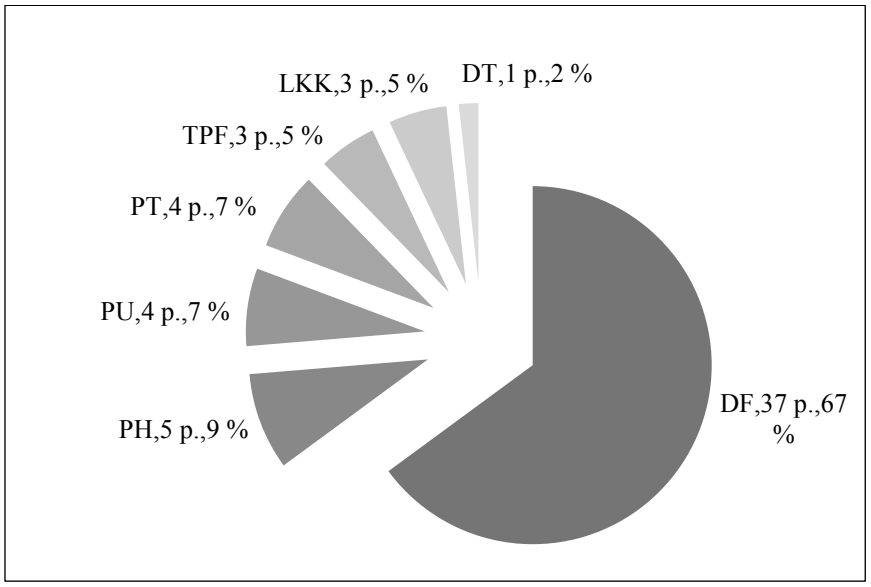
b) po repozici zlomeniny, vzniklý zejména elevací depresních zlomenin kloubních ploch

c) při residuálních defektech vzniklých mezi fragmenty při nedostatečné repozici kombinované s technikou absolutní stability.

Do studie nebyli zařazeni pacienti, u kterých byly takto odebrané štěpy kombinovány s jinou náhradou. Do souboru tak bylo od března 2012 do března 2016 zařazeno celkem 57 dospělých pacientů. Jednalo se o 40 mužů a 17 žen.

Kostní štěpy byly odebrány frézou nejčastěji ze suprakondylické oblasti distálního femuru, tj. v 37 případech (Graf 3.3.1.1.).

Ke zhodnocení klinického výsledku se ze souboru 57 pacientů dostavilo 37, tj. 65 %.



3.3.1.1. Graf: Odběrová místa kostních štěpů miniinvazivní technikou, celkem 57 pacientů

3.3.2. Metoda

Před operačním výkonem bylo zhotoveno RTG, v indikovaných případech CT vyšetření. Miniinvazivní odběr štěpů byl proveden frézami Aesculap®, které jsou standardně využívány pro otevření kanálu dřeňové dutiny při nitrodřeňovém hřebování, a které jsou k dispozici v

průměrech 8,5, 10 a 12 mm (Obr. 3.3.2.1.).

3.3.2.1. Frézy o průměru 8,5 a 10 mm s vodícími dráty a olivkou potřebnými pro miniinvazivní odběr spongiózy. Zdroj autorův archiv

Odběr byl proveden buď ze skeletu přímo v oblasti operační rány (proximální femur v případě zlomeniny acetabula, proximální ulna u zlomeniny distálního humeru) nebo z miniincizí nad odběrovým místem v zarouškované oblasti. Průměr frézy byl zvolen podle plánovaného potřebného množství štěpů a s ohledem na místo odběru. Odběrových oblastí bylo celkem šest – proximální humerus, proximální ulna, lopata kosti kyčelní, velký trochanter femuru, distální femur a proximální tibie. Nejprve byla pod skiaskopickou kontrolu zavedena vodící olivka, a poté byl frézou odebrán váleček spongiózy. Operatér se snažil odebrat maximální možné množství spongiózy, v některých případech byl proveden odběr ve více směrech ze stejného operačního vstupu. Celkové množství odebrané spongiózy bylo vypočteno z délky a průměru odebraného válce. Poté byla z válce seříznuta kortikális a štěp byl dále upraven Luerovými či Listonovými kleštěmi na požadovaný tvar nebo byl rozmělněn. Dutina vzniklá odběrem byla vyplněna spongostanem a zpočátku neuzavřena,

s narůstajícími zkušenostmi uzavírána kostním voskem k zamezení tvorby pooperačního hematomu.

3.3.3. Sběr dat

Ve studii jsme zaznamenávali věk a pohlaví pacientů, oblast odběrového místa, typ použité frézy a celkové množství odebraných štěpů. V případě použití štěpů u zlomenin byl zaznamenán typ zlomeniny, důvod použití štěpu a typ osteosyntézy, u pakloubů pak typ pakloubu a způsob jeho ošetření. Pacienty jsme klinicky kontrolovali pooperačně v časovém schématu 6 týdnů, 3 měsíce, 6 měsíců a 1 rok od výkonu. Zhojení zlomeniny či pakloubu jsme zhodnotili na RTG snímcích, při pochybách bylo indikováno CT vyšetření. Bolest odběrového místa štěpu jsme kvantifikovali 3. pooperační den pomocí Vizuální analogové škály (VAS) v rozmezí 0 – 10. Hodnota 0 je bez bolestí, 10 charakterizuje nejvýraznější bolesti.

3.3.4. Statistické zhodnocení

Pro všechny variabilní proměnné byl počítán průměr a směrodatná odchylka. Kategorické proměnné byly uvedeny s absolutní a relativní frekvencí. Pro zhodnocení závislosti mezi jednotlivými proměnnými byla použita Pearsonova korelace. Pro hodnoty p menší než 0,05 bylo uvažováno jako statisticky signifikantní, p menší než 0,1 jako tendence.

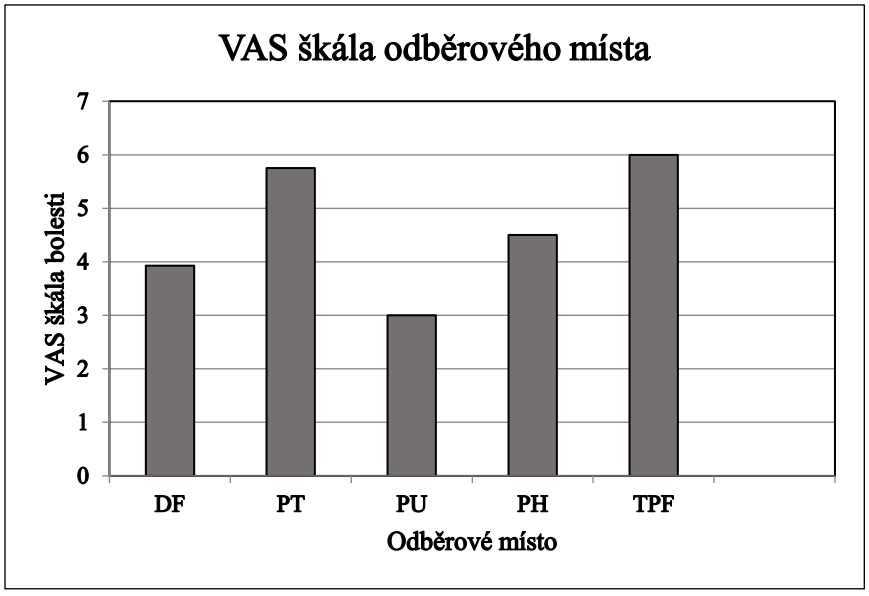
3.4. Výsledky

V případě operačního řešení zlomenin jsme průměrně odebrali 10,98 cm^3 dřeně (σ 5,32), u pakloubů 10,85 cm^3 (σ 5,52).

Ve 36 případech byla spongióza využita pro ošetření zlomenin – 10 x proximální tibie, 9 x distální tibie, 1 x proximálního humeru, 3 x zlomeniny acetabula, 4 x distálního humeru, 1 x

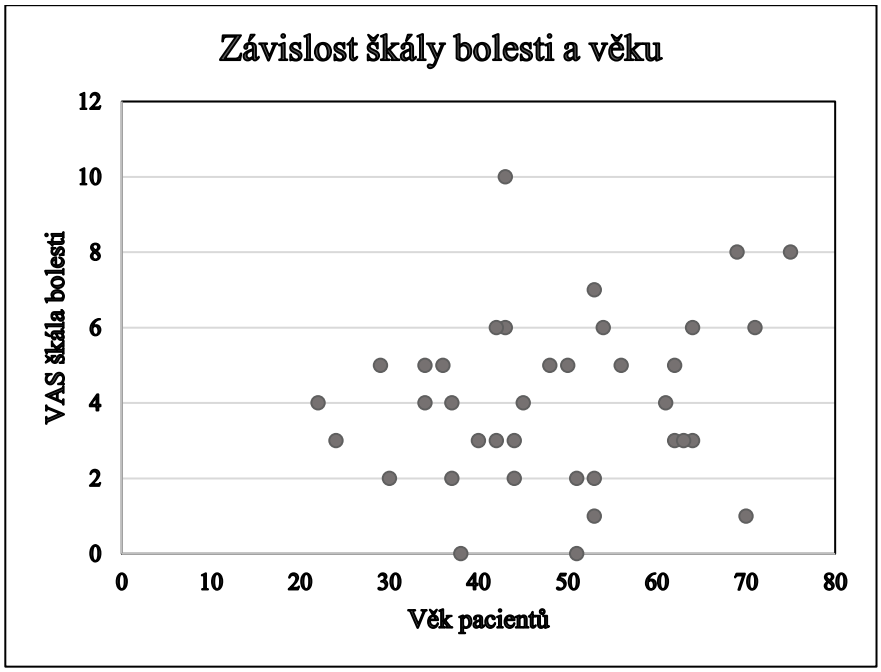
refraktury diafýzy femuru, 1 x zlomeniny proximálního femuru, 2 x periprotetické zlomeniny radia, 1 x I. metatarzu, 1 x krčku talu a 3 x klíční kosti. U 21 pacientů byla spongióza využita k operační léčbě pakloubu. Kompletního zhojení ze souboru zlomenin jsme dosáhli u operačních výkonů dolní končetiny průměrně za 26 týdnů, horní končetiny za 22 týdnů. U pakloubů došlo k zhojení v oblasti dolní končetiny průměrně za 28 týdnů , horní končetiny za 19 týdnů. U třech pacientů k zhojení zlomeniny nedošlo (1. avaskulární nekróza hlavice humeru, 2. amputace končetiny v kolenním kloubu, 3. selhání osteosyntézy).

Nejčastějším odběrovým místem byla suprakondylická oblast distálního femuru (28 pacientů), průměrná VAS bez ohledu na pohlaví byla 3,93 (σ 2,28). Z oblasti proximální tibie byly štěpy odebrány u 4 spolupracujících pacientů, průměrná VAS zde byla 5,75 (σ 1,48) (Graf 3.4.1.).



3.4.1. Graf: VAS škála pooperačních bolestí odběrového místa pacientů znázorněná na sloupcovém grafu

Průměrná bolestivost odběrového místa byla 4,08 (σ 2,21, $p < 0,001$ hladiny významnosti). Tato hodnota byla nepatrně rozdílná u mužů a žen, tj. 4,12 (σ 2,32) vs. 4 (σ 1,96). Uvažovali jsme, zda je možná souvislost věku pacientů s bolestí v oblasti odběru štěpů. Stanovili jsme Pearsonův korelační koeficient $r = – 0,05$. Potvrdili jsme nezávislost věku a VAS bolesti odběrového místa (Graf 3.4.2.).



3.4.2. Graf: Vyjádření závislosti VAS škály bolesti odběrového místa a věku pacientů (r = – 0,05)

Kompletní výsledky jsme shrnuli v tabulkách (Tab. 3.4.3., Tab. 3.4.4.).

Komplikace hojení rány odběrového místa nebyly zaznamenány. U dvou pacientů došlo k sekreci serózní tekutiny vlastní operační ranou (Tab. 3.4.5.).

3.4.3. Tabulka: Zlomeniny – pacient, indikace – typ zlomeniny (px. – proximalis, dist. – distalis, diap. – diaphyseos), odběrové místo, VAS stupnice, průměr frézy v mm, objem válce v cm³

Pacient, pohlaví	Indikace	Odběrové místo	VAS	Průměr použité frézy	Objem válce
1. muž	F. tibiae px.	distální femur	4	10	5,50
2. muž	F. tibiae px.	distální femur	4	12	6,79
3. muž	F. acetabuli p.	distální femur	3	12	18,10
4. žena	F. humeri px.	distální femur	2	10	6,28
5. muž	F. claviculae	distální femur	1	10	3,93
6. žena	F. tibiae px.	distální femur	2	12	18,10
7. muž	F. piloni tibiae	distální femur	3	12	15,83
8. muž	F. tibiae px.	distální femur	5	10	11,78
9. žena	F. tibiae px.	distální femur	1	12	14,70
10. žena	F. tibiae px.	distální femur	5	12	16,96
11. muž	F. tibiae px.	distální femur	2	12	15,83
12. žena	F. tibiae px.	distální femur	4	10	10,21
13. muž	F. tibiae px.	prox. tibie	8	10	4,71
14. muž	F. dist. tibiae	prox. femur	6	12	19,23
15. žena	F. claviculae	prox. humerus	6	8,5	3,40
16. muž	F. dist. humeri	prox. humerus	3	10	6,28
17. muž	F. dist. tibiae	distální femur	0	12	15,83
18. žena	F. dist. tibiae	distální femur	5	12	13,57
19. muž	F. diap. radii	prox. ulna	0	8,5	3,97
20. žena	F. dist. tibiae	distální femur	3	12	15,83
21. muž	F. piloni tibiae	distální femur	10	12	12,40
22. žena	F. II. MTT	distální femur	5	10	6,28
23. muž	F. dist. tibiae	distální femur	3	10	13,35
24. muž	F. dist. radii	prox. tibie	6	8,5	4,54

3.4.4. Tabulka: Paklouby – pacient, indikace – PSA – pseudoartróza (px. – proximalis, dist. – distalis, d. + diap. – diaphyseos), odběrové místo, VAS stupnice, průměr frézy v mm, objem válce v cm³

Pacient, pohlaví	Indikace	Odběrové místo	VAS	Průměr použité frézy	Objem válce
1. muž	P. III. MTT	prox. tibie	4	10	4,71
2. muž	P. claviculae	prox. ulna	3	8,5	4,54
3. muž	P. dist. tibiae	distální femur	2	12	13,57
4. muž	P. dist. humeri	distální femur	6	10	8,64
5. muž	P. cruris px.	distální femur	3	12	15,83
6. žena	P. diap. radii	distální femur	8	10	7,85
7. žena	P. d. femoris	distální femur	5	12	19,23
8. muž	P. diap. ulnae	distální femur	4	10	6,28
9. muž	P. dist. tibiae	distální femur	6	12	18,10
10. muž	P. diap. humeri	distální femur	5	10	7,85
11. muž	P. claviculae	distální femur	7	10	7,85
12. muž	P. dist. tibiae	prox. tibie	5	10	6,28
13. žena	P. d. femoris	distální femur	2	12	20,36

3.4.5. Tabulka: Komplikace oblasti odběrového místa – nízké riziko

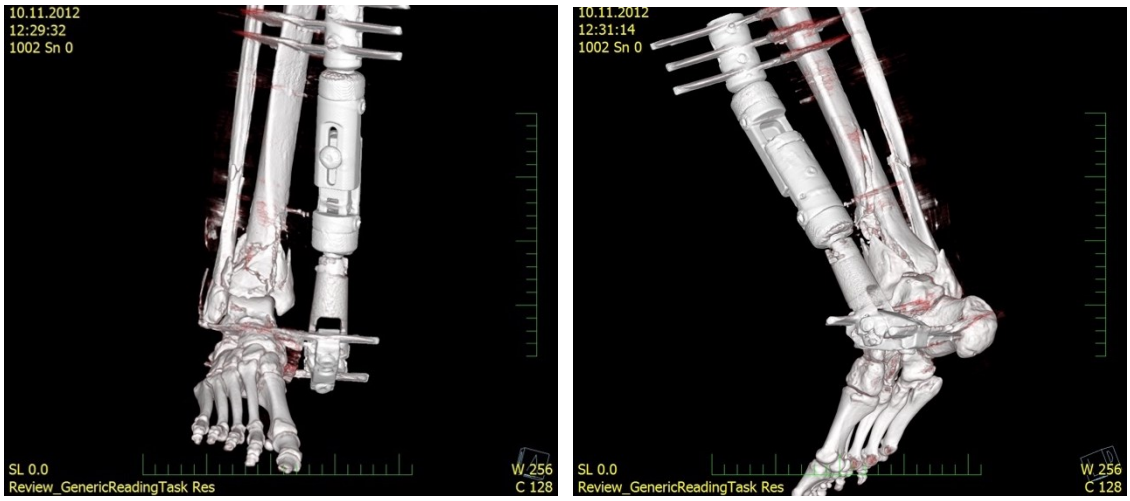
Komplikace	Počet pacientů
Infekt	0
Serózní sekrece	2
Dekalcinace místa odběru	1

3.5. Případové studie

3.5.1. Pacient 1

Pacient se poranil při doskočení z návěsu. Jednalo se o muže ve věku 44 let. Způsobil si otevřenou kominutivní zlomeninu distální tibie vpravo (AO 43C3 Gustilo 2). Téhož dne byl v rámci fázového protokolu ošetření zlomeniny operován na spádovém pracovišti v celkové

anestezii. Byla provedena zavřená repozice zlomeniny tibie, přemosťující temporerní stabilizace pomocí zevního fixatéru Orthofix® a nitrodřeňová osteosyntéza zlomeniny fibuly Kirschnerovým drátem (Obr. 3.5.1.1., Obr. 3.5.1.2.).



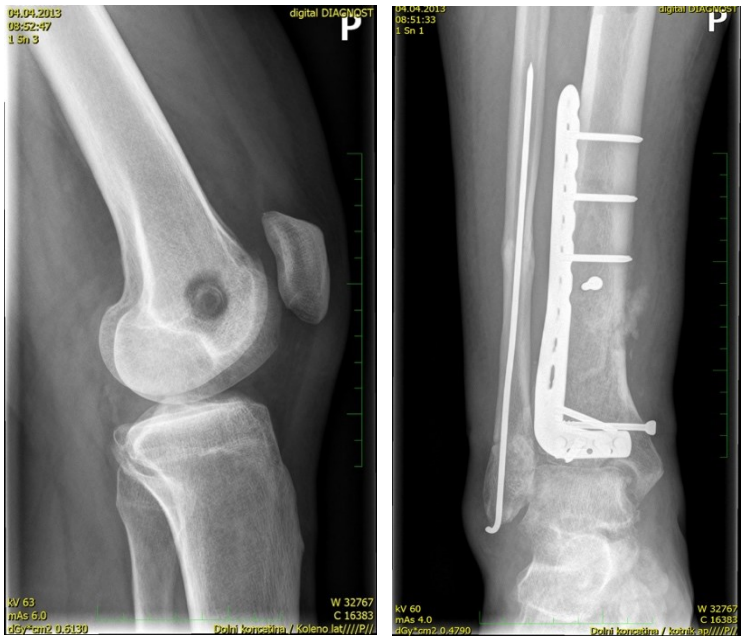
3.5.1.1., 3.5.1.2. Primární ošetření zlomeniny distální tibie AO 43C3 – zavřená repozice, přemosťující fixace Orthofix® a nitrodřeňová osteosyntéza zlomeniny fibuly

Po zklidnění lokálního nálezu a regresi otoku byl pacient přeložen k definitivní péči a ošetření na naše pracoviště. Na operačním sále byla reponována kloubní plocha, repozici jsme zajistili pomocí Kirschnerových drátů. Defekt skeletu distální metafýzy byl vyplněn štěpy odebranými frézou Aesculap® 12,5 mm z distálního femuru totožné končetiny. Délka odebraného válce byla 55 mm (Obr. 3.5.1.5.). Zlomeninu jsme stabilizovali dlahou LCP 3,5 mm ALP Synthes®. Zlomeninu vnitřního kotníku jsme ošetřili tahovým šroubem (Obr. 3.5.1.3., Obr. 3.5.1.4.).

3.5.1.3., 3.5.1.4. Definitivní ošetření zlomeniny tibie anterolaterální dlahou LCP 3,5 mm. 3.5.1.5. Odběr kostních štěpů frézou průměru 12,5 mm z distálního femuru

Hospitalizace trvala po dobu jednoho týdne, operační rány se zhojily bez komplikací.

V pooperačním období bylo operatérem doporučeno ponechat rigidní ortézu do vyjmutí stehů, pak denně z ortézy končetinu vyjímat a ve spolupráci s fyzioterapeutem hlezno do maxima rozsahu procvičovat. Po propuštění byl pacient klinicky kontrolován v intervalech 6, 12 a 24 týdnů od vlastního operačního výkonu. Pacient plně spolupracoval a dostavil se ke všem požadovaným kontrolám. Při kontrole šest týdnů od operačního výkonu bylo patrné omezení hybnosti hlezna, plantární a dorsální flexe byla možná 10 ° (Obr. 3.5.1.6., Obr. 3.5.1.7).



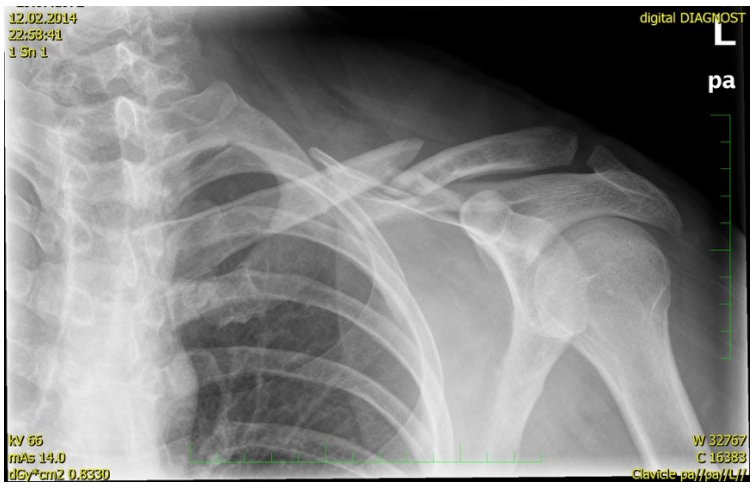
3.5.1.6., 3.5.1.7 Kontrola šest týdnů od operace, hojící se zlomenina a konsolidace odběrového místa

Při kontrole šest měsíců od operačního výkonu již měl pacient hlezno rozcvičeno do plného rozsahu hybnosti s diskrétním omezením do plné dorzální flexe o 5 – 10 °. Na provedeném zobrazovacím vyšetření bylo patrné plné zhojení zlomeniny (Obr. 3.5.1.8., Obr. 3.5.1.9.).

3.5.1.8, 3.5.1.9 Kontrola 6 měsíců od operace, kompletní zhojení zlomeniny

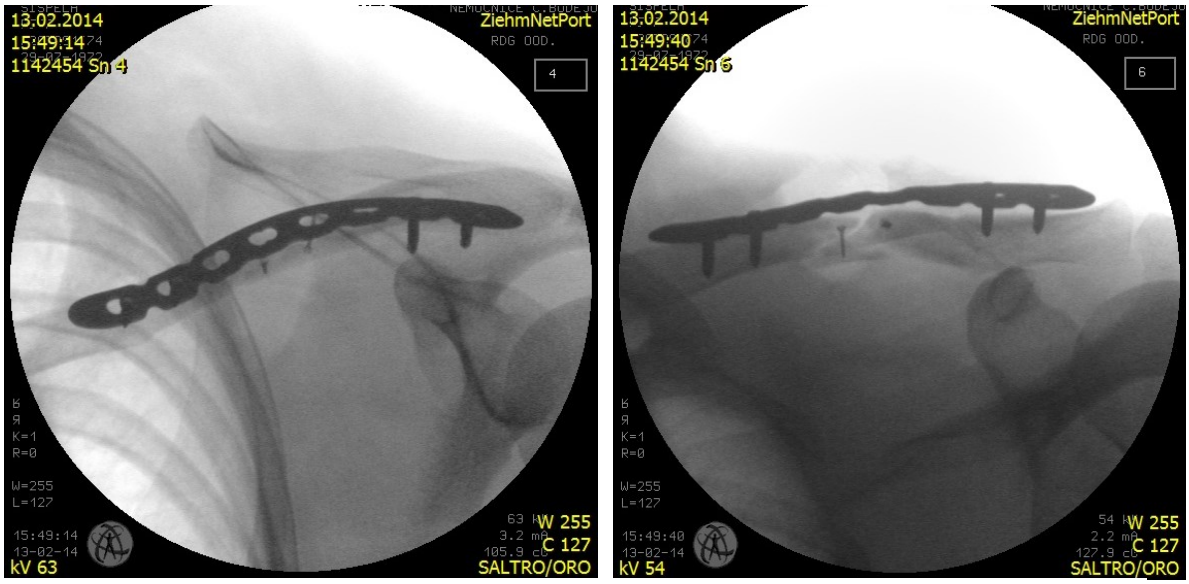
3.5.2. Pacient 2

Pacient se poranil při pádu z kola, způsobil si zlomeninu v oblasti diafýzy levé klíční kosti. Nejprve bylo postupováno neoperačně, přiložena klavikulární ortéza. Kontrola 1. týden od úrazu prokázala na rtg dislokaci o více než šíři kosti a zkrat větší než 2 cm (Obr. 3.5.2.1.).



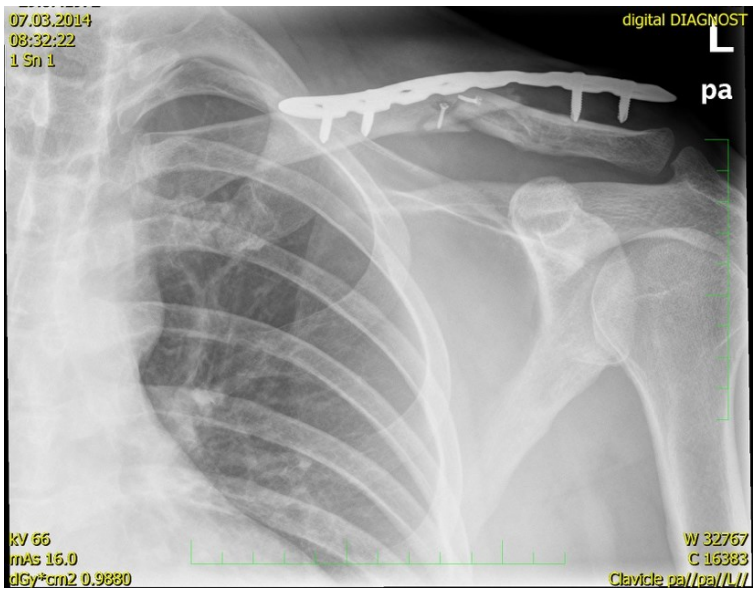
3.5.2.1. Kontrolní rtg 1 týden od úrazu

Bylo indikováno operační řešení. Vzhledem ke kominutivní zóně v oblasti lomné linie jsme operovali otevřeně dlahou LCP 3,5 mm (Obr. 3.5.2.2., Obr. 3.5.2.3.).



3.5.2.2., 3.5.2.3. Nesprávně provedená osteosyntéza LCP 3,5 mm dlahou 1. týden od úrazu

Osteosyntéza nebyla provedena exaktně, již na perioperační dokumentaci je patrné nevyhovující zavedení šroubů do laterální části dlahy, jsou na každé straně jen dva. Není správně provedena repozice zlomeniny, nebyly dodrženy zásady AO školy. Na kontrolním rtg vyšetření šest týdnů od operace došlo k dislokaci dlahy kraniálně a jejímu uvolnění (Obr. 3.5.2.4.).

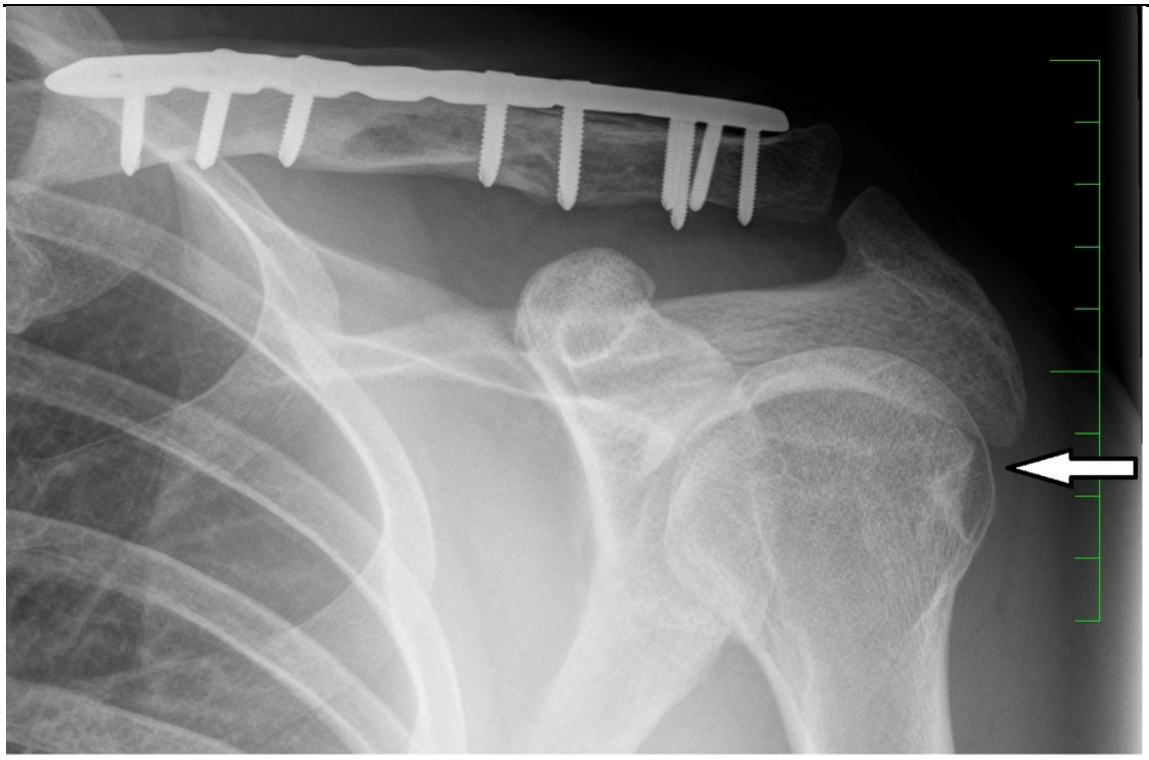


3.5.2.4. Malpozice dlahy kraniálně, kontrolní rtg šest týdnů od operačního výkonu

Na základě toho byla indikována reoperace. Vyjmuli jsme veškerý osteosyntetický materiál. Byla provedena stabilní reosteosyntéza LCP 3,5 mm dlahou Synthes® s laterálním prodloužením, kterou jsme fixovali celkem 3 x LHS šroubem do centrálního fragmentu a 6 x LHS šroubem do laterální části dlahy (Obr. 3.5.2.5., Obr. 3.5.2.6.). Vzhledem k odstupu od úrazu již nebylo možné provést anatomickou repozici motýlovitého mezifragmentu a navíc byla sporná jeho výživa. Proto jsme jej extrahovali a vzniklý defekt jsme vyplnili spongiózními štěpy získanými přímo z proximálního humeru totožné končetiny (Obr. 3.5.2.7.), průměr frézy 10 mm, délka válečku 35 mm.

3.5.2.5., 3.5.2.6. Reosteosyntéza klíční kosti LCP 3,5 mm laterální dlahou šest týdnů od primární operace, 3.5.2.7. Odběr spongiózních štěpů z proximálního humeru

Pacienta jsme po reoperaci hospitalizovali po dobu dvou dnů. Operační rány se zahojily bez komplikací. V pooperačním období bylo operatérem doporučeno ponechat pažní závěs celkem čtyři týdny. Po vyjmutí stehů byla umožněna pasivní rehabilitace ramenního kloubu. Aktivní rehabilitaci jsme povolili čtyři týdny od reoperace. Po propuštění jsme pacienta kontrolovali standardně 6, 12 a 24 týdnů od operačního výkonu. Pacient plně spolupracoval a dostavil se ke všem požadovaným kontrolám (Obr. 3.5.2.8.).



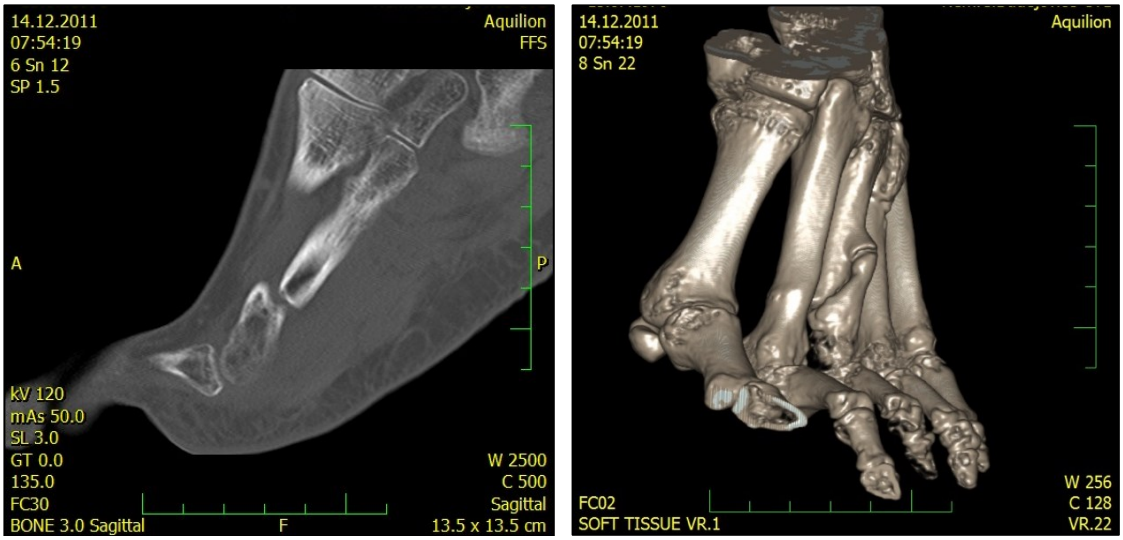
3.5.2.8. Zhojení zlomeniny tři měsíce od reoperace, šipkou je označená oblast dekalcinace úponu šlachy MSS

Zlomeninu se podařilo zahojit za tři měsíce od operačního výkonu. Pacient měl plnou hybnost ramenního kloubu. Limitací pohybu byly subjektivní potíže pobolívání v oblasti odběrového místa spongiózního štěpu. Na rtg byla patrná dekalcinace v oblasti odběru. Jedná se o distální úpon m. supraspinatus (MSS). Pacientovi byla doporučena MRI diagnostika po vyjmutí osteosyntetického materiálu.

3.5.3. Pacient 3

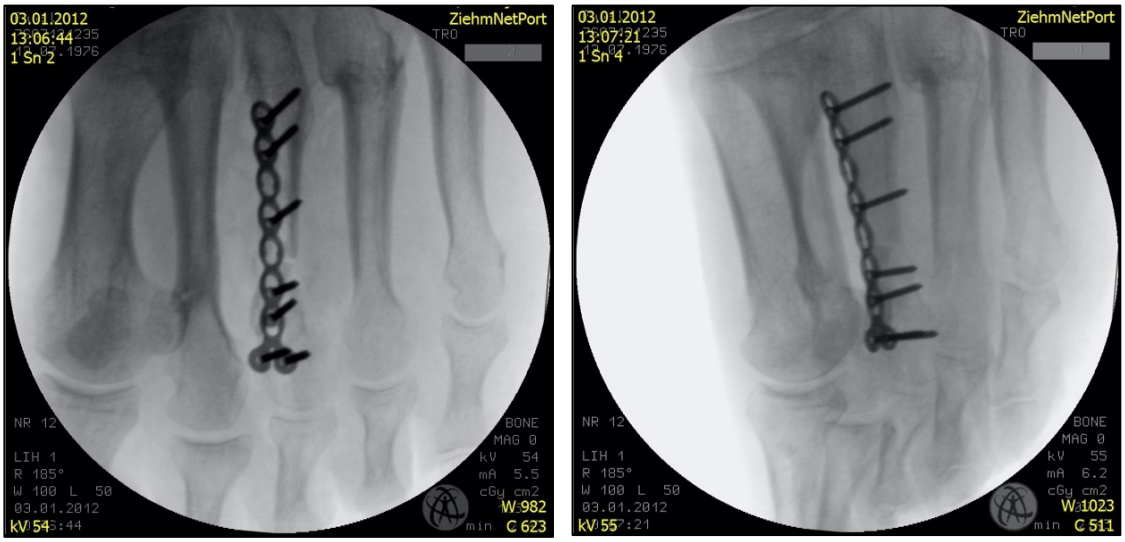
Pacient byl poraněn vysokozdvižným vozíkem v oblasti pravé nohy. Po základním rtg a CT vyšetření byly diagnostikovány zlomeniny diafýz zánártních kostí. Nejprve byl zvolen neoperační postup léčby. Poraněnou končetinu jsme fixovali polymerovou fixací na dobu celkem šesti týdnů. Pak byl pacientovi umožněn částečný došlap a zatížení končetiny. Kontroly probíhaly ve zvyklém schématu našeho oddělení. Při kontrolním vyšetření šest

měsíců od poranění bylo na rtg a následně i CT vyšetření jasně patrné nezhojení zlomeniny diafýzy 3. zánártní kosti (Obr. 3.5.3.1.). Stanovili jsme diagnózu pakloubu.



3.5.3.1. Pseudoartróza diafýzy 3. MTT na CT vyšetření

Indikovali jsme proto operační řešení pakloubu se spongioplastikou (Obr. 3.5.3.2., Obr. 3.5.3.3.).



3.5.3.2., 3.5.3.3. Perioperační dokumentace osteosyntézy a spongioplastiky 3. MTT

Spongiózní kostní štěpy jsme v tomto případě získali z oblasti proximální tibie. Frézu jsme použili o průměru 10 mm, délku válce jsme získali 40 mm. Osteosyntézu jsme provedli s využitím dlahy sady Compact Foot Synthes®.

Pacienta jsme hospitalizovali po operačním výkonu tři dny. Obě operační rány se zhojili bez komplikací primárně. Operatérem bylo doporučeno maximální šetření končetiny do plného došlapu a vertikalizace s oporou holí. Dále byla doporučena plná rehabilitace hlezenného kloubu.

Po propuštění jsme pacienta kontrolovali standardně 6, 12 a 24 týdnů od operačního výkonu. Pacient plně spolupracoval a dostavil se ke všem požadovaným kontrolám (Obr. 3.5.3.4., Obr. 3.5.3.5.).

3.5.3.4., 3.5.3.5. Kontrolní rtg šest týdnů od operačního výkonu

Klinickou a rtg kontrolou šest týdnů po výkonu byla pacientovi umožněna postupná normalizace došlapu na končetinu a pokračující plná rehabilitace.

Na rtg snímku tři měsíce od operačního výkonu bylo patrné plné zhojení zlomeniny i konsolidace odběrového kanálu v oblasti proximální tibie (Obr. 3.5.3.6.,7., Obr. 3.6.3.8.).

3.5.3.6., 3.5.3.7. Zhojení pseudoartrózy 3. MTT pravé dolní končetiny tři měsíce od operačního výkonu, 3.5.3.8. Zhojení odběrového kanálu proximální tibie

3.6. Diskuse

Kostní dřeně jsme odebrali u léčených zlomenin průměrně 10,98 cm³, u pakloubů 10,85 cm³. To nám ve srovnání se standardními odběry z lopaty kosti kyčelní nabízí dostatečné množství tkáně k léčení komplikovaných zlomenin a pakloubů.

Z předchozích studií bylo zjištěno, že se pohybuje průměrná VAS pacientů po standardním odběru z lopaty kosti kyčelní okolo 5,6 (σ 2,8, $p < 0,001$ hladiny významnosti) (63). V našem výzkumu jsme v pooperačním klinickém sledování dosáhli průměrné VAS 4,08 (σ 2,21, $p < 0,001$ hladiny významnosti).

Prací, které by se zabývaly problematikou miniinvazivních kostních štěpů, není mnoho. Některé zkoumaly otázku dlouhodobých bolestí v oblasti odběrového místa štěpů po standardních odběrech z lopaty kosti kyčelní. Kim hodnotil bolest v oblasti odběrového místa SIAS (spina iliaca anterior superior) u operací krční páteře (64). Celkem 87 % pacientů neudávalo chronickou bolest v oblasti odběrového místa, v rámci akutního pooperačního období bylo 53 % zcela bez obtíží. Ženské pohlaví bylo rizikovým faktorem pro rozvoj

chronických bolestí oblasti odběrového místa štěpů. V našem souboru pacientů byla pooperační bolest v oblasti odběrového místa u obou pohlaví srovnatelná. K diskusi se nabízí podíl podaných analgetik pacientům v pooperačním období. Každý pacient naší studie měl k dispozici opiátové analgetikum k intramuskulární aplikaci (Dipidolor – účinná složka piritramid) a nesteroidní protizánětlivou látku k intravenóznímu podání (Veral – účinná složka diklofenak). V komparativní studii mezi AICBG (anterior iliac crest bone graft) a allograftem při operační léčbě ACDF (anterior cervical discectomy and fusion) hodnotil Armaghani 50 pacientů (65). Celkem 10 % pacientů popisovalo do jednoho roku od operace bolesti odběrového místa. U dvou pacientů popsal rané komplikace v místě odběru štěpu. My jsme v našem klinickém souboru nepozorovali žádné rané komplikace, u dvou pacientů jsme vzhledem k diskrétní souvislosti mezi odběrovým místem a vlastní operační ranou pozorovali sekreci dřeňové tekutiny (kultivačně negativní). Jednalo se o pacienta operovaného pro zlomeninu proximální tibie. Odběrové místo spongiózy bylo zvoleno na totožné končetině, suprakondylické oblasti distálního femuru, laterální přístup. Druhá pacientka byla operována pro komplikovanou zlomeninu proximálního předloktí. Zde byla zvolena odběrová oblast vlastní operační rány, tedy proximální ulny. Tato serózní sekrece spontánně ustala do 3. pooperačního dne. Domníváme se, že za vzniklý klinický stav mohlo nedostatečné ošetření odběrového kanálu. Tedy ošetření důkladnou laváží, tamponádou hemostatickými želatinovými houbami a uzávěr kostním voskem jako prevence pooperačního hematomu.

Pozoruhodná je biomechanická studie Lima, který se zabýval miniinvazivním odběrem štěpů z oblasti proximální tibie, z laterálního přístupu (66). Navrhnul postup, kterým vyšetřuje stabilitu proximální tibie během fyziologického zatížení a maximální možný bezpečný průměr odebraného válce spongiózy. Nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v běžném fyziologickém axiálním zatížení tibie v rámci použití odběru 10 mm či 25 mm frézy. Získané množství štěpů je plně srovnatelné s množstvím získaným standardním

odběrem lopaty kosti kyčelní, s čímž souhlasíme.

Zajímavou komplikací, která může upřednostnit metodu miniinvazivních odběrů kostních štěpů, je možnost poranění n. cutaneus femoris lateralis při standardních odběrech z lopaty kosti kyčelní. Nizozemskými autory je toto iatrogenní poškození popsáno ve dvou případových studiích (67). Je nutno brát v potaz možné anatomické varianty průběhu nervu, kterých je celkem devět (68). Abychom se tomuto iatrogennímu poškození vyhnuli, je doporučováno odběr provádět v relativně bezpečné zóně 4 – 5 cm dorsálně od SIAS a řez je nutné vést rovnoběžně s lopatou kosti kyčelní. V našem souboru jsme zaznamenali „komplikaci“ u pacienta po operaci pakloubu klíční kosti. Při výkonu byl použit odběrový kanál v oblasti proximálního humeru totožné končetiny. Po dvou letech od operačního výkonu došlo ke klinickým obtížím, pobolívání v oblasti odběrového místa, při větší námaze byla u pacienta popisována blokáda hybnosti. Na rtg byla patrná dekalcinace v oblasti odběrového místa štěpů v rozsahu 1 cm (Obr. 3.5.2.8.). Jedná se o oblast distálního úponu m. supraspinatus. U pacienta je plánováno vyšetření magnetickou rezonancí, po vyjmutí osteosyntetického materiálu. Artroskopie indikována zatím nebyla. U třech pacientů ke zhojení zlomeniny nedošlo. U šedesátileté pacientky po osteosyntéze čtyřúlomkové luxační zlomeniny proximálního humeru hřebem došlo k avaskulární nekróze hlavice šest měsíců od operačního výkonu. Následovala revizní operace s implantací reverzní endoprotézy. V případě další pacientky (64 let) se jednalo o sdružené poranění levé dolní končetiny. Vzhledem k závažné systémové infekční komplikaci byla indikována amputace v úrovni bérce. U muže ve věku 51 let došlo po osteosyntéze zlomeniny distální tibie k selhání osteosyntetického materiálu, zlomení dlahy a šroubů. Byla indikována revizní operace a reosteosyntéza.

Další důležitou otázkou je i možnost volby mediálního či laterálního přístupu odběru štěpů v oblasti proximální tibie. Touto problematikou se zabýval Benninger (69),

upřednostňuje mediální přístup proti laterálnímu u mladých zdravých pacientů. Naopak u polymorbidních pacientů preferuje laterální přístup z důvodu lepšího krytí měkkými tkáněmi. Na našem pracovišti používáme přístup laterální. Frohberg (70) uvedl komplikace po odběru spongiózy z proximální tibie u 10 % pacientů ze svého souboru v smyslu chronických bolestí, jizvy.

Velmi zajímavou studii související i s naším tématem přednesl Mauffrey (63). Porovnával objem autologních kostních štěpů ze tří různých odběrových míst a hodnotil bolest tohoto místa 1. a 4. týden od operace. Jednalo se o prospektivní studii 47 odebraných štěpů, 12 z SIAS, 19 z proximální ulny (olecranon) a 16 z oblasti zevní strany proximální tibie. Bylo možné odebrat průměrně 6,2 cm^3 z SIAS, 5,7 cm^3 z oblasti proximální ulny a 7,3 cm^3 z proximální tibie. Analýza VAS škály dopadla výrazně hůře pro oblast SIAS v komparaci s ostatními oblastmi. Nebyly zaznamenány infekční či neurovaskulární komplikace. V našem souboru jsme prokázali nižší škálu bolesti ve srovnání s odběry z SIAS, průměrně 4,08. Odebrali jsme průměrně 10,98 cm^3 kostní dřeně při léčbě akutních zlomenin.

Další problematiku prezentoval Engelstad (71). Srovnal zisky možných objemů spongiózní kostní tkáně ze tří různých odběrových oblastí u jednoho kadaverózního dárce. Jednalo se o oblast SIAS, SIAP a oblast proximální tibie. K výzkumu použil celkem deset kadáverů. Objem spongiózy, který bylo možno získat, kvantifikoval škálou 1 – 3, kdy 1 je nejmenší možný získaný objem a 3 je největší možný získaný objem tkáně. Dosáhnul zajímavých výsledků. Průměrně největší objem získal z oblasti proximální tibie, tj. dle stanovené škály 2,7, dále z oblasti SIAP, tj. 2 a nejméně z oblasti SIAS, kde byla hodnota 1,2.

3.7. Závěr klinické části studie

V klinické části studie jsme prokázali, že lze technikou miniinvazivního odběru kostních štěpů odebrat dostatečné množství tkáně pro léčení defektních zlomenin a pakloubů. Spongioplastika s využitím takto získaných štěpů je efektivní s minimálním podílem nezhojených zlomenin. Výhodou metody je blízkost odběru operačnímu poli a nízká hladina bolestivosti. Miniinvazivní odběr štěpů představuje techniku s nízkým rizikem výskytu pooperačních a pozdních komplikací.

4 Závěr

Miniinvazivně získané spongiózní kostní štěpy mohou být úspěšně použity pro léčbu komplikovaných defektních zlomenin a pakloubů. Technika je použitelná pro všechny věkové skupiny. Vhodně zvolené odběrové místo a správná technika odběru jsou klíčem pro dobrý nebo výborný výsledek léčby. Tato léčebná strategie ovlivňuje výsledný efekt operační léčby spočívající v minimálním podílu nezhojených zlomenin či pakloubů.

Cílem studie bylo experimentální srovnání zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně odebraných kostních štěpů z kadaverózních preparátů ze zvolených oblastí s referenčním odběrem z hřebenu lopaty kosti kyčelní a zhodnocení klinické úspěšnosti léčby touto technikou na vlastním souboru. S přihlédnutím k těmto cílům je tedy možno konstatovat následující:

Zastoupení červené kostní dřeně u miniinvazivně získaných kostních štěpů deseti kadaverózních preparátů z oblastí velkého trochanteru, distálního femuru a proximálního humeru je srovnatelné s referenčními vzorky z lopaty kosti kyčelní.

Štěpy, které jsme odebrali z oblasti proximální ulny a proximální tibie vykazují podstatně menší podíl zastoupení červené kostní dřeně ve srovnání s vzorky z ostatních odběrových oblastí.

Technikou miniinvazivního odběru kostních štěpů lze odebrat dostatečné množství tkáně pro léčení defektních zlomenin a pakloubů. Při využití takto získaných štěpů jsme prokázali minimální podíl nezhojených zlomenin a pakloubů. Mezi klíčové výhody miniinvazivní spongioplastiky patří blízkost odběru operačnímu poli a nízká hladina bolestivosti. Tím jsme schopni zefektivnit průběh vedeného operačního výkonu i pooperační péči. Průměrná VAS hladina bolestivosti odběrového místa byla nepatrně rozdílná u obou pohlaví. Potvrdili jsme hypotetický předpoklad nezávislosti věku a VAS bolesti odběrového místa.

Miniinvazivní odběr štěpů představuje techniku s nízkým rizikem výskytu pooperačních a

pozdních komplikací. Komplikace hojení odběrového místa jsme nezaznamenali. U dvou pacientů jsme pozorovali vzhledem k diskrétní souvislosti mezi odběrovým místem a vlastní operační ranou serózní sekreci dřeňové tekutiny. Za vzniklý klinický stav mohlo nesprávně zvolené odběrové místo a zároveň neadekvátní ošetření odběrového kanálu.

5 Použitá literatura

1. Jelínek, R.: Histologie, embryologie. Oddělení histologie a embryologie 3. lékařské fakulty UK v Praze, Praha, 2013.

2. Junqueira, L., C., Carneiro J.: Basic histology text and atlas. 11th Edition. Appleton & Lange, New York, 2005.

3. Perren, S., M.: Biomechanischen Grundlagen der Frakturbehandlung. Orthopäde. 21, 1992, 3–10.

4. Bartoníček, J., Heřt J.: Základy anatomie pohybového aparátu, Maxdorf, Praha, 2004.

5. Perren, S., M., Cordey, J.: The concepts of interfragmentary strain. In: Uhthoff HK: Current concepts of internal fixation of fractures, Springer, Berlin, 1980.

6. Rahn, B., A.: Bone healing, histologic and physiologic concepts. In: Sumner-Smith G: Bone in Clinical Orthopaedics. Thieme, Stuttgart, 2002.

7. Pauwels, F.: Eine neue Theorie über den Einfluss mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe. Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte. 121, 1960, 478–515.

8. Perren, S., M.: Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. Clinical Orthopaedics and Related Research. 138, 1979, 175–196.

9. Goodship, A., E., Kenwrigth, J.: The influence of induced micromovement upon the healing of experimental tibial fractures. Journal of Bone and Joint Surgery. 67, 1985, 650–655.

10. Goodship, A., E., Cunningham, J., L., Kenwright, J.: Strain rate and timing of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. Clinical Orthopaedics and Related Research. 355, 1998, 105–115.

11. Kenwright, J., Gardner, T.: Mechanical influence on tibial fracture healing. Clinical Orthopaedics and Related Research. 355, 1998, 179–190.

12. Parfitt, A., M.: The cellular basis of bone remodeling. Calcified Tissue International. 36, 1983, 37–45.

13. Ham, A., W., Harris, W., R.: Repair and transplantation of bone. In: Bourne GH: The Biochemistry and Physiology of Bone. Vol 3. Academic Press, New York, 1971.

14. Witt, A., N.: Die Behandlung der Pseudoarthrosen: unter besonderer Berücksichtigung der autoplastischen Spantransplantationen bei Defektpseudoarthrosen. Chirurgie in Einzeldarstellungen. W. de Gruyter, Berlin, 1957.

15. Čech, O., Douša, P., Krbec, M.: Traumatologie pohybového aparátu, pánve, páteře a paklouby. Galén, Praha, 2016.

16. Schottel, P., C., Warner, S., J.: Role of bone marrow aspirate in orthopedic trauma. Orthopedic Clinics of North America. 48, 2017, 311–321.

17. Anděl, J.: Matematická statistika. Nakladatelství technické literatury, Praha, 1985.

18. Patterson, T., E., Boehm, C., Nakamoto, C., Rozic, R., Walker, E., Muschler, G., F.: The efficiency of bone marrow aspiration for harvest of connective tissue progenitors from the human illiac crest. Journal of Bone and Joint Surgery American. 99, 2017, 1673–1682.

19. Guarnieri, R., Belleggia, F., Devillier, P., Testarelli, L.: Histologic and histomorfometric analysis of bone regeneration with bovine grafting material after 24 months of healing. A case report. Journal of Functional Biomaterials. 9, 2018, 48.

20. Shousaku, I., Kenta, M., Shun, I., Yumiko, Y., Yukako, Y., Seisuke, Y., Reiko, Y., Shigeyuki, E., Mikako, H., Aubin, J., E.: Bone marrow-derived HipOP cell population is markedly enriched in osteoprogenitors. International Journal of Molecular Sciences. 13, 2012, 10229–10235.

21. Hayashi, O., Katsube, Y., Hirose, M., Ohgushi, H., Ito, H.: Comparison of osteogenic ability of rat mesenchymal stem cells from bone marrow, periosteum, and adipose tissue. Calcified Tissue International. 82, 2008, 238–247.

22. Putti, V.: Vittorio Putti 1880 – 1940 (obituary). The New England Journal of Medicine. 223, 1940, 955–956.

23. Urist, M., R., O'Connor, B., T., Burwell, R., G.: Bone graft, derivatives and substitutes. Butterworth-Heinemann, Cambridge, 1994.

24. Putti, V.: I trapianti ossei. Archives of Orthopaedic. 29, 1912, 294–334.

25. Hernigou, P.: Bone transplantation and tissue engineering, part I. Mythology, miracles and fantasy: from Chimera to the Miracle of the Black Leg of Saints Cosmas and Damian and the cock of John Hunter. International Orthopaedics. 38, 2014, 2631–2638.

26. De Boer, H., H.: The history of bone grafts. Clinical Orthopaedics. 226, 1988, 293–298.

27. Donati, D., Zolezzi, C., Tomba, P., Vigano, A.: Bone grafting: historical and conceptual review, starting with an old manuscript by Vittorio Putti. Acta Orthopaedica. 78, 2007, 19.

28. Laios, K., Markatos, K., Androutsos, G.: Louis-Léopold-Xavier-Édouard Ollier (1830 – 1900): An innovative orthopedic surgeon. Surgical Innovation. 24, 2017, 402–404.

29. Macewen, W.: Observations concerning transplantation of bone. Illustrated a case of inter-human osseous transplantation, whereby over two thirds of the shaft of the humerus was restored. Proceedings of the Royal Society of Medicine London. 32, 1881, 232–247.

30. Phemister, D., B.: The fate of transplanted bone and regenerative power of its various constituents. Surgery Gynecology Obstetrics. 19, 1914, 303–333.

31. Inclan, A.: The use of preserved bone graft in orthopaedic surgery. Journal of Bone and Joint Surgery. 24, 1942, 81–96.

32. Bush, L., F.: The use of homogenous bone grafts. Journal of Bone and Joint Surgery. 29, 1947, 620–628.

33. Wilson, P., D.: Experiences with a bone bank. Annals of Surgery. 126, 1947, 932–946.

34. Hyatt, G., W., Butler, M., C.: The procurement, storage, and clinical use of bone homografts. Instructional Course Lectures. 14, 1957, 343–373.

35. Friedlaender, G., E., Horowitz, M., C.: Immune responses to osteochondral allografts: nature and significance. Orthopedics. 15, 1992, 1171–1175.

36. Egol, K., A., Nauth, A., Lee, M., Pape, H., C., Watson, J., T., Borrelli, J. Jr.: Bone grafting: sourcing, timing, strategies and alternatives. Journal of Orthopaedic Trauma. 12, 2015, 10–14.

37. Takemoto, R., C., Fajardo, M., Kirsch, T.: Quantitative assessment of the bone morphogenetic protein expression from alternate bone graft harvesting sites. Journal of Orthopaedic Trauma. 24, 2010, 564–566.

38. Westrich, G., H., Geller, D., S., O'Malley, M., J.: Anterior iliac crest bone graft harvesting using the corticocancellous reamer system. Journal of Orthopaedic Trauma. 15, 2001, 500–506.

39. Gruskay, J., A., Basques, B., A., Bohl, D., D.: Short-term adverse events, length of stay, and readmission after iliac crest bone graft for spinal fusion. Spine. 39, 2014, 1718–1724.

40. Bauer, T., W., Muschler, G., F.: Bone graft materials. An overview of the basic science. Clinical Orthopaedics and Related Research. 371, 2000, 10–27.

41. Giannoudis, P., V., Dinopoulos, H., Tsiridis, E.: Bone substitutes: an update. Injury. 36, 2005, 20–27.

42. Mroz, T., E., Suen, P., W., Shamie, A., N.: Bone graft substitutes in spinal surgery. Operative Techniques in Orthopaedics. 13, 2003, 146–151.

43. Heyligers, I., C., Klein-Nulend, J.: Detection of living cells in non-processed but deep-frozen bone allografts. Cell and Tissue Banking. 6, 2005, 25–31.

44. Jennings, T., A.: Lyophilization: Introduction and Basic Principles. Interpharm Press, Denver, 1998.

45. Buck, B., E., Malinin, T., I., Brown, M., D.: Bone transplantation and human immunodeficiency virus. An estimate of risk of acquired immunodeficiency syndrome

(AIDS). Clinical Orthopaedics and Related Research. 240, 1989, 129–136.

46. Friedlaender, G., E., Strong, D., M., Sell, K., W.: Studies on the antigenicity of bone. II. Donor-specific anti-HLA antibodies in human recipients of freeze-dried allografts. Journal of Bone and Joint Surgery American. 66, 1984, 107–112.

47. Urist, M., R.: Bone: formation by autoinduction. Science. 150, 1965, 893–899.

48. Ondruš, Š., Straka, M., Bajerová J.: Trikalciumfosfát v kombinaci s autologní kostní dření v léčbě cystických kostních defektů v dětském věku. Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Čechoslovaca. 78, 2011, 544–550.

49. Slongo, T., Joeris, A.: ChronOS inject in children with bone cysts rezistent to conventional treatment. European Cells and Materials. 11, 2006, 3.

50. Balík, K., Suchý, T.: Biokompozitní náhrady kostní tkáně. Ústav struktury a mechaniky hornin Akademie věd ČR v Praze, Praha, 2015.

51. Wozney, J., M., Rosen, V., Celeste, A., J.: Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. Science. 242, 1988, 1528–1534.

52. Termaat, M., F., Den Boer, F., C., Bakker, F., C., Patka, P., Haarman, H., J.: Bone morphogenetic proteins. Development and clinical efficacy in the treatment of fractures and bone defects. Journal of Bone and Joint Surgery American. 87, 2005, 1367–1378.

53. Gamradt, S., C., Abe, N., Bahamonde, M., E., Lee, Y., P., Nelson, S., D., Lyons, K., M., Lieberman, J., R.: Tracking expression of virally mediated BMP-2 in gene therapy for bone repair. Clinical Orthopaedics and Related Research. 450, 2006, 238–245.

54. Reddi, A., H.: Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. Journal of Bone and Joint Surgery American. 83, 2001, 1–6.

55. Yeh, L., C., Adamo, M., L., Olson, M., S., Lee, J., C.: Osteogenic protein-1 and insulin-like growth factor I synergistically stimulate rat osteoblastic cell differentiation and proliferation. Endocrinology. 138, 1997, 4181–4190.

56. Yeh, L., C., Tsai, A., D., Lee, J., C.: Osteogenic protein-1 (OP-1, BMP-7) induces osteoblastic cell differentiation of the pluripotent mesenchymal cell line C2C12. Journal of Cellular Biochemistry. 87, 2002, 292–304.

57. Deckers, M., M., van Bezooijen, R., L., van der Horst, G., Hoogendam, J., van der Bent, C., Papapoulos, S., E., Lowik, C., W.: Bone morphogenetic proteins stimulate angiogenesis through osteoblast-derived vascular endothelial growth factor A. Endocrinology. 143, 2002, 1545–1553.

58. Giannoudis, P., V., Kanakaris, N., K., Dimitriou, R.: The synergistic effect of autograft and BMP-7 in the treatment of atrophic nonunions. Clinical Orthopaedics and Related Research. 467, 2009, 3239–3248.

59. Henrich, D., Seebach, C., Sterlepper, E.: Ria reamings and hip aspirate: a comparative evaluation of osteoprogenitor and endothelial progenitor cells. Injury. 41, 2010, 62–68.

60. Sagi, H., C., Jordan, C., J., Barei, D., P.: Indomethacin prophylaxis for heterotopic ossification after acetabular fracture surgery increases the risk for nonunion of the posterior wall. Journal of Orthopaedic Trauma. 28, 2014, 377–383.

61. Schmidmaier, G., Herrmann, S., Green, J.: Quantitative assessment of growth factors in reaming aspirate, iliac crest, and platelet preparation. Bone. 39, 2006, 1156–1163.

62. Burchardt, H.: The biology of bone graft repair. Clinical Orthopaedics and Related Research. 174, 1983, 28–34.

63. Mauffrey, C., Madsen, M., Bowles, R., J., Seligson, D.: Bone graft harvest site options in orthopaedic trauma: a prospective in vivo quantification study. Injury. 43, 2012, 323–326.

64. Kim, C., H., Chung, C., K., Choi, Y., Hwang, S., T., Kim, S., M., Park, S., B.: The patient-reported outcome of chronic pain after the harvest of anterior iliac bone for anterior cervical arthrodesis. Journal of Clinical Neuroscience. 36, 2017, 102–107.

65. Armaghani, S., J., Even, J., L., Zern, E., K., Braly, B., A., Kang, J., D., Devin, C., J.: The

Evaluation of donor site pain after harvest of tricortical anterior iliac crest bone graft for spinal surgery: A prospective study. Spine. 41, 2016, 191–196.

66. Lim, C., T., Ng, D., Q., Tan, K., J., Ramruttun, A., K., Wang, W., Chong, D., Y.: A biomechanical study of proximal tibia bone grafting through the lateral approach. Injury. 47, 2016, 2407–2414.

67. den Brave, P., S., vas Nunes, S., E., Bronkhorst, M., W.: Anatomical variations of the lateral femoral cutaneous nerve and iatrogenic injury after autologous bone grafting from the iliac crest. Journal of Orthopaedic Trauma. 29, 2015, 549–553.

68. Netter, F., H.: Atlas of human anatomy. Icon Learning Systems, Teterboro NJ, 2011.

69. Benninger, B., Ross, A., Delamarter, T.: Approaches to proximal tibial bone harvest techniques. Journal of Oral and Maxillofacial Research. 3, 2012, e2.

70. Frohberg, U., Mazock, J., B.: A review of morbidity associated with bone harvest from the proximal tibial metaphysis. Mund, Kiefer und Gesichtschirurgie. 9, 2005, 63–65.

71. Engelstad, M., E., Morse, T.: Anterior iliac crest, posterior iliac crest and proximal tibia donor sites: a comparison of cancellous bone volumes in fresh cadavers. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 68, 2010, 3015–3021.

72. Viscioni, A., Dalla Rosa, J., Paolin, A., Franco, M.: Fresh-frozen bone: case series of a new grafting material for sinus lift and immediate implants. Journal of the Irish Dental Association. 56, 2010, 186–191.

73. Beck, A., Nehrbass, D., Stoddart, M., J., Schiuma, D., Green, J., Lansdowne, J., L., Richards, R., G., Bouré, L., P.: The use of Reamer Irrigator Aspirator (RIA) autograft harvest in the treatment of critical-sized iliac wing defects in sheep: Investigation of dexamethasone and beta-tricalcium phosphate augmentation. Bone. 53, 2013, 554–565.

6 Příloha

6.1. Výsledkové tabulky jednotlivých kadáverů

DÁRCE č. 1 muž, 41 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	18	82	40:60
Velký trochanter - vpravo	18	82	28:72
Distální femur - vpravo	10	90	23:76
Proximální tibie - vpravo	8	92	0:100
Proximální humerus - vpravo	13	87	15:98
Proximální ulna - vpravo	25	75	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	35	65	20:80
Velký trochanter - vlevo	10	90	26:74
Distální femur - vlevo	10	90	35:65
Proximální tibie - vlevo	15	85	0:100
Proximální humerus - vlevo	13	87	27:73
Proximální ulna - vlevo	60	40	0:100

DÁRCE č. 2 žena, 49 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	15	85	16:84
Velký trochanter - vpravo	8	92	12:88
Distální femur - vpravo	13	87	6:94
Proximální tibie - vpravo	10	90	0:100
Proximální humerus - vpravo	10	90	10:90
Proximální ulna - vpravo	30	70	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	9	91	10:90
Velký trochanter - vlevo	8	92	20:80
Distální femur - vlevo	13	87	12:88
Proximální tibie - vlevo	17	83	0:100
Proximální humerus - vlevo	8	92	15:85
Proximální ulna - vlevo	28	72	0:100

DÁRCE č. 3 muž, 45 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	8	92	35:65
Velký trochanter - vpravo	8	92	25:75
Distální femur - vpravo	12	88	30:70
Proximální tibie - vpravo	15	85	0:100
Proximální humerus - vpravo	16	84	28:72
Proximální ulna - vpravo	30	70	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	9	91	36:64
Velký trochanter - vlevo	16	84	40:60
Distální femur - vlevo	12	88	38:62
Proximální tibie - vlevo	10	90	0:100
Proximální humerus - vlevo	10	90	30:70
Proximální ulna - vlevo	23	77	0:100

DÁRCE č. 4 muž, 42 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	15	85	7:93
Velký trochanter - vpravo	8	92	5:95
Distální femur - vpravo	15	85	5:95
Proximální tibie - vpravo	16	84	0:100
Proximální humerus - vpravo	5	95	4:96
Proximální ulna - vpravo	10	90	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	10	90	18:82
Velký trochanter - vlevo	12	88	16:84
Distální femur - vlevo	15	85	10:90
Proximální tibie - vlevo	12	88	0:100
Proximální humerus - vlevo	17	83	2:98
Proximální ulna - vlevo	18	82	0:100

DÁRCE č. 5 muž, 19 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	60	40	45:55
Velký trochanter - vpravo	18	82	50:50
Distální femur - vpravo	6	94	32:68
Proximální tibie - vpravo	20	80	0:100
Proximální humerus - vpravo	10	90	45:55
Proximální ulna - vpravo	13	87	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	30	70	35:65
Velký trochanter - vlevo	12	88	45:55
Distální femur - vlevo	25	75	40:60
Proximální tibie - vlevo	13	87	0:100
Proximální humerus - vlevo	15	85	33:67
Proximální ulna - vlevo	22	78	0:100

DÁRCE č. 6 muž, 35 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	15	85	30:70
Velký trochanter - vpravo	8	92	35:65
Distální femur - vpravo	22	78	27:73
Proximální tibie - vpravo	12	88	0:100
Proximální humerus - vpravo	8	92	23:77
Proximální ulna - vpravo	25	75	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	12	88	55:45
Velký trochanter - vlevo	12	88	33:67
Distální femur - vlevo	45	55	35:65
Proximální tibie - vlevo	8	92	8:92
Proximální humerus - vlevo	7	93	15:95
Proximální ulna - vlevo	40	60	0:100

DÁRCE č. 7 muž, 39 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	14	86	52:48
Velký trochanter - vpravo	20	80	35:65
Distální femur - vpravo	12	88	37:63
Proximální tibie - vpravo	10	90	0:100
Proximální humerus - vpravo	7	93	25:75
Proximální ulna - vpravo	27	73	1:99
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	13	87	45:55
Velký trochanter - vlevo	13	87	45:55
Distální femur - vlevo	7	93	32:68
Proximální tibie - vlevo	7	93	0:100
Proximální humerus - vlevo	15	85	15:85
Proximální ulna - vlevo	30	70	0:100

DÁRCE č. 8 muž, 47 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	15	85	28:72
Velký trochanter - vpravo	8	92	13:87
Distální femur - vpravo	12	88	38:62
Proximální tibie - vpravo	10	90	0:100
Proximální humerus - vpravo	12	88	15:85
Proximální ulna - vpravo	30	70	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	35	65	30:70
Velký trochanter - vlevo	12	88	34:66
Distální femur - vlevo	10	90	23:77
Proximální tibie - vlevo	8	92	0:100
Proximální humerus - vlevo	8	92	25:75
Proximální ulna - vlevo	20	80	0:100

DÁRCE č. 9 žena, 35 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	8	92	55:45
Velký trochanter - vpravo	12	88	60:40
Distální femur - vpravo	9	91	24:76
Proximální tibie - vpravo	12	88	0:100
Proximální humerus - vpravo	7	93	12:88
Proximální ulna - vpravo	37	63	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	10	90	52:48
Velký trochanter - vlevo	28	72	25:75
Distální femur - vlevo	9	91	15:85
Proximální tibie - vlevo	7	93	20:80
Proximální humerus - vlevo	8	92	43:57
Proximální ulna - vlevo	9	91	0:100

DÁRCE č. 10 žena, 49 let	**Zastoupení kostní tkáně (%)**	**Zastoupení kostní dřeně (%)**	**Podíl červené ku žluté kostní dřeni (%)**
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vpravo	7	93	60:40
Velký trochanter - vpravo	7	93	44:56
Distální femur - vpravo	7	93	22:78
Proximální tibie - vpravo	6	94	0:100
Proximální humerus - vpravo	9	91	33:67
Proximální ulna - vpravo	15	85	0:100
Hřeben lopaty kosti kyčelní - vlevo	7	93	30:70
Velký trochanter - vlevo	10	90	43:57
Distální femur - vlevo	7	93	54:46
Proximální tibie - vlevo	6	94	0:100
Proximální humerus - vlevo	6	94	23:77
Proximální ulna - vlevo	12	88	2:98