

# EGY KOLLAGÉNALAPÚ VEGYÜLET HATÁSA A HUMÁN ÍNSEJTKULTÚRA ALAKI ÉS MŰKÖDÉSBELI JELLEMZŐIRE

## KLINIKAI JELENTŐSÉG

3/10



Említésre méltó tanulmány

## KÖZVETLEN TERÁPIÁS ÉRTÉK

7/10



Mérsékelt

## TERÜLETI REPREZENTÁCIÓ

3/10



Egy ország bizonyos területét felölölő tanulmány

## BETEGSZÁM

2/10



Kevesebb mint 100 beteg

## MÓDSZERTANI MINŐSÉG

### ABSZOLÚT

6/10



Legalább egy más típusú, kvázi tapasztalati tanulmányból származó evidencia

### RELATÍV

7/10



Átlagos

## CÍM:

Egy kollagénalapú vegyület hatása a humán ínsejtkultúra alakí és működésbeli jellemzőire

## BETEGSÉG:

Elülső megközelítésből végzett, teljes csípőízületi arthroplasticán áteső betegek patológiás elváltozást nem mutató glutealis inait vizsgálták a szerzők

## CÉL:

A makacs laterális csípőfájdalom fő oka a trochanter maior fájdalom szindróma (GTPS). A gluteusizmok tendinopathiája kulcsszerepet játszik ebben a folyamatban. Az MD-Tissue injekció 1-es típusú kollagént tartalmaz, és az inak fiziológiás és patológiás degenerációját hivatott ellensúlyozni. A jelen közlemény szerzői humán glutealis ínsejteken tanulmányozták a készítmény hatását, s különös hangsúlyt fektettek a kollagén-anyagcsere különböző útvonalainak vizsgálatára.

## ELRENDEZÉS:

Megfigyeléses vizsgálat

## VÉGPONTOK:

A végpontok a következők voltak: sejtproliferáció és -migráció (a növekedési görbék és a sebgyógyulási assay vizsgálatával). A kollagénforgalomban részt vevő gének és fehérjék expresszióját valós idejű polimeráz-lánreakció (PCR), Slot blot és SDS-zimográfia segítségével vizsgálták.

## UTÁNKÖVETÉS:

A vizsgálat 72 órán keresztül tartott

## KEZELÉSI PROTOKOLL:

A sejtkultúrákat nem bevont, illetve MD-Tissue-val bevont kamrácskákban, illetve tenyésztőflaskákban tanulmányozták, az adott részvizsgálathoz szüksége további anyagok és technikák használatával (részletesen ld. alább).

## EREDMÉNYEK:

Az MD-Tissue alkalmazása mellett kulturált ínsejtek a kontrollhoz képes fokozott proliferációs arányt és migrációs potenciált mutattak. Az MD-Tissue növelte az 1-es típusú kollagén (COL-1) kiválasztását és a mátrix-metalloproteináz-1 szöveti inhibitorának (TIMP-1) mRNS-szintjét. Mindeközben a kollagén érésében és degradációjában szerepet játszó lizil-hidroxiláz (LH) 2b, és a MMP-1 és -2 szintje nem változott.

## SZERZŐK:

Filippo Randelli, Alessandra Menon, Alessio Gai Via, Manuel Giovanni Mazzoleni, Fabio Sciancalepore, Marco Brioschi, Nicoletta Gagliano

## REFERENCIA:

Effect of a Collagen-Based Compound on Morpho-Functional Properties of Cultured Human Tenocytes. *Cells*. 2018;7(12). pii: E246. doi: 10.3390/cells7120246.

## NOTA BENE...

**Az eredmények egészében arra utalnak, hogy az MD-Tissue a proliferáció, a migráció és a COL-I-szintézis serkentésével az ínszövetek anabolikus fenotípusát segíti, s ez kedvez az ínszövetek reparációjának. Ami a glutealis ínszövetekre gyakorolt hatását illeti, a szer használata javíthat a GTPS kezelésével kapcsolatos kiábrándító eredményeken, de hogy mennyiben, azt még szigorú és alapos klinikai vizsgálatoknak kell tisztázni.**

## A VIZSGÁLAT KÖVETKEZTETÉSEI

Ezek az *in vitro* eredmények arra utalnak, hogy az MD-Tissue valószínűleg afféle mechanikus váz, amely az anabolikus fenotípus irányába tereli az ínszöveteket, és segíti az ín homeosztázisát és reparációját. Ismert, hogy a savoldékony I-es típusú kollagén a fibroblaszt-sejtkultúrákban szintén befolyásolja a kollagén-anyagcserét, ugyanis a kollagén egy része kikerül az oldatból, és a sejtfelszínen kicsapódik. Ez arra utal, hogy már a kis mechanikus rezisztencia is elég a sejtreceptorok aktiválásához. A szerzők azt feltételezik, hogy az MD-Tissue hatása részben ezen az alternatív mechanizmuson keresztül valósul meg. Az eredmények szerint az MD-Tissue injekció új kezelési alternatíva lehet, és hamarosan olyan klinikai vizsgálatok fognak indulni, amelyek e vegyület a bonyolult ínpatológiák kezelésében mutatott hatékonyságát tanulmányozzák. A szerzők azzal a hírrel zárják közleményüket, hogy már terveznek egy, a GTPS kezelését tanulmányozó klinikai vizsgálatot.

## ÉRTÉKELÉS

A tendinopathia az ínak krónikus és fájdalmas betegsége, amely szövettani változásokkal jár, a kollagénrostok dezorganizációjával, megnö az ín proteoglikán- és glükózamin-glikán-tartalma, növekszik a nem kollagén jellegű extracelluláris mátrixkomponensek mennyisége, továbbá hipercellularitás és neovascularisatio tapasztalható. A tendinopathiás fájdalom nagyon gyakran rokkantsághoz vezet. A trochanter maior körül tapasztalható fájdalmat korábban a bursitisnek tulajdonították, de különböző vizsgálatok sze-

rint a zavart leginkább a gluteus medius és minimus tendinopathiája okozza, ez az, ami mostanában trochanter maior fájdalom szindróma néven ismert (GTPS). GTPS esetén a trochanter maior körül fájdalom és érzékenység jelentkezik járáskor, lépcsőzések, illetve az érintett oldalon való fekvéskor. Noha a betegség gyakori, kevés gyógy módja létezik, és a kezelések inkább a tapasztalatokon alapulnak, így nagy az érdeklődés az íngyógyulást javító biológiai vagy regeneratív terápiák, például a vérlemezkékben gazdag plazma (PRP) vagy hialuronsav adása iránt.

A GTPS vagy egyéb eredetű tendinopathiák kezelése továbbra is nagy probléma a klinikusoknak, hiszen a patogenezis továbbra sem egyértelmű, és sok kezelés nélkülözi a valós bizonyítékokat. A GTPS ellátása elsősorban konzervatív, nyugalmat, jeges pakolást, NSAID szereket, fizioterápiát és helyi kortikoszteroid injekciókat javasolnak. Mostanában azonban találtak némi bizonyítékot arra, hogy a glutealis tendinopathia kezelhető fizikai aktivitáson alapuló programokkal is. Egy nemrégiben kelt szisztematikus összefoglaló szerint (Sheo és munkatársai, 2018) a kortikoszteroid injekciók rövid távon csillapítják a fájdalmat, azonban hosszú távú előnyhöz nem vezetnek. Kedvező eredményekről számoltak be az extracorporalis lökéshullám kezeléssel kapcsolatban (ESWT), azonban az említett tanulmányok evidenciaszintje alacsony, s eddig a szakirodalomban nem jelent meg I-es szintű bizonyíték. A PRP-kezeléssel foglalkozó egyetlen vizsgálat szerint (Fitzpatrick és munkatársai, 2018) 12 hét múltán nagyobb mértékben csökkent a fájdalom a PRP mellett, mint a kortikoszteroid injekciók adásakor. Andia és Maffulli 2018-as vizsgálata ígéretes eredménye-

ket közölt az autológ tenocyták injekciókkal kapcsolatban.

Az ínak mechanikai tulajdonságai a főként I-es típusú kollagént tartalmazó extracelluláris mátrix szerkezetétől és összetételétől függenek. A tenocyták és a kollagénrostok közé vegyülő inspecifikus fibroblasztok felelnek az ín szerkezetéért és metabolikus aktivitásáért.

Az MD-Tissue standard molekulásúlyú, tiszta termék, amelynek fizikokémiai jellemzői garantálják a biztonságos klinikai felhasználást. A kezelés során nem észleltek mellékhatást, allergiás reakciót, illetve gyógyszerkölcsönhatást. Az MD-Tissue-hoz hasonló, kollagénalapú MD-Knee a 6 hónapos kezelés során jól tolerálhatónak bizonyult, és nem észleltek szisztémás kedvezőtlen eseményeket, illetve szeptikus szövődeményeket.

A jelen vizsgálat *in vitro* körülmények között tanulmányozta a fő alkotóeleme-ként sertéskollagént tartalmazó orvostechnikai eszköz, az MD-Tissue hatását a humán tenocytákra, különös figyelmet fordítva a kollagénhálózat útvonalaire és molekuláris mechanizmusaira.

A szerzők vizsgálata szerint az MD-Tissue az ínszövetek proliferációjának és migrációjának fokozásával, valamint a COL-I szintézisének, szekréciójának és érésének serkentésével elősegíti az ín reparációját.

Az ín extracelluláris mátrixának zömét az I-es típusú kollagén adja (60–85%), illetve 1–2%-ban az elasztin. A kollagén és az elasztin egy proteoglikánokban, glükózamin-glikánokban, strukturális glükoproteinekben és egyéb kis molekulákban gazdag alapba van beágyazva, amelyek vízkötő kapacitásuk révén hozzájárulnak az ín szerkezetének stabilitásához. A tenocyták a kollagénrostok közé ágyazódnak az ín hossz tengelye mentén, és ezek irányítják a kollagén és az extracelluláris mátrix összes komponensének szintézisét és lebontását. Ezenkívül mechanoszenzorként kulcsszerepet visznek az ín adaptív válaszában, és az ínrható mechanikai erők függvényében változtatják metabolikus aktivitásukat, befolyásolják az extracelluláris mátrixelemek génexpresszióját, s ily módon meghatározzák az ín mechanikai sajátságait. A megfelelő mechanikai terhelés az ín adaptációjához vezet, anabolikus hatások jelentkeznek, nő az ínak állóképessége és a sérülést követő gyógyulási hajlama.

Az adatok arra utalnak, hogy az MD-Tissue az I-es típusú kollagén szekrécióját minden vizsgált időpontban szignifikáns mértékben serkentette, tehát a

kezelés képes elősegíteni a tenocyták anabolikus fenotípusának a megjelenését. Az újonnan szintetizálódott kollagénben keresztkötések jönnek létre, ez fontos követelménye a kollagén érésének. Az MD-Tissue nem befolyásolta a keresztkötések létrejöttéhez szükséges LH2b géneexpresszióját, és ez azt sugallja, hogy nincs hatással a kollagén stabilitására.

Mivel a kollagéntartalom a szintézis és mátrix metalloproteinázok által irányított degradáció finom egyensúlyán múlik, az ín erőssége nagymértékben függ a lebontási útvonalaktól. Az 1-es típusú kollagén lebontását az MMP-1 irányítja. Az MMP-1 gén/fehérje expressziója és az ínra ható mechanikai terhelés inverz összefüggésben állnak egymással. Az MMP-1 alacsony szintje stabilabb és kevésbé érzékeny inaktív állapothoz vezet. A mátrix metalloproteinázok aktivációját és aktivitását a TIMP szabályozza, és a TIMP-1 az MMP-1 fő gátló anyaga. A szerzők azt tapasztalták, hogy az MMP-1 és az MMP-2 szintjét nem befolyásolta az MD-Tissue, azonban 24 óra elteltével a TIMP-1 géneexpressziójában szignifikáns emelkedést észleltek, és 72 óra elteltével további upreguláció mutatkozott. Ez alapján felvetették, hogy az MD-Tissue képes növelni a tenocyták kollagénszintézisét, így nő az ín kollagéntartalma, és a kollagénmennyiség szaporodása a degradáció gátlásának köszönhető.

Az egyes fibroblasztsejtvonalak között némi eltéréseket tapasztaltak a szerzők, főleg az LH2b RNS, a mátrix metalloproteinázok, illetve TIMP-1 RNS tekintetében: bizonyos tenocyták esetében nem változott az expresszió, mások esetében pedig fokozódott vagy csökkent. Phipps és munkatársai 1997-ben hasonló jelenséget közöltek a gingivális fibroblasztokkal kapcsolatban, és ezek alapján felvetették a „sejt-alpopulációs elméletet”, amely szerint az ín fibroblasztjai különböző alcsoportokból állnak, amelyek a külső vagy endogén ingerekre eltérő módon reagálnak. A fibroblasztok heterogenitásáról mostanában is közöltek adatokat (Archana és munkatársai, 2014). Mindezek alapján a jelen közlemény szerzői úgy vélik, hogy a jelenség a más szövetekből, például a tenocytákból származó fibroblasztokra is érvényesek lehetnek.

Az extracelluláris mátrix homeosztázisát az ínra ható mechanikai erők is befolyásolják, s a mátrix remodellingjében és alkalmazkodásában fontos szerepet játszanak a tenocyták. Ezek az aktin cytoskeletonon alapuló mechanikai átvitel

keresztül képesek érzékelni a környezet változásait. Mivel a mechanikai átvitel, az aktin cytoskeleton elrendezése és integritása fontos tényező az extracelluláris mátrix egyensúlyának a fenntartásában, a szerzők azt is megvizsgálták, hogy az MD-Tissue hat-e az aktin sejtvázra. Az aktinfilamentumok mindkét kísérleti elrendezés mellett fényesen festődtek, és hosszanti lefutást mutattak az insecytekben, ami arra utal, hogy az MD-Tissue nem befolyásolja a mechanoreszponzív funkciókat.

A cytoskeleton aktív szerepet játszik a sejtek migrációjában is. A sejtek és az extracelluláris mátrix közötti kötődést a transzmembrán fehérjék közé tartozó integrinek segítik, amelyek olyan hidat képeznek, amelyen keresztül a sejt belseje és a külvilág között megvalósulhat az erőátvitel. A fokális adhéziók nemcsak a mechanikai erőátvitelben játszanak szerepet, de ezek következtében jön létre az a húzóerő is, amely a sejtek migrációjához vezet. A szerzők sebgyógyulási assay segítségével vizsgálták, hogy a tenocyták mozgásképességét befolyásolja-e az MD-Tissue, s azt tapasztalták, hogy a kezelés szignifikáns mértékben serkentette a sejtek migrációját. A fokális adhéziók létrejöttében fontos szerepet vivő fokális adhéziós kináz (FAK) és a vinculin (VCN) géneexpressziója, valamint az aktin cytoskeleton szerkezete nem mutatott eltérést a két elrendezés között, azonban a VCN-expresszió immunfluoreszcenciás elemzése azt mutatta, hogy az MD-Tissue-val kezelt sejtvonalak fokális adhézióban nagyobb valószínűséggel van jelen a VCN, mint a nem kezeltéknél. Ez alapján a szerzők úgy vélik, hogy az MD-Tissue afféle mechanikai vázként szolgál, amely serkenti a fokális adhéziók létrejöttét és a sejtek migrációs képességét. Mivel az inak reparációja és regenerációja a tenocyták migrációjától függ, így az MD-Tissue a különféle tendinopathiákban elősegítheti az ín gyógyulását, azonban ezt az elméletet klinikai vizsgálatokkal is igazolni kell – vélik a szerzők.

### **A vizsgálat módszertani előnyei**

A szerzők nem említik.

### **A vizsgálat módszertani korlátai**

Nem készültek az MD-Tissue tartósságával, állékonyásával, illetve reológiai és viszkóelasztikus sajátágaival kapcsolatos vizsgálatok, azonban egyes klini-

kai tanulmányok arról adnak hírt, hogy ez a kollagénalapú orvostechikai eszköz hatékony az osteoarticularis betegségek kezelésében.

### **Más jelentős tanulmányokhoz való viszonya**

Lásd az előző szövegrészben.

## **EREDMÉNYEK**

*Sejtprolifерáció.* A sejtek proliferációját növekedési görbék segítségével értékelték, amelyek szerint a nem bevont, illetve az MD-Tissue-val bevont lemezekben tenyésztett sejtek 24, illetve 48 óra múltán egyforma számnövekedést mutattak. Ezzel szemben 72 óra múltán az MD-Tissue-val kezelt sejtek száma szignifikáns növekedést mutatott.

*A kollagénházttartással összefüggő gének és fehérjék expressziója.* Mivel többféle módon lehet tenocytát izolálni az inból, így a nyert sejtpopuláció a teljesen kiértelt, illetve a progenitor sejtek különféle arányát mutathatja. A szerzők elsőként a mintáik heterogenitását vizsgálták, a mesenchymalis őssejt egyik markerének, a Nanognak az expresszióját nézték, pozitív kontrollként pedig zsírszöveti őssejteket (ACS) használtak. A vizsgált sejtkultúrák egyikében sem jelent meg a Nanog, az ACS esetében viszont nagymértékben expresszáldott, és ez arra utal, hogy a jelen vizsgálatban használt sejtek zömében differenciálódott tenocyták voltak.

A kollagén érését az újonnan szintetizálódott kollagén keresztkötéseiért felelő LH2b géneexpresszióját mérve vizsgálták (valós idejű polimeráz-lánreakció, PCR segítségével). Az LH2b mRNS-szintjét egyetlen vizsgálati időpontban sem befolyásolta az MD-Tissue adása. A Slot blot vizsgálat azt mutatta, hogy a COL-I fehérje szintje az MD-Tissue mellett szignifikáns mértékben nőtt mindhárom vizsgált időpontban (24 h: +25%, 48 h: +19%, 72 h: +18%). Egy újabb Slot blot segítségével azt is igazolták, hogy a kollagéneexpresszió nem a tenyésztőlemezek bevonatában lévő kollagénből eredt. A COL-III fehérje szintje hasonlóan alakult mindkét csoportban.

A kollagénebontás elemzése szerint az MMP-1 szintje és az MMP-2 aktivitása mindkét vizsgálati ágba hasonló volt, az MMP-1 fő gátló molekulájának, a TIMP-1-nek a géneexpresszióját ezzel szemben szignifikáns mértékben befolyásolta az MD-Tissue. A géneexpresszió

24 óra után szignifikáns upregulációt mutatott, s ugyanez történt 72 óra múltán is. A mátrix metalloproteinázok és a TIMP-1 mRNS-ének expressziója némi eltérést mutatott a minták között. Az MD-Tissue mellett tenyésztett sejtvonalak esetében 72 óra múltán erős kapcsolatot észleltek az MMP-1 fehérje szintje és a TIMP-1 génextpressziója között.

*A cytoskeleton elrendeződése és a fokális adhézió.* Az F-aktin fluoreszcens mikroszkópiás elemzése szerint az aktinfilamentumokat nem befolyásolta az MD-Tissue. Mindkét kísérleti elrendezésben hosszú szálcák keletkeztek, és

zömében hosszanti irányban rendeződtek a citoplazmában. Azt kiderítendő, hogy az MD-Tissue befolyásolja-e a tenocyták azon képességét, hogy sejtmigrációhoz szükséges fokális adhéziókat képezzenek, a szerzők az adhéziós plakkok létrejöttében szerepet játszó két kulcsfehérje, a VCN és a FAK génextpresszióját vizsgálták. A VCN és a FAK mRNS-szintje mutatott ugyan némi egyének közötti különbséget, mindazonáltal nem befolyásolódott az MD-Tissue-kezelés által. A VCN immunfluoreszcenciás vizsgálata megmutatta, hogy a fehérje az adhézióképződés során az aktinnal együtt loka-

lizálódik, és mindkét kísérleti elrendezés mellett sok fokális adhéziót észleltek. A fokális adhéziót mutató területek nagyon gyakran nagyobbak voltak az MD-Tissue-val kezelt sejt kultúrákban.

*Sebgyógyulási assay.* A szerzők ennek segítségével tanulmányozták az MD-Tissue-n tenyésztett sejtek migrációs képességét. A sebzés („scratch”) méretének összehasonlítása azt mutatta, hogy az MD-Tissue mellett szignifikáns mértékben nő a migráció.

(Összefoglalta: dr. Schäfer György)

## MÓDSZEREK

### Kérdésfelvetés, cél

A tendinopathia az inak krónikus és fájdalmas betegsége, amely szövettani változásokkal jár, úgymint a kollagénrostok dezorganizációja, továbbá megnő az ín proteoglikán- és glükózamin-glikán-tartalma, növekszik a nem kollagén jellegű extracelluláris mátrixkomponensek mennyisége, valamint hipercellularitás és neovascularisatio tapasztalható. A tendinopathiás fájdalom nagyon gyakran rokkantsághoz vezet. A trochanter maior körül tapasztalható fájdalmat korábban a bursitisnek tulajdonították, de különböző vizsgálatok szerint a zavart leginkább a gluteus medius és minimus tendinopathiája okozza, ez az, ami mostanában trochanter maior fájdalom szindróma néven ismert. GTPS esetén a trochanter maior körül fájdalom és érzékenység jelentkezik járáskor, lépcsőzészkor, illetve az érintett oldalon való fekvéskor. Noha a betegség gyakori, kevés gyógy módja létezik, és a kezeléseink inkább a tapasztalatokon alapulnak, így nagy az érdeklődés az íngyógyulást javító biológiai vagy regeneratív terápiák, például a vérlemezkékben gazdag plazma (PRP) vagy hialuronsav adása iránt.

A GTPS- vagy egyéb eredetű tendinopathiák kezelése továbbra is nagy probléma a klinikusoknak, hiszen a patogenézis továbbra sem egyértelmű, és sok kezelés nélkülözi a valós bizonyí-

tékokat. A GTPS ellátása elsősorban konzervatív, nyugalmat, jeges pakolást, NSAID szereket, fizioterápiát és helyi kortikoszteroid injekciókat javasolnak. Mostanában azonban találtak némi bizonyítékot arra, hogy a glutealis tendinopathia kezelhető fizikai aktivitáson alapuló programokkal is. Egy nemrégiben kelt szisztematikus összefoglaló szerint a kortikoszteroid injekciók rövid távon csillapítják a fájdalmat, azonban hosszú távú előnyhöz nem vezetnek. A PRP-kezeléssel foglalkozó egyetlen vizsgálat szerint 12 hét múltán nagyobb mértékben csökkent a fájdalom a PRP mellett, mint a kortikoszteroid injekciók adásakor.

Az inak mechanikai tulajdonságai a főként 1-es típusú kollagént tartalmazó extracelluláris mátrix szerkezetétől és összetételétől függenek. A tenocyták és a kollagénrostok közé vegyülő inspecifikus fibroblasztok felelnek az ín szerkezetéért és metabolikus aktivitásáért.

Az MD-Tissue standard molekulasúlyú, tiszta termék, amelynek fizikokémiai jellemzői garantálják a biztonságos klinikai felhasználást. A kezelés során nem észleltek mellékhatást, allergiás reakciót, illetve gyógyszerkölcsonhatást. Az MD-Tissue-hoz hasonló, kollagénalapú MD-Knee a 6 hónapos kezelés során jól tolerálhatónak bizonyult, és nem észleltek szisztémás kedvezőtlen eseményeket, illetve szeptikus szövdményeket.

A jelen vizsgálat *in vitro* körülmények között tanulmányozta a fő alkotóeleme-ként sertéskollagént tartalmazó orvostechnikai eszköz, az MD-Tissue hatását a humán tenocytákra, különös figyelmet fordítva a kollagénháztartás útvonalaira és molekuláris mechanizmusaira.

### Beválasztási kritériumok

A vizsgálatba olyan 18–73 éves személyek kerülhettek be, akiknél teljes csípőízületi arthroplasticát végeztek. A kizárási kritériumok a következők voltak: a trochanter maior tendinopathiája; genetikus kollagénzavarok; az érintett csípő spondylarthritis; arthritis psoriatica; gyógyszer-, illetve alkoholadickció; pszichiátriai zavar; a műtéti beavatkozás eredményét, illetve az utánkövetést befolyásoló klinikai állapot; terhesség, szoptatás; diabetes mellitus; fluorokinolon-kezelés a műtétet megelőző 30 napon.

### Vizsgálati protokoll

Teljes csípőízületi arthroplasticára kerülő és glutealis ínpatológiát nem mutató 8 betegről vettek ínmintákat. A kimetszett inak középső, a normál kötőszövet sűrű szerkezetű részét használták a vizsgálatban.

A sejt kultúrákat nem bevont, illetve MD-Tissue-val bevont kamrácskákban, illetve tenyésztőflaskákban tanulmányozták, az adott részvizsgálathoz szükséges további anyagok és technikák használatával.

### **Utánkövetés**

A vizsgálat 72 órán keresztül tartott.

### **A végpontok és a szövődmények minősítése**

A végpontok a következők voltak: sejtproliferáció és -migráció (a növekedési görbék és a sebgyógyulási assay

vizsgálatával). A kollagénháztartásban részt vevő gének és fehérjék expresszióját valós idejű polimeráz-láncreakció, Slot blot és SDS-zimográfia segítségével vizsgálták.

*Statisztikai elemzés.* Az elemzést a GraphPad Prism szoftver 6.0 verziójával végezték. Az adatok mindig két

megismételt kísérletből származtak, és átlag±standard eltérésként szerepeltek. A csoportok összehasonlítására független mintás, kétutas t-próba szolgált. Szignifikánsnak minősültek a 95%-os konfidenciaszint és <5% p-érték mellett észlelt különbségek.