# A vázizom válaszreakciói végtaghosszabbításra

Doktori értekezés

**Dr. Pap Károly**

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. med. habil. Szőke György egyetemi docens, MSc. (Oxon), PhD.

Hivatalos bírálók: Dr. Puskár Zita tudományos munkatárs, Ph.D.
Dr. Szerb Imre főorvos, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Prof. Dr. Vízkelety Tibor
Szigorlati bizottság tagjai Prof. Dr. Bender György
Prof. Dr. Krakovits Gábor

Budapest
2008

*Családomnak*

# Tartalomjegyzék


**1. BEVEZETÉS ..... 5**

1.1. A VÉGTAGHOSSZABBÍTÁS RÖVID TÖRTÉNETE ..... 5
1.2. VÉGTAGHOSSZABBÍTÁS JAVALLATAI ÉS ELLENJAVALLATAI ..... 7
1.3. VÉGTAGHOSSZABBÍTÁS SZÖVŐDMÉNYEI ..... 10
*1.3.1. Izomkontraktúra ..... 12*
*1.3.2. Ízületi luxatio ..... 14*
*1.3.3. Tengelyeltérés ..... 15*
*1.3.4. Egyéb szövődmények ..... 15*
1.4. MORFOLÓGIAI ELVÁLTOZÁSOK A HARÁNTCSÍKOLT IZOMBAN VÉGTAGHOSSZABBÍTÁS SORÁN ..... 18
*1.4.1. Degeneratív izomelváltozások ..... 18*
*1.4.2. Regeneratív izomelváltozások ..... 20*
1.5. HARÁNTCSÍKOLT IZOM FEJLŐDÉSE ..... 25
1.6. SZATELLITSEJT ..... 28
1.7. HARÁNTCSÍKOLT IZOM SZERKEZETE ..... 32

**2. CÉLKITŰZÉSEK ..... 35**

**3. MÓDSZEREK ..... 37**

3.1. ANAESTHESIA ..... 38
3.2. MŰTÉTTECHNIKA ..... 40
3.3. POSZTOPERATÍV GONDOZÁS ..... 43
3.4. A HOSSZABBÍTÁS PROTOKOLLJA ..... 43
3.5. AZ ÁLLATOK ELŐKÉSZÍTÉSE A SZÖVETTANI MINTAVÉTELHEZ ..... 44
3.6. IMMUNHISZTOKÉMIA ..... 45
3.7. SZÖVETTANI ELVÁLTOZÁSOK ELEMZÉSE ..... 47
3.8. HUMERUS HOSSZABBÍTÁSON ÁTESETT BETEGEK ADATAI ..... 51

**4. EREDMÉNYEK ..... 54**

4.1. HISTOPATHOLÓGIAI VIZSGÁLATOK EREDMÉNYEI ..... 54
4.2. IMMUNHISZTOKÉMIAI VIZSGÁLAT EREDMÉNYEI ..... 61
4.3. HUMERUS HOSSZABBÍTÁS EREDMÉNYEI ..... 64

**5.MEGBESZÉLÉS ..... 66**

5.1. HISTOPATHOLÓGIAI ELVÁLTOZÁSOK ELEMZÉSE ..... 66
5.2. SEJTPROLIFERÁCIÓS EREDMÉNYEINK ELEMZÉSE ..... 68
5.3. HUMERUS HOSSZABBÍTÁS EREDMÉNYEINK ELEMZÉSE ..... 69

**6.KÖVETKEZTETÉSEK ..... 73**

**7. ÖSSZEFOGLALÁS ..... 75**

**8. SUMMARY ..... 77**

**9. IRODALOMJEGYZÉK ..... 78**

**10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE ..... 89**

10.1. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK ..... 89
10.2. TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK ..... 90

**KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS ..... 92**

# Rövidítések jegyzéke

BrdU: bromodeoxyuridin

Bu20a: egérben termelt anti- bromodeoxuridin monoklonális antitest

c-met: HGF tirozin-kináz receptora

DAB: 3,4,3',4'- tetrabipheninyl hydrocitrát

DNS: dezoxi-ribonukleinsav

FDL: musclus flexor digitorum longus

G1: 1. csoport - 4 felnőtt állat lábán napi 0,8mm-t nyújtottunk

G2: 2. csoport - 5 felnőtt állat lábán napi 1,6mm-t hosszabbítottunk két részletben

G3: 3. csoport - 5 fiatal állat lábán napi 0,8mm-t hosszabbítottunk

G4: 4. csoport - 4 fiatal állat lábán 1,6mm-t hosszabbítottunk két részletben

G5: 5. csoport - 2 felnőtt áloperált nyúl

G6: 6. csoport - 3 fiatal nyúl áloperált nyúl

HGF/SF: Hepatocita növekedési faktor/ Scatter faktor

ISKD: Intramedullary Skeletal Kinetic Distractor

MTJ: myo-tendinosus junctio

Mrf4: muscle regulatory factor 4 transzkripciós faktor

Myf5: myogenic determination factor 5

MyoD: myogen regulatory factor D

NO: nitrogén oxid

NOS-Iμ: nitrogén-oxid szintáz Iμ

Pax3: paired box gene 3

Pax7: paired box gene 7

PBS: foszfát pufferes oldat (Phosphate buffer solution)

PCNA: Proliferating Cell Nuclear Antigen

PSI: Positive Staining Index

# 1. Bevezetés

## 1.1. A végtaghosszabbítás rövid története

A végtaghosszabbítás alapjait Alessandro Codivilla a bolognai Rizzoli Intézet igazgatója fektette le. 1905-ben jelent meg e témában első angol nyelvű publikációja. Ő elsősorban a femur hosszabbításával foglalkozott. Munkája során számos – nem egyszer katasztrofális – szövődmények megjelenését észlelte. Az elmúlt több mint 100 évben számos szemszögből vizsgálták és fejlesztették ezt a technikát. Codivilla utódja, Vittorio Putti (1921) alkalmazott először Z osteotomiát femuron hosszabbítás előtt. Az osteotomia e fajtáját később elvetették, de lényeges újítása a fokozatos nyújtás bevezetése volt.

Abbot (1927) a tibia hosszabbítás technikáját fejlesztette ki és megpróbálta tökéletesíteni Codivilla technikáját, azonban a kezdeti lelkesedés a gyakori és súlyos szövődmények előfordulása miatt csökkent a hosszabbítás népszerűsége (Coleman 1978).

Wagner 1971-ben írt közleményében az unilaterális fixateurt és a progresszív végtagnyújtást részesítette előnyben. Módszerének „mellékhatása” – ként észlelte, hogy a gyors nyújtás során nem képződött elég erős callus, ezért csont graftot és lemezt kellett alkalmaznia.

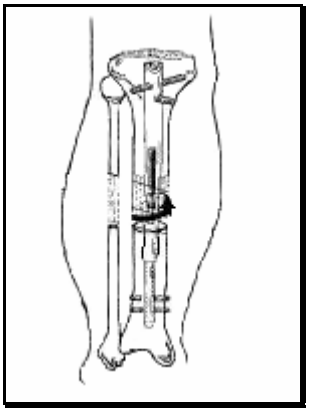
Ilizarov (1989a, 1989b, 1992) alkalmazta először hosszabbításra a gyűrűfixateurt. A készülék – eredetileg – két fémgyűrűből (ez az úgynevezett „gyűrűfixateur”), Kirschner-drótokból (amelyek a gyűrűket a csontokhoz rögzítik) és fémrudakból állt. Lényeges újítása volt, hogy nem végzett teljes osteotomiát, hanem csak corticotomiát. Tanulmányában leírta, hogy a lassú nyújtás (4x0,25mm/nap) nem töri meg a képződő callust, és véleménye szerint

még serkenti is a szöveti regenerációt. A corticotomia jelentőségét abban látta, hogy az endostealis keringés nem károsodik.

Az eredeti Wagner metódust De Bastiani (1987) fejlesztette tovább. A módszer újdonsága volt, hogy az osteotomia után a nyújtást halasztva (14 nap latenciával) kezdik. Ez idő alatt a csontvégeket komprimálják, ameddig a callus kialakul, amit később nyújtanak. A callus a hosszabbítás alatt fokozatosan elcsontosodik. E folyamat miatt – ami a módszer igazi előnye – nincs szükség későbbi csont graft beültetésre. A callotasis a callus nyújtását jelenti, a tasis a Görög teino (nyújtani) szóból ered.

Yasui (1993) véleménye szerint csak teoretikus jelentősége van a corticotomiának, mert a klinikai gyakorlatban igen körülményes csak a copmacta átmetszése. Bármilyen óvatos is a sebész az anterio, a medio- és a lateralis cortex átfűrészelésénél, a hátsó csontfal gyengítése közben szinte minden esetben sérülnek az intramedulláris erek. Tanulmányában rámutatott arra, hogy haránt osteotomiával hasonlóan kedvező eredmény érhető el, abban az esetben, ha periosteumot megkímélik és a hosszabbítást halasztva kezdik el. Delloy (1990) kutyákon végzett kísérletei alapján nem talált különbséget a corticotomia és a haránt osteotomia után a callus képződésben és a csontgyógyulásban.

A hosszabbító készülékek fejlődése az intramedulláris irányba mutat. Egy orlandoi munkacsoport (Cole 2001) által kifejlesztett ISKD készüléké (Intramedullary Skeletal Kinetic Distractor) lehet a jövő (1. ábra). Egyelőre még kipróbálás alatt van, és csak felnőtteken tesztelik. A szerkezet három észből áll. A reteszelhető distalis és proximalis rész között található egy menetes, teleszkópos rész, amely a végtag nyújtását teszi lehetővé. A nyújtást vizsgálatokban számítógép vezérli (Hankemeier 2004), amely segítségével még jobban tervezhetővé vált a végtaghosszabbítás.



1.ábra: ISKD vázlata (Cole 2001)

Az első publikált felkarhosszabbítást 1976-ban Dick (1978) végezete. A humerus hosszabbítására lényegesen ritkábban kerül sor, mint a femur vagy a tibia korrekciójára (302 végtaghosszabbítás közül mindössze 8 történt a felkaron (Vízkelety és Kiss, 2003). Az eltelt három évtizedben az angol nyelvű irodalomban alig több mint száz beteget említenek, noha a felkar rövidülése nem olyan ritka (Honsy 2005, Janovec 1991, Lee 2005). A nyolcvanas évekre a callotasis (callus-distractio) bevezetése és a hosszabbító készülékek technikai fejlődése teremtette meg lehetőségét a felkar rövidülések jó eredményű korrekciójára (DeBastiani 1985, Ilizarov 1989a). Korábban 14 achondroplasiás végtag-rövidüléses betegen végeztünk lábszár és combhosszabbítást jó eredménnyel. Érdekes, hogy ezek közül a betegek közül egy sem kívánta a jelentős felkar rövidülés ellenére a humerus hosszabbítást.

A technika fejlődésével egyre szélesebb körben alkalmazták a végtaghosszabbítást. A korábbi kísérletes és klinikai adatok alapján a figyelem a technika és az eszközök tökéletesítése felől, egyre inkább a nyújtást követő szövődmények elhárítása felé terelődött.

## 1.2. Végtaghosszabbítás javallatai és ellenjavallatai

Az elmúlt több mint 50 évben a végtaghosszabbítás technikai és diagnosztikai háttere jelentős fejlődésen ment keresztül. Ezen időszak alatt a mozgásszervi sebészek hozzáállása a végtaghosszabbításhoz igen hullámzó volt.

Az a számos probléma, amely a végtaghosszabbítás atyjai előtt felmerült betegeik kezelése közben, az évek során a kutatási eredményeknek köszönhetően részben kiküszöbölhetővé, megelőzhetővé vált. Mára a végtaghosszabbítás kellő technikai és tudományos háttérrel rendelkező területté fejlődött, amely a megfelelő körülmények között alkalmazva egy eredményes és hatásos műtéti technika.

A végtaghossz-különbség nemcsak esztétikai probléma, hanem sokkal inkább a szervrendszer funkcionális működését akadályozó eltérés. A rövidebb alsóvégtag oldalán a testtartás nem megfelelő, ami energiavesztéshez vezethet, és háti fájdalmat okozhat a kiegyenlítetlen oldalterheltség miatt.

E probléma ritákbban merül fel felsővégtag rövidülés esetén. Mivel ez a végtag emberben nem teherviselő, ezért az enyhe rövidülés a betegek döntö többségénel nem befolyásolja életminőséget (Des Gachons és mtsai, 1982). Csak a súlyos funkció és/vagy kozmetikai defektussal járó esetekben igénylik a korrekciót (Lee és mtsai, 2005).

A végtaghossz különbség kialakulásának számos oka lehet: trauma, fertőzés, physiszavar, a csont tumoros vagy tumorszerű elváltozásának következménye. Mindezek aszimmetrikus növekedési viszonyokat idéznek elő.

A kezelés céljai között első helyen szerepelnek a kiegyenlített, mindkét oldalon azonos mértékben terhelhető medence és gerinc, a közel egyenlő végtaghossz és egy helyes mechanikai terheltségű középtengely kialakítása.

A humerus hosszkorrekciója esetén a döntő szempont a beteg önellátási képességének és a személyi higéniájának javítása. Csak e szempontok figyelembe vétele mellett lehet a kozmetikai szempontokat mérlegelni.

A kezelés személyre szabottan kell, hogy történjék, figyelembe véve többek között a beteg személyiségét, szokásait, a valódi- és csontkorát, az adott és a tervezett végtaghosszát, a páciens becsült felnőttkori tömegét, a végtaghossz-különbség eredetét, illetve okát, továbbá a beteg és a családja szociális, illetőleg pszichés hátterét valamint a beteg compliance-t.

Javallatok:

- Veleszületett eltéréseknél:
  - Achondroplasia
  - Congenitális pseudoarthrosis
  - Costitutionalis kis- vagy alacsonynövés
  - Turner syndroma
- Csonttumor
- „Görbe láb” a következő eseteknél:
  - Renalis rachitis
  - Epiphisaer dysplasia
  - Enchondroma
  - Chondrodysplasia
- Traumás vagy fertőzéses eredetű többszörös törés
- Törés utáni hyper- vagy hypovascularisatio
- A physis zavarai
- Aszimmetrikus viszonyok, mint például poliomyelitisben, vagy agyi eredetű bénuláskor
- Tumoros, vagy idiopátiás eredetű hypo- vagy hyperplasia
- Postoperativan fellépő osteomyelitis
- Posttraumás rövidülés, tengelyeltéréssel vagy esetleg anélkül
- A tibia nem egytengelybeli eltéréseinek rögzítése (Ilizarov technikájával)
- Infectios pseudoarthrosis
- Csonttranszport komplex töréseknél

Ellenjavallatok:

- Hiányzó együttműködés
- Visszatérő osteomyelitis
- Osteogenesis imperfecta
- Ízületi instabilitás

## 1.3. Végtaghosszabbítás szövődményei

Sajnos még mindig keveset tudunk arról, hogy a végtaghosszabbítás milyen hatással van a csontkörüli lágyrészekre. Az egyik leggyakrabban előforduló – és olykor igen súlyos szövődmény – az izomkontraktúra és/vagy a nyújtott csonthoz közeli ízület subluxatioja. Ennek alapja az izmok, inak és a fasciák gyenge alkalmazkodó képessége a hosszabbításhoz (Abbot 1927).

Compere (1936) először rendszerezte a hosszabbítás szövődményeit. Felismerte, hogy a nyújtás nem csak a csontra hat, hanem az egész végtagra, mint egységes biológiai rendszerre. Három szövődmény csoportot határozott meg

1.) túlnyújtás
2.) hosszabbított csont részek vérellátási zavara
3.) elégtelen rögzítés.

Paley (1990) és Price (1990) szerint a modern Ilizarov és Orthofix készülékek alkalmazása ugyan nem teljesen küszöbölte ki a szövődményeket, de lehetővé tette, hogy a kitűzött célok az esetek döntő többségében elérhetőek legyenek. Lényeges megemlíteni, hogy a lágyrészek jó funkciójának megőrzése nem minden esetben tartozik az elérendő célok közzé. Paley (1988, 1990) a hosszabbítás során felmerülő komplikációkat szintén három csoportba osztotta:

1.) konzervatívan kezelhetők
2.) operatív korrekció szükséges
3.) maradandó szövődmények.

Sproul és Price (1992a, 1992b) szerint ezek az osztályozási rendszerek igen hasznosak, de alkalmazásuk bonyolult és ez „csökkenti” értéküket. Véleményük szerint a különböző hosszabbítási technikákat és eszközöket nem lehet összehasonlítani egységes komplikációt osztályozó rendszer nélkül. Ezért

alkották meg a sajátjukat, ami fő (major) és mellék (minor) komplikációkat tartalmazott:

Fő szövődmények (Major Complication):

1. Csont vagy ízületi fertőzés
2. Ízület mozgástartományának maradandó beszűkülése
3. Arthrithis
4. Térd/csípő subluxáció vagy dislocatio
5. Elhúzódó csontgyógyulás vagy álízület képződés
6. Megmaradó végtagegyenlőtlenség
7. 5 foknál nagyobb tengelyeltérés a végtagon
8. Külboka proximalis elmozdulása
9. Krónikus oedema
10. Jelentősen csökkent izomerő
11. Rossz végtag funkció (az eredmény rosszabb, mint az amputáció vagy a protézis)
12. Ér vagy idegsérülés:
    a. műtéti (csavar vagy drót által okozott)
    b. nyújtási

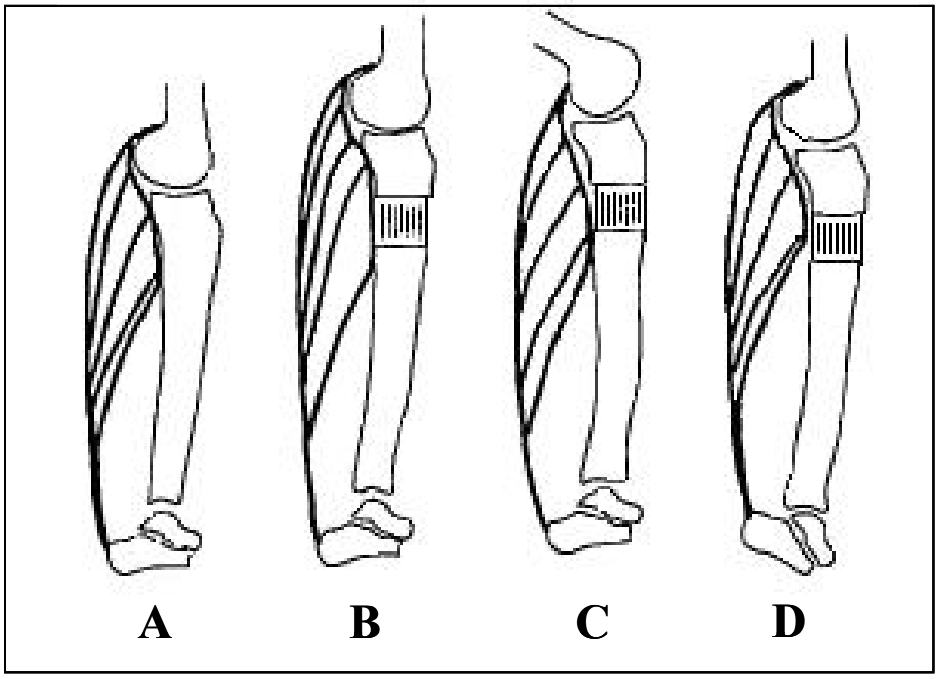
Mellék szövődmények (Minor Complication)

1. Csavar vagy drót melletti gyulladás
2. Csavar vagy drót lazulása
3. Hosszabbított csont korai csontosodása
4. Időleges, korrigálható tengely eltérés (5 fok alatti)
5. Időszakos neuropraxia

Az alábbiakban néhány fő és mellék szövődményt részletesen elemzek, döntően a vázizommal összeköthetőeket.

### 1.3.1. Izomkontraktúra

A végtaghosszabbítás során kialakuló izomkontratúra a nyújtás során az izmokban ébredő feszülés eredménye. Az oka a flexor és az extensor izomcsoportok között kialakuló egyensúlyzavar. A lábszár nyújtása során a triceps surae-ban jelentkezik a legnagyobb ellenállás. Mivel ez az izom két ízület mozgását is befolyásolja, ezért a nyújtás során a bekövetkező kontraktúra mindkét ízületre hathat (térdet flektálja és a bokát plantarflektált helyzetbe hozza). Hasonlóan a tibiához a femuron többnyire a pes anserinus inak szabják a legnagyobb gátat a csontnyújtásnak (2. ábra). Általában elmondható, hogy többnyire azokban az izomcsoportokban jelentkezik végtaghosszabbítás alatt izomkontraktúra amelyek, két vagy több ízületet is mozgatnak. Ennek az okát abban látják, hogy a hosszú izmok izomrostjai különböző hosszúságúak, ellentétben az egy ízületet átívelő izmok azonos hosszúságú rostjaival, ezért különböző húzó erők ébrednek ezekben az izmokban. Paley (1990) teóriája szerint a nyújtás során kialakuló feszítés az egyik stimulálója az izomban a histogenezisnek, de egy bizonyos erő felett már a degeneratív folyamatok beindulásának kedvez. A kontraktúrák többnyire akkor alakulnak ki, amikor az elérni kívánt csonthossz lényegesen meghaladja az izmok által még kompenzálható hosszúságot. Véleménye szerint ez lehet az egyik bizonyítéka annak, hogy az izom és a csont hosszúságot kompenzáló, histogenetikus képessége igen különböző.




2. ábra

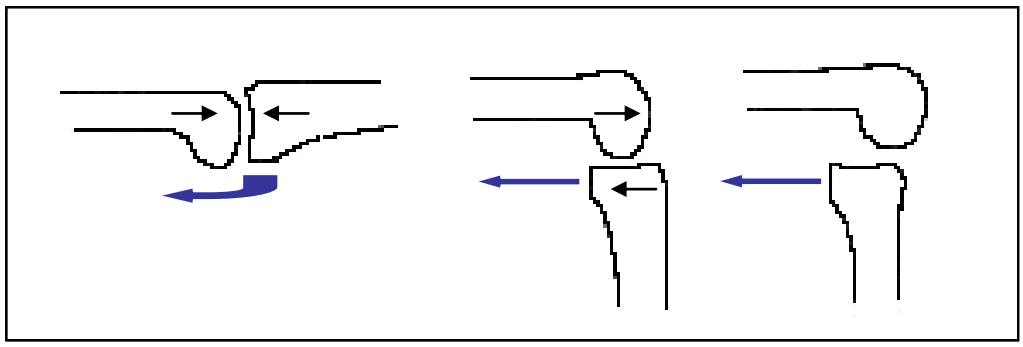
A.) Hosszabbítás előtti állapot. Oldal irányból a Gastro-soleus izomcsoport. B.) Ideális esetben az izom és a csont ugyan olyan ritmusban nyúlik. C.) Térd kontratúra akkor alakul ki, ha az ízület extenzióját nem erőltetik a hosszabbítás alatt. D.) A boka kell dorsalflexiójára nem ugyelnek equinovarus deformitás alakulhat ki. (Paley 1990)

Humerus hosszabbítás során az egyik leggyakoribb szövődmény a könyök flexiós kontraktúrája, ami a fixateur eltávolítása után aktív gyógytornával megszüntethető (Schopler és mtsai 1986, Cattaneo és mtsai 1990). Lee (2005) szerint 50 fok alatti flexiós kontraktúra miatt nem szükséges megszakítani a hosszabbítást.

A kontraktúrák kialakulásának valószínűsége növekszik az egy síkban bevezetett Kirschner drótok, vagy Shanz csavarok számával, illetve ezeknek az átmérőjének emelkedésével. Nagyobb nyújtási erők ébrednek az izmokban a több fix pont miatt. Abban az esetben, ha a stabilizáló eszközök a fasciát vagy az inat transzfixáláják, ez lényegesen csökkentheti az ízületek mozgását, legalább annyira, mint az izom kontraktúra. (Paley 1990).

### 1.3.2. Ízületi luxatio

A leggyakoribb kockázati tényező a hosszabbítást megelőzően fennálló ízületi instabilitás, amelynek általában veleszületett okai vannak. A hosszabbítás után kialakuló izom egyensúlyzavar lehet az alapja az ízületi subluxatiónak. Azért is lényeges, hogy megelőzzük az izomkontraktúrák kialakulását, mert ennek következtében, az ízületet alkotó csontokra ható erők egyensúlya megbomlik, ami subluxatióhoz, luxatióhoz vezethet. A térdízület a legesendőbb ebből a szempontból, mert igen gyenge az ízületet alkotó csontok önálló stabilitása. Térdflexióban a harmstring izomcsoport a tibiát hátrafelé mozdítja el a femorális chondylusokon. Teljes extensióban ez a hatás nem érvényesül (3. ábra).



3.ábra Térdízület subluxatiója, luxatioja hosszabbítás alatt. (Paley 1990)

Többek között ezért is lényeges a térd extenisós mozgásának megtartása a hosszabbítás alatt. Amennyiben az alsóvégtagon a hosszabbítás előtt instabil ízületet találunk csak annak stabilizálása után kezdhető el a nyújtás (Paley 1990).

Az előbbihez hasonlóan a vállizület saját csontos stabilitása is igen szegényes. A gleno-humeralis izület stabilizálása nem előfeltétele a hosszabbításnak. Felkar nyújtása során leggyakrabban kialakuló alsó ficamot az esetek döntő többségében elegengő konzervatívan kezelni (Kashiwagi és mtsai, 2001).

### 1.3.3. Tengelyeltérés

A nyújtás során a végtag valamilyen irányú görbülési tendenciát mutathat. Ennek egyik oka szintén az izomegyensúly megbomlásának köszönhető. A tengelyeltérés irányát befolyásolja az osteotomia magassága, illetve a csont, amin az osteotomiát végezték. A tibia proximális részén végzett osteotomia után a tibia latero-posterior irányba görbül, ami valgus és procurvalt helyzetet eredményez. Ennek az oka könnyen felismerhető, mert a tibia hátsó és lateralis oldalán található a lábszár izmok legnagyobb része. A hosszabbítás során ezen izmok fokozott feszülése okozza a csont (callus) görbülését.

A tengelyeltérés másik oka a hosszabbító készülék instabilitása lehet. Ezt a rögzítő drótok vagy csavarok lazulása, nem megfelelő behelyezése vagy rossz konstrukciójú végtagkészülék alkalmazása okozhatja.

### 1.3.4. Egyéb szövődmények

Ritkán előforduló, de az egyik legsúlyosabb szövődmény az *idegsérülés*. Noguiera és munkatársai (2003) egy 650 betegre kiterjedő vizsgálatban elemezték az ideglaesio különféle formáit. A végtaghosszabbítás során fellépő idegsérüléseket két részre osztották. Az operáció szövődményeképpen bekövetkező és a nyújtás alatt kialakuló idegsérülésekre. A műtét során kialakuló idegsérülés leggyakoribb oka a rögzítő drót vagy csavar által okozott idegsérülés. Ez könnyen kiküszöbölhető a csavar kellően gondos behelyezésével, körültekintő műtéti technikával. Mivel az esetek többségében vékony drótokat és csavarokat használunk hosszabbításhoz, ezek a szövődmények viszonylag enyhék. E mellett idegkompressziós tüneteket okozhat a kialakuló kompartment szindróma.

A hosszabbítás során fellépő idegsérülés igen nehezen felismerhető, mert az első tünetek többnyire valamilyen végtagi diszkomfort érzéssel kapcsolhatók össze. Ezek

hátterében ugyan az esetek egy részében nem az idegsérülés áll. Amennyiben az első tünetek között kialakul hyperaesthaesia, erős végtagi fájdalom, minden esetben fel kell vetni a nyújtás során bekövetkezett idegsérülés gyanúját. A hyperaesthaesiát időben hypaesthaesia, majd izomerő csökkenése követi, végül teljes paralysis is kialakulhat (Noguiera 2003). A felkaron a fixateur behelyezése alatt a radialis ideg sérülhet. A nyújtás során fellépő enyhe paretikus tünetek esetén a napi hosszabbítási rátát csökkenteni kell, amennyiben a tünetek megszűnnek a hosszabbítás folytatható az eredeti napi nyújtási egységekkel. Súlyosabb esetben a hosszabbítás leállítása és szelektív ingeráram kezelés szükséges (Lee és mtsai, 2005).

Az *erek sérülése* a fixateur behelyezése során következik be leggyakrabban, de az osteotomia elvégzésekor is előfordulhat. Igen ritka esetekben, amikor az artéria és a vénasérülés egyszerre következik be, akkor arteriovenosus fistula is keletkezhet.

A nyújtott végtag *oedemája* (legtöbbször, ha a beteg sokat jár) is kialakulhat, de ez a készülék eltávolítása után megszűnik. Paley (1990) szerint az ilyen beteget fokozott figyelemmel kell kísérni, nehogy a szövetközti nyomásemelkedés kompartment szindrómához vezessen.

*Túl korai csontosodás* az esetek többségében osteotomia elégtelenségéből alakulhat ki. A másik oka lehet a túlzottan hosszú kompressziós szakasz a callotasis elvégzése előtt. Ez a szövődmény leggyakrabban a femuron, illetve a fibulán figyelhető meg.

*Az elhúzódó csontgyógyulást* befolyásolják a technikai és a beteg faktorok. Technikai faktorok közé soroljuk a jelentős traumával járó cortico-osteotomiát, az instabilitást és a túl gyors nyújtást. A beteg faktorok között szerepelhet a fertőzés, a rossz táplálkozás és az egyéb anyagcsere betegségek.

*Drót vagy csavar környéki problémák* többnyire a csavar és a bőr közötti mozgásnak a következményei. Befolyásolja a lágyrész vastagsága, a csavar átmérője és a beteg általános állapota is. Lényeges, hogy a csavar és a bőr közötti területet tisztán legyen tartva.

A hosszabbítás során törekedni kell arra, hogy a csavar-csont, illetve a csavar-bőr közötti mozgás a lehető legkisebb legyen. A csavar menti fertőzések szinte mindig kintről befelé terjednek. Ezt három részre osztják: lágyrész gyulladásra, lágyrész

fertőzésre és végül a legsúlyosabb a csontos fertőzés. Az első kettő enyhe, a harmadik a súlyos szövődmények közé tartozik (Paley 1990).

Összefoglalásként elmondható, hogy a hosszabbítás során fellépő fő klinikai szövődmények kialakulásáért (ízület mozgástartományának maradandó beszűkülése, térd/csípő subluxació vagy luxació, rossz végtag funkció, csökkent izomerő,) döntően az izom elváltozásai felelősek. A tudomány mai állása szerint úgy tűnik, hogy a végtaghosszabbításnak az egyik fő befolyásoló (korlátozó) tényezője a csont körüli harántcsíkolt izom alkalmazkodása.

## 1.4. Morfológiai elváltozások a harántcsíkolt izomban végtaghosszabbítás során

### 1.4.1. Degeneratív izomelváltozások

Calandrello (1975) kutya kísérletei során azt tapasztalta, hogy a végtaghosszabbítás alatt az izomban számos mikroszkopikus szakadás keletkezik, amelyek később gyógyulnak. Úgy gondolta, hogy az izomkárosodás egy bizonyos mértékű hosszabbítás után következik csak be, amit izomregeneráció követ. Paley (1990) vizsgálatai szerint ez a határ a végtag 10%-os nyújtása. Ez a regeneráció Simpson (1991) megfigyelései szerint kötőszövetes proliferációval keveredhet.

Makarov és munkatársai (2001) a hosszabbított harántcsíkolt izmok elektronmikroszkópos felvételeit elemezték. A nyújtás degeneratív hatása egyértelműen látszott mintáikban. Ezt támasztja alá a Z vonalak dezorganizációja (cikk-cakk mintázattól erőteljes hullám mintán át, a teljes szakadásig minden formát detektáltak) és a myofibrilliumok degenerációja is. A myofibrillium degenerációnak számos látható komponensét írták le. A mitochondriális és a sarcoplazmás reticulum körvonalai elmosódtak, membránjuk megsérült. Ezekben a particulumokban számos vakuolát figyeltek meg. Az esetek egy részében fragmentálódott sejtmag is látható volt. Az izommintákban a kapillárisok endothelsejtjei duzzadtak, ami microcirculatios zavart idézhet elő, és ez tovább ronthatja a degeneráció mértékét. A fibroblastok emelkedett aktivitása következtében nő a kollagén termelés, ami izomrostok közötti kötőszövet felhalmozódásához vezet.

Makarov (2001) eredményei azt mutatják, hogy ha a végtaghosszabbítás napi adagjait több részletben hajtják végre a korábban említett elváltozások előfordulása ritkábban tapasztalható (protokolljukban: 1x0,75 mm/nap, 4x0,185 mm/nap és 720x $1{,}04 \times 10^{-3}$ mm/nap).

Ezt az elektronmiroszkópos megfigyelést Shilt (2000) vizsgálataiban csak részben tudta alátámasztani. Magas (a napi 1mm-es nyújtás 1400 egységre osztva) és alacsony (napi 1mm-es nyújtás 3 egységre osztva) frekvenciájú nyújtást végzett

nyulakon. Nem talált szignifikáns különbséget a minták között az izomrost hypertrophia izomrost re- és degenerációs jelek vizsgálata után. Következtetésében egyértelműsíti, hogy a magas frekvenciájú hosszabbítás, a morfológiai elváltozások megjelenését nem csökkenti jelentősen az alacsony frekvenciájúhoz viszonyítva. Emellett kiemeli, hogy a napi hosszabbítási egységet ajánlatos több részre osztani, mert ennek következtében kevésbé feszülnek a lágyrészek, és így nagyobb valószínűséggel őrizhető meg a kielégítő végtagfunkció a hosszabbítás végéig.

Callotasis módszerével hosszabbított patkányokban demonstrálta Shen és Aronson (1993), hogy 20%-os nyújtás felett merevséget észleltek a gastrocnemiusokban melynek okát az endo- és perimysialis fibrosisnak tulajdonították.

Lee (1993) is megpróbálta elemezni a végtaghosszabbítás hatását gastrocnemius izmokban. Fiatal nyulak lábát napi 0,5 mm-rel hosszabbította különböző véghosszig (10%, 20%, 30%). A szövődmény értékeléséhez egy pontrendszert használt. 5 fő degeneratív paramétert határozott meg (izomrost méret változékonyság, sejtmag internalizáció, izomrost degeneráció, izomrost regeneráció és endo-és perimysialis fibrosis). A histopathológiai jeleket semi-quantitatíven elemezte. Szignifikáns különbséget találtak a kontroll és a hosszabbított végtag között 20% és 30%-os nyújtás után a sejtmag internalizáció, endo-és perimysialis fibrosis mennyiségében. Az izomrost méret változékonyság az atrophizált izomrostok szaporodásának köszönhető. Ezt a fenomént csak ritkán találták meg a mintákban. Az előbb említett histopathológiai jelek 10%-os hosszabbításnál nem mutatkoztak. A fentiek alapján Lee (1993) úgy vélte, hogy a végtaghosszabbítás során kialakuló szövődmények súlyossága és gyakorisága függ a nyújtás során elért hossztól (20% nyújtás vagy a felett).

Fink és munkatársai (2001) a szövődmények dinamikáját vizsgálták. Kutyákon végzett kísérleteik azt mutatták, hogy közvetlenül a hosszabbítás végén elemzett mintáikban szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordult elő peri- és endomiseális fibrosis, a membrán integritás zavara, illetve és az izomsejt struktúra változása, mint azokban a kutyákban, akiknél hagytak egy konszolidációs, gyógyulási szakaszt (végtaghosszabbítás után 25 napig). A hosszabbítás végén feldolgozott mintákban sokkal kifejezettebb regenerációs aktivitás jeleit találták: szignifikánsan emelkedett a szatellitsejtszám, és a neonatalis myozin expressziója. E megfigyelésük arra enged következtetni, hogy a hosszabbítás során bekövetkező izomkárosodást egy regenerációs

fázis követi. Ennek a folyamatnak meghatározott időbeli lefolyása van, és mind a beindításáért, mind a leállásáért, vagy mérséklődéséért az izomrostok nyújtási ingere lehet a felelős.

### 1.4.2. Regeneratív izomelváltozások

Számos kutató vélekedett úgy, hogy végtaghosszabbítás alatt a harántcsíkolt izom a csont nyújtását csak passzívan – gumiszerűen – követi (Day 1997, Schumacher 1994). Ilizarov (1989) feltételezte, hogy a nyújtás az izomban egy proliferatív hatást generál. Úgy vélte, hogy ez a jelenség nagyon hasonlatos az embrionális izomszövetben látottakhoz. A végtaghosszabbítás hatására az izomban beindulnak a regenerációs és proliferációs mechanizmusok, amit Ilizarov (1989) Tenziós-Stressz törvénynek nevezett. Az elsők között hangsúlyozta, hogy a végtaghosszabbítás hatása az izomban egy aktív adaptációt is kiválthat a passzív nyújtás mellett, amit azonban kísérleti eredményeivel nem tudott alátámasztani ezért azok csak teóriák maradnak.

Ilizarov irányítása alatt dolgozott Dyachkova, Utenkin és Chikorova (1980, 1981, 1982, 1983), és mindannyian tanulmányozták a harántcsíkolt izmok alkalmazkodását (kutya modell). Azt tapasztalták, hogy 20%-os hosszabbításig az izmok és a fascia a teljes hosszában nő, majd ezután az osteotomia területe felett válik dominánssá az izmok hosszirányú nyúlása. 10%-os hosszabbításig lényeges morfológiai eltérést nem tapasztaltak az izmokban (a fő reakció a passzív nyúlás volt), de e határ felett myo- és fibrinogenezisről számoltak be. Elekrton mikroszkópos képeken elemezték az energia raktárak és a protein szintézis aktiválódását, de közleményükben az nem szerepel, hogy a közel 500 operált állatból mennyinél végezték el ezt az elemzést. Lényeges megemlíteni, hogy cikkükben nem quantifikálták az izomproliferáció mértékét és nem vizsgálták a befolyásoló tényezőit sem.

Schumacher és munkatársai (1994) immunhisztokémiai reakciót Bu20a (monoklonalis anti bromodeoxyuridin antitest) segítségével vizsgálták az izomsejtmagokat m. tibialis anteriorban. Azt találták, hogy a hosszabbítás során (0,5mm/nap 28 napig) az izomtömeg (m. tibialis anterior) növekedése erősen korrelál az

izomsejtmagok számának emelkedésével. Ezt az emelkedést csak a hosszabbítás végén tapasztalták. Amennyiben a nyújtás csak 14 napig tartott, sem az izomtömeg növekedését sem az izomsejtmag proliferációját nem tapasztalták. A 7mm-es hosszabbítás egy nyúl tibiájának hosszát kb. 7%-kal növeli. Ez nem érte el a korábban említett 10%-os nyújtást, és ez alapján is sejthették, hogy a nyújtás mértéke is befolyásolja a hosszanti izomnövekedést.

Simpson (1995) nyúl kísérletei során azt tapasztalta, hogy a szokásos nyújtási ráta alatt az izmok sokkal jobban alkalmazkodnak a nyújtáshoz. Az aktív izom funkció akár egész napi 1mm-ig is szövődménymentes maradhat, de csak napi 0,4 mm-ig őrzi meg az izom teljes működését. Az izom sokkal lassabban alkalmazkodik a nyújtáshoz, mint a csont. Kevesebb, mint napi 1mm-es hosszabbításnál ő is talált fibrotikus szövetszaporulatot, de mérsékelt mennyiséget, ami a napi nyújtási ráta emelésével szaporodott.

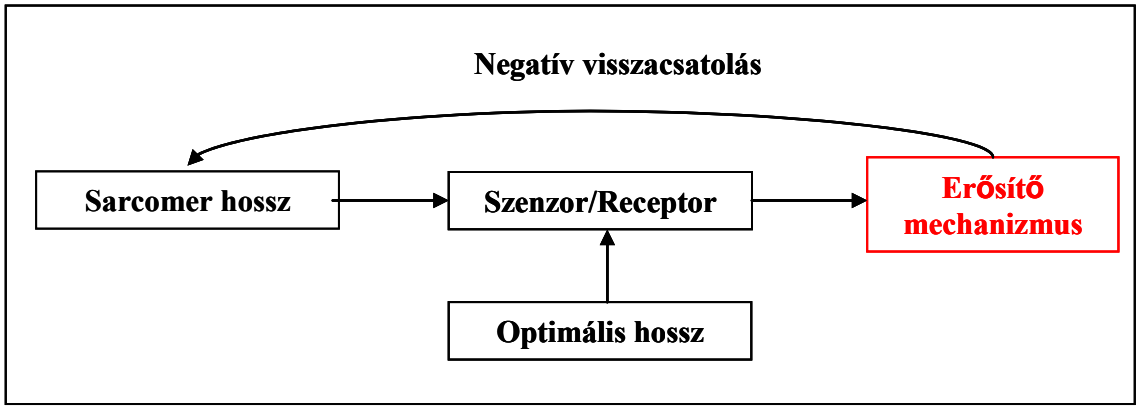
Az izomrostok nyújtáshoz való alkalmazkodó képességét Williams és munkatársai (1994) is vizsgálták. Nyulakon a 20%-os hosszabbítást különböző napi nyújtás egységekkel érték el. Azt tapasztalták, hogy minél kisebb a napi nyújtásiegység, annál kisebb a hosszabbítás végén az egy sarcomerre eső hossz. Méréseik azt mutatták, hogy a lassúbb nyújtáshoz az izom új izomrostok hozzáadásával – sarcomer hossz megegyezett a kontroll állatokban mértekkel – alkalmazkodik, míg a gyorsabb nyújtáshoz inkább a rostok megnyúlásával (e mellett a mintákban számos degeneratív jelet találták). Ez a sarcomer nyúlás rontja az izom funkcióját is.

Abban az esetben, ha a napi hosszabbítási egység magasabb, mint 1 mm (a vizsgált állat kecske), akkor ez sarcomer nyúlást eredményez. A sarcomer hossz determinálja az aktin és a miozin keresztkötések számát, ami befolyással van az izom funkciójára. Ennek a nyúlásnak a következtében csökken a keresztkötési lehetőségek száma, és emiatt csökkenhet az izom izometriás feszülése (Lindsey 2002).

Évekkel később kiderült, hogy ez a nyújtás az izmokban sejt proliferációt indít el (Tsujimura 2006). Tsujimura és Nagaoka (1995) nyulakon végzett végtaghosszabbítás után azt tapasztalta, hogy a kitűzött hosszúság elérése után a musculus tibialis anterior izomtömege emelkedett. Egyes szerzők véleménye szerint ez a tömegváltozás 1-es típusú izomrostok hypertrophiájából következik be (Shpitz 1997). A PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen**)** segédfehérjéje a DNS polimeráz δ-nak (Bravo

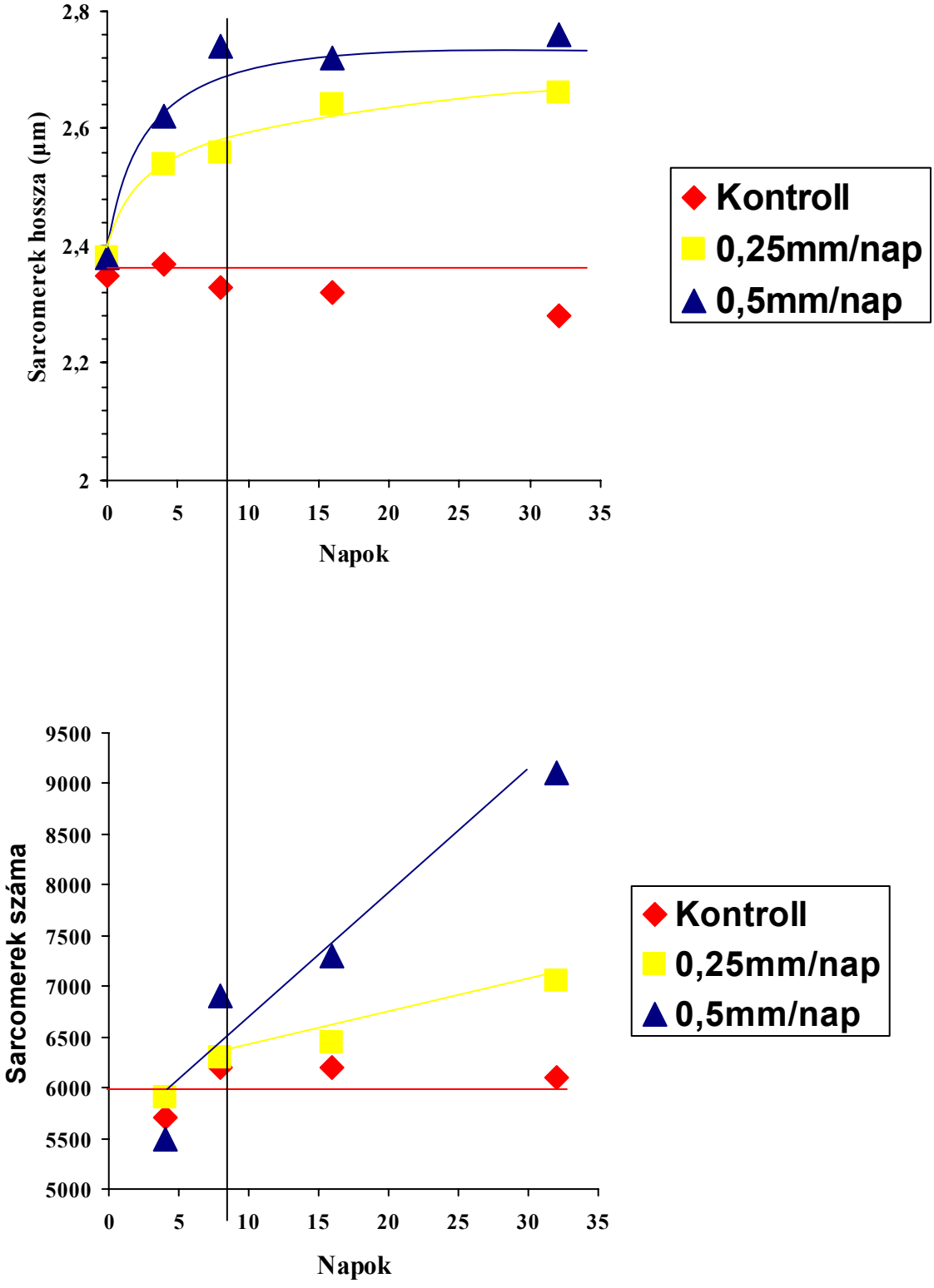
1987). E fehérje expressziója a sejtciklus S fázisában a maximális. A PCNA mRNS normálisan csak proliferálódó sejtekben halmozódik fel, ezért igen alkalmas a szatellitsejtek vizsgálatára. Nagaoka és munkatársai (1995) vizsgáltukban PCNA pozitív sejtszám emelkedést találtak hosszabbított harántcsíkolt izomban. Renault (2002) szatellitsejteket izolált fiatal és felnőtt humán harántcsíkolt izmokból, és in vitro körülmények között nem talált különbséget a proliferációs aktivitás és differenciálódási képességükben. Ez a megfigyelés is alátámasztja azt a feltevést, hogy a szatellitsejtek a szervezet élete során megőrzik proliferációs képességüket. Ahogy a szövődmények kialakulásának, úgy a regenerációs folyamatok beindulásának (szatellitsejt proliferáció) is van egy hosszúsági határa (Schumacher 1994). 6 és 11%-os végtaghosszabbítást követően csak az osteotomia magasságában észleltek sejtproliferációt, míg azokban az esetekben, amikor a végtaghosszabbítás 20% felett volt, már az izom teljes hosszában is tapasztalták (Yasui 1991).

Caiozzo és munkatársai (2002) vizsgálatukban arra keresték a választ, hogy a hosszabbítás során mi indukálja az izomregenerációs mechanizmusok (szatellitsejtek) aktiválását. Patkányokon végzett kísérleteik alapján azt tapasztalták, hogy a végtag elongáció folyamán egy ideig a sarcomerek csak nyúlással válaszolnak (4 ábra).




4. ábra

Caiozzo (2002) feltételezi, hogy létezik egy sarcomer szenzor, amely érzékeli a nyútjtást és elindítja a sarcomerogenezist.




5. ábra
A sarcomerek hosszának és számának változása a hosszabbítás hatására. A függőleges vonal a hosszabbítás 8. napját jelöli. (Caiozzo 2002)

Véleménye szerint létezik egy bizonyos nyújtott sarcomer hossz, ami beindítja a sarcomerogenezist. (5. ábra). A hosszabbítás kezdeti fázisában (4. és 8. nap között) a sarcomerhossz progresszív növekedését tapasztalta. A kezdeti periódus után a sarcomerek hossza már nem emelkedett tovább, megállt egy méretnél (ez patkányaiban 2,7 μm volt). Ettől az időponttól kezdve, a sarcomer szám indult erőteljes emelkedésnek (Caiozzzo 2002). Ez lehet az egyik döntő lépés, amely a szatellitsejt aktivációhoz vezet és ennek a folyamatnak lehetnek azok a regenerációs jelek a következményei, amelyeket már fénymikroszkóppal meg tudunk vizsgálni.

## 1.5. Harántcsíkolt izom fejlődése

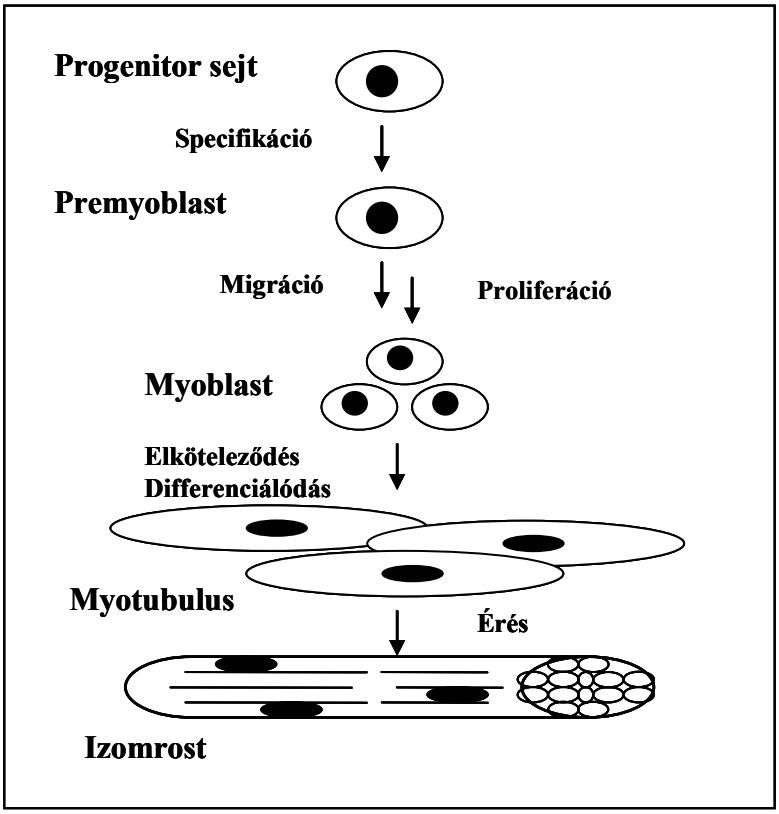
A vázizom az embrionális mesodermából fejlődik. A hatodik terhességi héten megindul a mesoderma kondenzációja és a mesodermális őssejtek differenciálódása. A harántcsíkolt izmok kialakulásában a Pax gének és transzlációjuk során keletkező transzkripciós faktorok kulcs szerepet játszanak.

A skeletális myogenezis 6 stádiumból áll (6. ábra)

1. Specificikáció
2. Migráció
3. Proliferáció
4. Elköteleződés
5. Differenciálódás
6. Érés

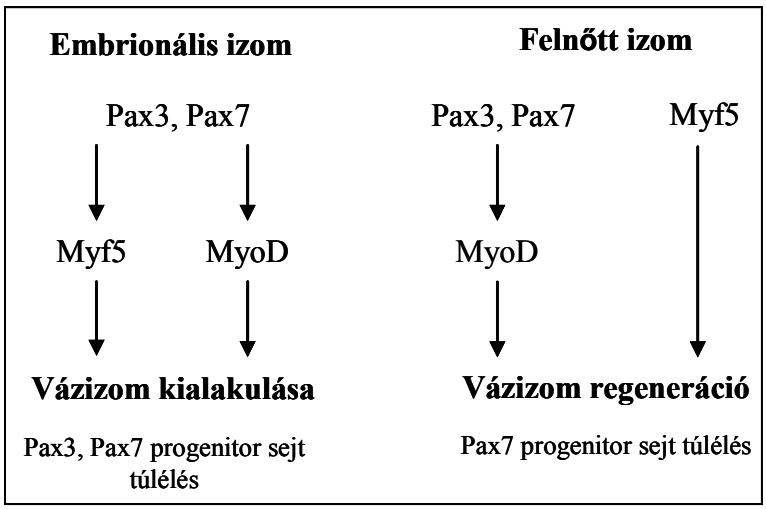
Az emlős harántcsíkolt izom sejtek a paraaxiális mesodermából származnak. Ez a terület a fejlődés során szegmentálódik és somitákká alakul.

A somiták érése folyamán, dorsalis részük az epitheliális struktúrákkal kerül kapcsolatba és a dermomyotomot alakítja ki (itt helyezkednek el myogenikus progenitor sejtek). Először a premyoblastok leválnak a dermomytomok széli részeiről, a végtagbimbókba vándorolnak és kialakítják az első végtagi izom elő-telepeket (myotom) (Buckingham 2007a). A szervezetben a harántcsíkolt izmok kialakulásának és regenerációjának főregulátorai a Pax gének. A fejlődés során a Pax3/7 gének már a somiták kialakulása előtt átíródnak, majd e tulajdonságukat a mesoderma szegmentálódása alatt és után is megőrzik. A Pax3 közreműködése szükséges a myogenicus progenitor sejtek leválásához és a vándorlásához a végtag bimbók megfelelő helyeire (Buckingham 2007b). Miután dokkoltak a megfelelő helyenPax3/7 transzkripciója és fehérjéinek transzlációja jelentősen csökken. (7. ábra)




6. ábra

A harántcsíkolt izom kialakulásának fázisai. (Yamane 2005)




7. ábra

A Pax3 és Pax7 géneknek kiemelt szerepük van az izom progenitor sejtek myogén programba való irányításában, és biztosítják a progenitor sejtek túlélését. Felnőtt harántcsíkolt izomban a szatellitsejtek életben maradásához már csak Pax7 gén

szükséges. Myf5 és a MyoD myogén determinációt biztosító transzkripciós faktorok és gének (Buckingham 2007a) felelős

A mesoderma idevándorolt multipotenciális sejtjei proliferálnak és myogen progenitor sejtekké alakulnak. Egy jelentős részük csak meghatározott számú osztódásra képes, majd kilépnek a sejtciklusból postmitotikus myoloblasttá alakulnak. Ezen sejtek mindegyike tartalmaz Mrf4 transzkripciós faktort, ami biztosítja, hogy elkötelezettek maradjanak a harántcsíkolt izom irányában. A differenciálódás megkezdéséért a Pax3 függő Myf5 transzkripciós faktor a felelős. E két fehérje hatásaként képződik a MyoD, amely kilépteti a multipotenciális sejteket a sejtciklusból és az izom differenciálódás karmesterévé válik. (A fejlődés késői szakaszában a Myf5 szerepét a Myogenin veszi át.) (Buckingham 2007b).

A myoblastokban a RNS és a protein szintézis dominál, aminek morfológiai eredménye az, hogy nagy ovalis sejtmagok, prominens nucleolus, diffúz kromatin és számos riboszóma alakul ki. A myoblastok orsó alakot vesznek fel és a végeiken tight junction-nal kapcsolódnak egymáshoz. A rés a két membrán között fokozatosan tágul, majd megszűnik a sejtközti membrán. A cytoskeleton dens hálózattá alakul, a myoblastok összeolvadnak és sokmagvú myosynciciumokat alakítanak ki. A sejtmagok a membrán szélére húzódnak, a myofibrillumok középre mozdulnak és az egészet a sarcoplazma fogja körül.

Közeledve a magzati izomfejlődés végéhez progenitor sejtek másik része megőrzi osztódási képességét (Pax3/7 pozitív sejtek, amelyek izom basalis membránja alá vándorolnak) és szatellitsejtté válik (Buckingham 2007b, Relaix 2005).

A kialakuló izmok a csontkezdemények dia- és/vagy epiphysisén rögzülnek. A csont növekedése nyújtja, a periosteum húzza az izmot. Így az izom növekedése alatt a folyamatos nyújtás is éri az izmot. Ennek hatására az izomban elhelyezkedő finom kötőszöveti rostok mentén őssejt vándorlás indul meg. A célállomásukat elérő őssejtek a fent leírt módon hatnak az izomnövekedésre.

A m. intercostalis sejtkultúrát vizsgálva azt figyelték meg, hogy ha az izommintákat borda darabok között minimálisan megfeszítve tartották, az izomrostok proliferációja megmaradt. Abban az esetben ha ezt a feszülést megszüntették, akkor a

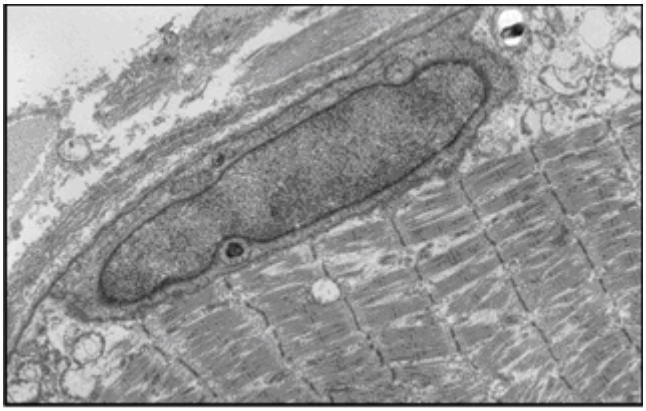
degeneráció jeleit figyelték meg a mintákban. A nyújtás hatására kinyílnak a Na+ ion pumpák, amit aminosav felvétel és protein szintézis követ.

## 1.6. Szatellitsejt

Az adequat izomtömeg és funkció nélkülözhetetlen a szervezet működéséhez (Pavlath, 2003). A izomfunkció csökkenés vagy tömegvesztés izom gyengeséget, csökkent helyváltoztatást eredményez, súlyosabb esetben növeli az egyén morbiditását és/vagy mortalitását. Ezért is lényeges, hogy a harántcsíkolt izomnak lehetőségük legyen a regenerációra (Pavlath, 2003).

Az izomrostok, ahogy korábban is említettük sokmagvú sejtek. Az izomrostok mérete dinamikusan változhat, így képesek atrophizálni és hypertrophizálni az éppen aktuális stimulustól függően. Az izomrost méretváltozása összefüggésben áll az izomrost sejtmagszám változásával (Allen, 1999). Ennek folyománya, hogy az izomatrophia myonucleus szám csökkenéssel, az izom hypertrophya myonucleus növekedéssel jár. Az izomrostméret növekedése esetén azért, hogy myonucleális domain (egy izomsejtmag géntermékei által szabályozott cytoplasma térfogat) megmaradhasson, az myonucleusok számának is emelkednie kell (Allen, 1999). Mivel az izomsejtmagok postmitotikus sejtek, ezért számos kutató úgy gondolta, hogy léteznie kell egy másik sejttípusnak, amely képes az izomsejtmagokat pótolni (Stockdale 1961, Stocldale 1970, Mintz 1967). Ezt a feladatot töltik be a szatellitsejtek. A nyugvó szatellitsejtek az izomrost basalis membránja alatt helyezkednek el, a plazmamembránon kívül, de szoros összeköttetésben a sarcolemmával (8. ábra).

Amennyiben a myofibrillumok valamilyen okból sérülnek, a szatellitsejtek mytotikusan aktívvá válnak és proliferálni kezdenek. Ezt az aktivációt az izmok nyújtása, edzése, a hideg, a kompresszió, a felfüggesztés és a denerváció is létrehozhatja (Bischoff 1997).

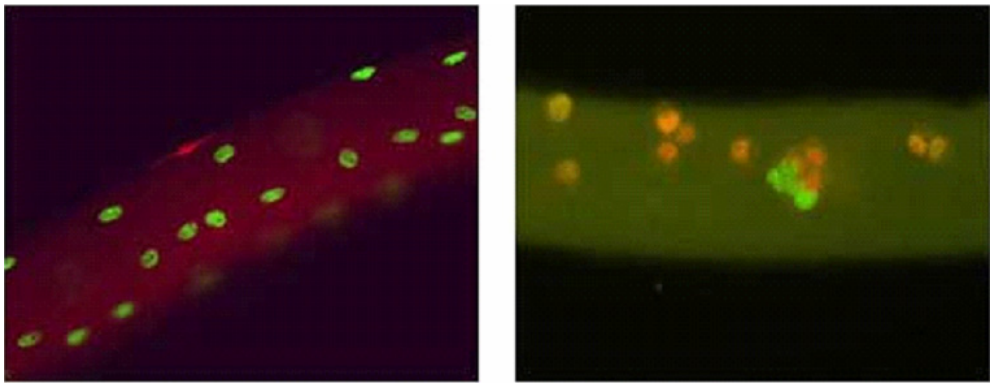


8. ábra

A szatellitsejt elhelyezkedése transzmissziós elektronmikroszkópos felvételen (Camillo 2004)

Ennek hatására a MyoD és az Myf5 expressziója, és a Pax7 fehérje csökkenése következik be. A Myogenin aktiválódása után végleg elköteleződik a sejt myoblasttá alakulásra. A kialakult myoblastok hasonlóan a praenatalis szakban kialakult myoblastokhoz fúzióra képesek. Az izomregeneráció során ezek a myoblastok a már létező myofibriliumokkal fúzionálnak és a normális izomsejt szerkezet helyreállításáért, fejlődésért lesznek felelősek. Ez a fúzió természetesen nemcsak sejtszám emelkedéssel jár, hanem a fuzionáló sejtplazma és az inkorporált DNS transzkripciója és transzlációja során képződő fehérjék emelik a myofibrillum térfogatát.

Az osztódás során nem csak myoblastok alakulnak ki, hanem az anyasejtekhez hasonló lány szatellitsejtek is. E sejtek az aszimmetrikus osztódásnak köszönhetően elvesztik MyoD tartalmukat ezzel párhuzamosan a Pax7 génjük nem inaktiválódik. Ennek a lépésnek a célja, hogy megtartsák az izom regenerációs kapacitását (Sherwood és mtsai 2004, Shinin 2006) (9.ábra). Úgy tűnik, hogy a kifejlett felnőtt harántcsíkolt izmokban a Pax7 gén főszerepet játszik a szatellitsejtek túlélésében. Az élet folyamán a szatellitsejtek osztódásából egyre kisebb számban képződnek lány sejtek és egyre nagyobb részükből lesz myoblast.



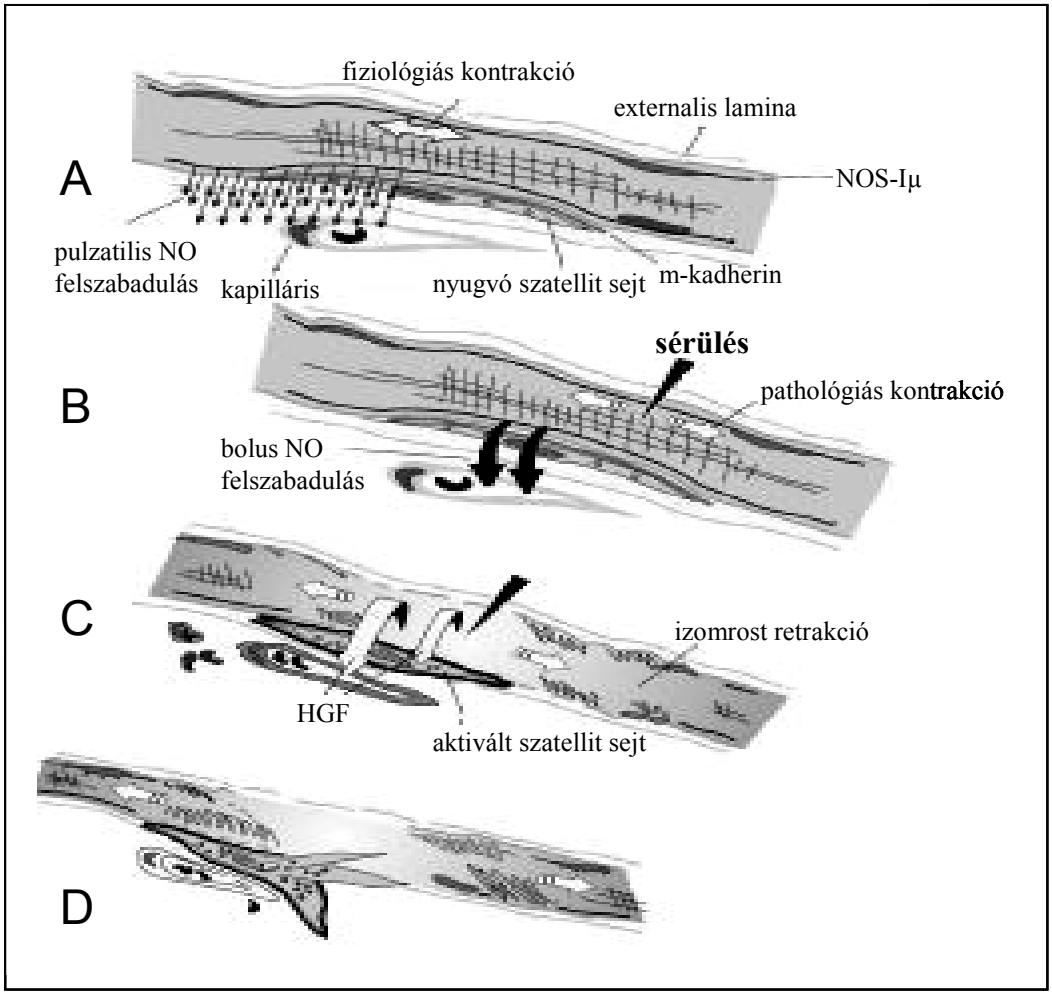
9. ábra

Aktivált szatellitsejtek izolált myofibrillum felszínén. Az aktiváció kezedeti szakaszában Pax7-et (zöld) és MyoD-t (piros) is co-expresszálnak. Amint a Pax7 szintje csökken, felerősödik a myoblast irányú differenciáció. A MyoD szint csökkenésének (változatlan Pax7 szint mellett) az izom progenitor szatellitsejtszám fenntartás a célja (Zammit and Beauchamp, 2001).

Ahogy már korábban említettem a harántcsíkolt izomban lévő szatellitsejtek számos külső hatásra aktivációval, proliferációval válaszolnak. Ennek pontos mechanizmusa egyelőre nem ismert. Andreson (2000) kísérleteivel igazolta, hogy a NO kiemelkedő szerepet játszik ebben a folyamatban.

A nyugvó szatellitsejtek az externalis lamina és a sarcolemma között, az izomrostok alatt helyezkednek el. Bennük csak néhány sejt organellum található, m-kadherinnel sűrűn fedettek, ami környezetüktől való elhatárolódást biztosítja. A myosyntitiumokban NOS-Iμ található, amit a dystrophin rögzít a cytoskeleton sarcolemma felöli részéhez. Ép izomban a NO szakaszosan, apró impulzusoban diffundál az interstitiumba vagy az izom közvetlen környezetében lévő kapillárisokba, ahol a vörösvérsejtek hemoglobinja pillanatok alatt eliminálja a szervezetből (10. ábra A). A sarcolemma sérülése után a repolarizációt nem követi depolarizáció. Ennek következtében erőteljes összehúzódás alakul ki relaxáció nélkül, ami feszülést generál a sarcolemma és az externalis lamina között. A feszülés hatására egy nagyobb bolus NO felszabadulás következik be. A NO közvetlenül hat az izomrost felett elhelyezkedő szatellitsejtre (10. ábra B). Ennek következtében a szatellitsejt aktiválódik, ezzel párhuzamosan a sérült izomrostokból HGF/SF szabadul fel, ami a szatellitsejteken lévő c-met receptorokhoz kötődik. A fibrillumok összehúzott állapotban maradnak, és ez

fenntartja az NO és HGF/SF felszabadulást. Ez autokrin módon a sérüléstől távolabb eső sejtekre is hatással van, amit csak felerősít az ép izomrészeken meglévő bazális NO pulzáció. A kapillárisok kitágulnak és a véralakos elemei kilépnek az interstitiumba. Az adhéziós m-kadherinek száma csökken a szatellitsejt felszínén, ami lehetővé teszi a sejt helyváltoztatását (10. ábra C). A rostvégek teljesen visszahúzódnak, és a szatellitsejt a sérülés helyére vándorol. Az externalis lamina, mint „állványzat" tereli a sejtet a helyes irányba. Ez alatt a már korábban említett gének is aktiválódnak és valószínűleg a növekedési faktorok hatására megtörténik a sejtosztódás, és végezetül a sejt kitölti a keletkezett defektust (10. ábra D).

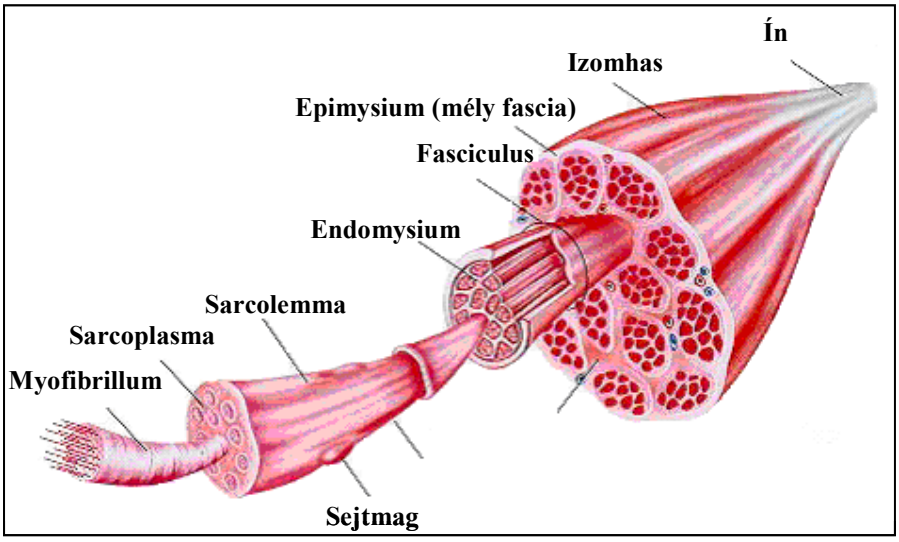



10. ábra

A szatellitsejt - aktiváció vázlata (Anderson 2000)

## 1.7. Harántcsíkolt izom szerkezete

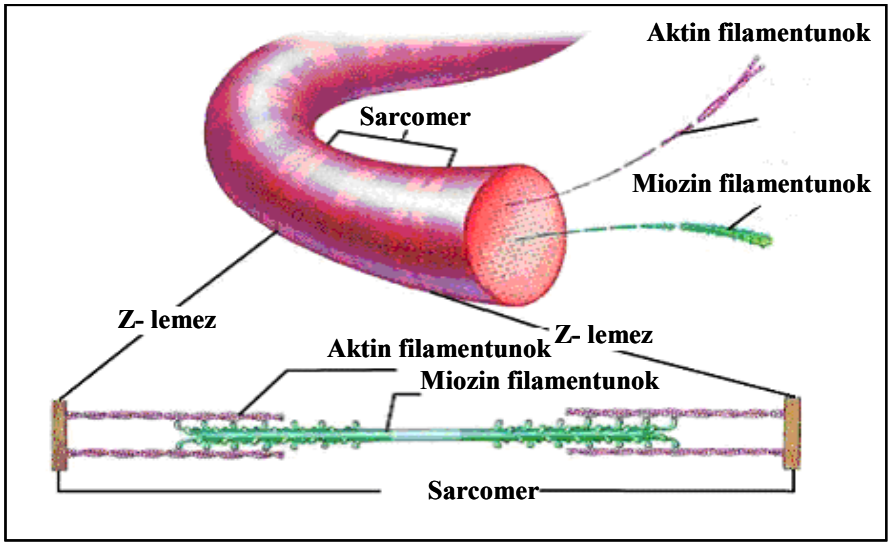
A harántcsíkolt izomszövet szerkezeti egysége az izomrost. Ez közös sejthártyával – sarcolemma – körülvett, több ezer magosztódás során szét nem vált sejtek összessége.




11.ábra: Az izom makroszkópos szerveződése

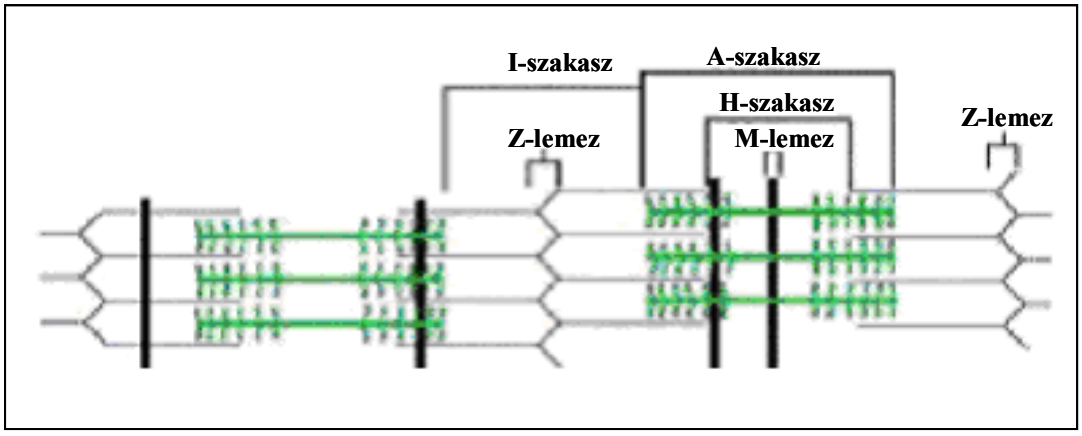
Az izomrostok között fibroblastok találhatók, amelyek a kötőszövetes mátrix – endomysisum – kialakításáért felelős kollegén szálakat termelik. Az izomban található egy vékony kötőszövetes lemez – perimysium –, amely az izomrostok (10 és 100 rost között) csoportjait veszi körül. Itt haladnak az izmok vérellátásáért és beidegzéséért felelős erek és idegek (11. ábra). Minden egyes izmot egy vékony kötőszövetes hártya – epimysium – borít.

Minden izomrost nagyszámú myofibrillumot tartalmaz. Ezek az izmok kontraktilis elemei (12. ábra).




12. ábra: A szarkomerek mikroszkópikus felépítése

A sarcoplazmában egymással párhuzamosan futó kb. 1μm átmérőjű myofibrillumok, amely működési egysége a sarcomer, amit a fibrillumok haránt mintázata is jelez. Minden myofibrillum vékony (átmérő: 5nm, építő fehérje az aktin) és vastag (átmérő: 15nm, építő fehérje a miozin) protein rostból áll. A vastag filamentumok a sarcomerek közepén helyezkednek el. Ezek alkotják az A-szakaszokat (anizotrop optikai tuljadonságú sötét területeket). A I-szakaszok (izotrop optikai tuljadonságú világos területeket) építőkövei a vékony rostok. Ezek a Z-lemezekben találkoznak, és egymáshoz rögzítik a párhuzamosan futó I-szakaszokat. A sarcomerek a Z-vonalak által határolt területek. Az A-vonalak közepén található a H-szakasz, amely csak vastag filamentumokat tartalmaz. Ennek a közepén található a vékony M-lemez (13. ábra). Ennek a feladata az egymással párhuzamosan futó vastag filamentumok közötti távolság megtartása és stabilizálása. Az aktin és a miozin láncok „sliding hypothesis" elvén működnek. A sarcomerek egymással összehangolt működése eredményezi az ép izomfunkciót.




13.ábra: Az aktin és miozin láncok elhelyezkedése

# 2. Célkitűzések

A callus distractiot már régóta használják a végtaghossz különbségek korrekciójára. Az elmúlt több mint 50 évben a végtaghosszabbítás technikai és diagnosztikai háttere jelentős fejlődésen ment keresztül. A kutatók figyelme sokáig a csontújraképződés felé irányult, de a szövődmények szaporodásával a vázizmok válaszreakcióit kezdték elemezni. A végtaghosszabbítás harántcsíkolt izomra gyakorolt hatása még a mai napig nem teljesen tisztázott.

Jelen értekezés a végtaghosszabbítás harántcsíkolt izommal kapcsolatos szövődményeit tárgyalja. Kutatásom két fő részből áll. A későbbi fejezetek első részében alapkutatási, a második felében klinikai kutatási eredményeinket elemzem.

Állatkísérletes vizsgálatunk hisztopathológiai része különböző korú állatok harántcsíkolt izmainak végtaghosszabbításhoz való alkalmazkodó képességét taglalja. Ennek jelentősége, hogy segíthet a nyújtás optimális időpontjának kiválasztásában, emellet az izmok morfológiai elemzése különböző mértékű hosszabbítási rátáknál előforduló szövődmények előrejelzésben is segíthet. Lényeges szempont volt annak vizsgálata, hogy a nyújtott izom proximális és distalis régiói, hogy reagálnak a hosszabbításra.

Alapkutatásunk másik része a callus distractio alatt végbemenő mitotikusan aktiválódó szatellitsejteket vizsgálta. Kíváncsiak voltunk, hogy a hosszabbítás hogyan hat a szatellitsejtekre az izomhas illetve a myoteninosus junctio területén. Ezen sejtek aktiválódása jelenti az egyik fő regeneratív mechanizmust, amivel az izom a megváltozott körülményekhez alkalmazkodik. A különböző életkorú állatok vizsgálata során a megpróbáltunk választ találni a mi állhat a fiatalabb egyedek jobb alkalmazkodó képességének hátterében.

Klinikai kutatásunk során azt szerettük volna megtudni, hogy a nem terhelő felső végtag lágyrész köpenye hogyan viselkedik a hosszabbítás alatt. Az angol nyelvű irodalomban csak kevés humerus hosszabbítást közöltek. Ezek túlnyomó részében a

humerus kimagasló csontosodási potenciáljáról számolnak be. A hosszabbítás alatt felmerült szövődményeket eddig nem elemezték.

A kísérletek megkezdésekor az alábbi kérdésekre kerestem a választ:

1. A nyújtott csont melletti izom egyes részei, hogyan reagálnak a hosszabbításra?

2. Mi a myotendinosus-junctio funkciója a hosszabbítás alatt?

3. Az életkor és a szövődmények kialakulása között milyen összefüggés van?

4. Van-e összefüggés a napi nyújtási ráta és a szövődmények kialakulása között?

5. A nem teherviselő felső végtagon az izom szövődmények megjelenése befolyásolja-e a hosszabbítás eredményességét?

6. A humerus hosszabbítás alatt hogyan változik a végtag funkciója?

# 3. Módszerek

23 új-zélandi fehér nyúlon végeztünk végtaghosszabbítást. A műtétet 7 napos kompresszió követte. Az állatokat 6 csoportra osztottuk. Az első csoportba (G1) tartozó 4 felnőtt állat lábán napi 0,8mm-t nyújtottunk. A második (G2) csoportban (5 felnőtt állat) 1,6mm-t hosszabbítottunk naponta (2X0,8mm). A hármas (G3) csoportba 5 fiatal állat került és hátsó végtagjukat naponta 0,8mm-rel hosszabbítottuk. A négyes (G4) csoportba tartozó 4 fiatal állat hátsó lábán 2X0,8mm-t nyújtottunk. Az elongációt mind a 4 csoportban addig folytattuk, ameddig a végtag az eredeti hosszának 120%-át el nem érte. Az ötös G5 (2 felnőtt nyúl) és a hatos G6 (3 fiatal nyúl) csoportba kerültek az áloperált állatok. (Az áloperált állatokon elvégeztük a műtétet és a fixateurt is behelyeztük, de a végtagot nem nyújtottuk) A fiatal állatok 9 a felnőttek 28 hetesek voltak ( 1. táblázat).

| | **Fiatal állatok** | **Felnőtt állatok** |
|---|---|---|
| **Testsúly hosszabbítás előtt (kg)** | 2,35 (±0,52) | 3,175 (± 0,24) |
| **Testsúly hosszabbítás után (kg)** | 2,38 (± 0,36) | 3,05 (± 0,31) |
| **Tibia hossza hosszabbítás előtt (mm)** | 92 (± 9,1) | 103,5 (± 3,87) |
| **Tibia hossza hosszabbítás után (mm)** | 112,7 (±8,2 ) | 124 (± 5,1) |
| **Hosszabbítás mértéke (%)** | 19,75 (± 2,6) | 20,8 (± 3,5) |

1. táblázat

Az állatok összesített adatai. Az átlagértékek mellett zárójelben a szórás látható.

Kísérletünkben azért használtunk nyulakat, mert viszonylag egyszerű a tartásuk és takarmányozásuk. A legfontosabb ok mégis az volt, hogy az általában használt patkány, illetve egér mérete rendkívül körülményessé teszi a végtaghosszabbítás modellezését illetve, hogy a nyúl tibiájához használható

fixateur mérete megegyezik az emberi metacarpust korrigáló készülék méreteivel. Így a felszerelés beszerzése lényegesen egyszerűbb volt.

A végtaghosszabbításhoz módosított Wagner-féle külső fixateurt használtunk (Orthofix M101 minirail standard lengtener, Olaszország)

## 3.1. Anaesthesia

Altatás előtt külön hangsúlyt fektettünk az állatok preoperatív kivizsgálására. Az általános betegvizsgálat és pontos testsúlymérés mellett, nyulak esetében a részletes légzőszervi és keringési rendszer vizsgálat elengedhetetlen. Emellett a legfontosabb figyelembe veendő szempont nyulak altatásnál, az állatfaj kifejezett stresszérzékenysége. A lehetséges kockázat mérsékelhető, ha a megfelelő anesztetikumot, a megfelelő dózisban és módon alkalmazzuk.

Altatás előtt nyulak esetében koplaltatás nem szükséges, sőt a kisebb testtömegű állatoknál a gyors anyagcsere miatt hypoglycaemia és elektrolitveszteség alakulhat ki, akár rövid időn belül is.

Műtéteink alatt intramuscularis premedikáció után, az intravénás altatási mód mellett döntöttünk, egyszerű kivitelezhetősége, biztonságossága és viszonylagos olcsósága miatt.

Altatás előtt szükség van előzetes nyugtatásra, szedációra. Ennek segítségével a túlzott stressz mérsékelhető, illetve lényegesen könnyíti a preoperatív teendők elvégzését (2. táblázat).

| Választható szer | Adag | Megjegyzés |
|---|---|---|
| Ketamin | 25-50 mg/ttkg im | Mérsékelt, erős szedáció, enyhe analgézia |
| Medetomidin | 0,1-0,5 mg/ttkg im, sc | Erős szedáció, enyhe analgézia |
| Xylazine | 2-5 mg/ttkg im | Enyhe, mérsékelt szedáció, enyhe analgézia |

2.táblázat: Nyulak esetében premedikációra használható szerek listája

Az intramusculáris (im) injekciót a combizomba, az intravénás (iv) injekciót a fülvénába, illetve a v. cephalicába adhatjuk.

Az előbb felsoroltak közül intramuscularis bevezetésre a ketamint, medetotimidinnel vagy xylazinnel kombináltuk.

A ketamin (Calypsol) ún. disszociatív anesztetikum, ami a thalamus és az agykéreg közötti ingerületvezetést kapcsolja szét, így dózistól függően szedációt, öntudatlanságot, majd szomatikus analgéziát okoz. Intramusculárisan alkalmazva a hatás maximuma 5-10 percen belül alakul ki. Habár az intramusculáris beadás fájdalmas lehet, a nyulak nem reagáltak rosszul az injekcióra. A ketamin okozta megemelkedett izomaktivitást a diazepam izomrelaxáns hatása egyensúlyozza. E két szer segítségével az állat megnyugszik, könnyen kezelhetővé válik, előkészíthető az intravénás altatásra és a műtétre (3. táblázat).

| **Altatószerek** | **Adag (mg/ttkg)** | **Hatás** | **Az anesztézia időtartama** | **Alvási idő (percben)** |
|---|---|---|---|---|
| Ketamin/diazepam | 25+5 | Sebészi anesztézia | 20-30 | 60-90 |
| Ketamin/medetomidin | 25+0,5 | Sebészi anesztézia | 30-40 | 120-240 |
| Ketamin/xylazin | 35+5 | Sebészi anesztézia | 25-40 | 60-120 |

3. táblázat: Nyulakon használható, az anesztézia fenntartására alkalmas szerek és adagjaik:

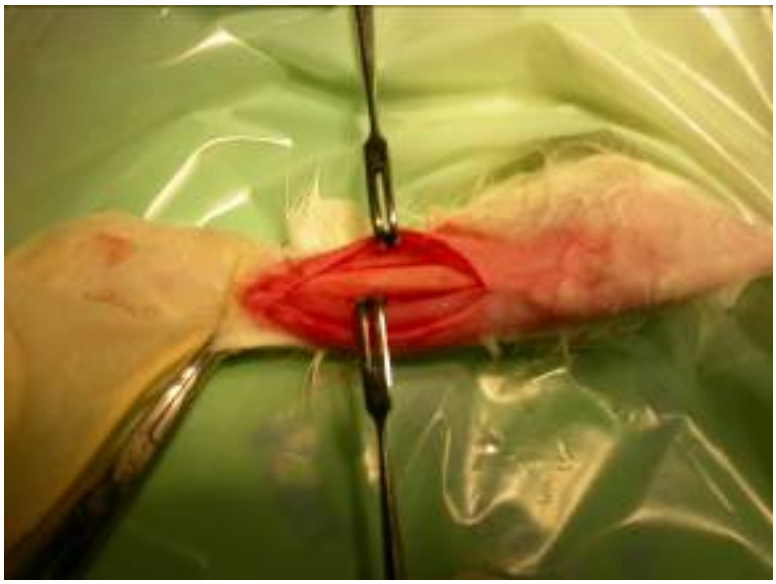
A ketamin több kedvező hatása miatt megfelelő szer a premedikáció mellett, a sebészi anesztézia létrehozására. Alvás mellett bizonyos mértékű analgéziát is létrehoz, ugyanakkor a keringést és a légzést nem deprimálja. Ketaminnál a szemhéj és cornea reflexek megtartottak, így fenntartás során a narkózis mélységének megítélésekor ezt figyelembe kell vennünk.

Medetomidin (Domitor) a cardiovasculáris mellékhatásai (beadás után kialakuló vérnyomásnövekedés reflexes bradycardiát okoz, ami következményes vértérfogat csökkenéshez és vérnyomáseséshez vezet) ellenére kiváló analgetikum és szedatívum. A cardiovasculáris mellékhatások kiküszöbölése végett, ketaminnal kombináltuk az anesztézia során, mivel a ketamin emeli a szívfrekvenciát és a vérnyomást.

Az altatás során az operált állatnál elengedhetetlen a folyamatos folyadékpótlás, testmeleg Ringer vagy Salsol infúziós oldat formájában. A műtét során a nyulakat végig oxigént lélegeztek maszkon át.

## 3.2. Műtéttechnika

A megfelelő műtéti előkészítés, borotválás, a műtéti bőrfelület alapos megtisztítása és fertőtlenítése után, az állatot hátára fektetjük és így rögzítjük. A bőrt a bal tibia cruralis régiójában, mediálisan metszük be (14. ábra).



14. ábra: A bemetszés

Tompán leválasztjuk a Musculus tibialis cranialist és a Musculus extensor digitorum longust a csontról. A Planum cutaneum mentén hosszanti irányban bemetszettük a periosteumot is, és óvatosan elemeljük. Először a legproximálisabb és a legdisztálisabb lyukakat készítettük el, hogy ezzel is biztosítsuk a fixateur korrekt elhelyezkedését.

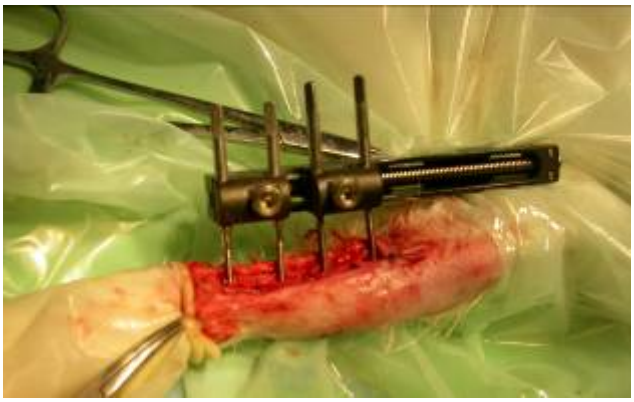
Előkísérleteink alatt kezdetben elektromos fúrót használtunk, de azt tapasztaltuk, hogy magas incidenciával okozott corticalis fissurákat, ami később a rögzítő csavarok kitöréséhez vezetett, ezért a többi állatnál már kézi fúróval végeztük el ugyanezeket a műveleteket.

15. ábra: A fixator behelyezése

Egy fém vezetőhüvely került a fixateur rögzítő részébe, a lyukakat ezen keresztül fúrtuk elő, és így biztosítottuk, hogy a furatok tengelye párhuzamos legyen. Ezek után helyükre kerültek a csavarok (15. ábra).

16. ábra: Intraoperatív felvételek a tibia osteotomiájáról

A fixateur rögzítése után elvégeztük az osteotomiát. Ez alatt különös figyelmet fordítottunk a periosteum és a lágyrészek védelmére.



17. ábra: a csontvégek kompressziója utáni állapot

Végül a komprimáltuk a törtvégeket, így segítve elő a callusképződést. A fasciát a fixateur csavarjainak vonalában felszívódó öltésekkel egyesítettük, amivel fedtük a periosteumot és az osteotomiás heget (16. ábra és 17. ábra).

A nyulakat ébredésig felügyelet alatt tartottuk, csak akkor hagytuk magukra őket, ha a fejüket már felemelték, képesek voltak felülni, teljesen magukhoz tértek. Ébredés során az állat különösen érzékeny a nem kielégítő környezeti hőmérsékletre, ezért a már megoperált nyulakat továbbra is melegítő párnán tartottuk, illetve alaposan betakartuk a testüket, hogy védjük őket a komolyabb lehüléstől.

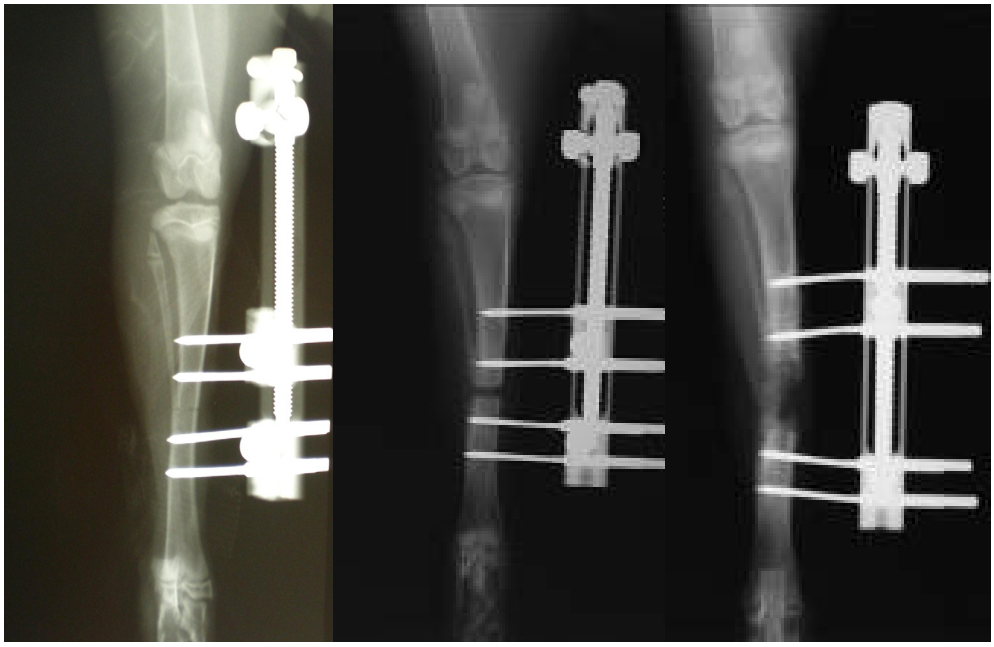
Kontroll kétirányú röntgenfelvételek – dorsoplantaris és lateromedialis – közvetlenül a műtét után, a 10. és a 27. postoperatív napon készültek. Az első rtg célja a csavarok és a fixateur helyzetének ellenőrzése, a második és a harmadik felvételen a végtag nyújtását kontrolláltuk. A műtét után valamennyi állatot antibiotikumos védelemben részesítettük, intramusculárisan 10 mg/ttkg adagban enrofloxacin (Ganadexil) injekciót kaptak. Postoperatív fájdalomcsillapításra nem volt szükség.

## 3.3. Posztoperatív gondozás

A kísérlet alatt a nyulak tartási helyén, a Szent István Egyetem Állatorvostudományi kar, Sebészeti és Szemészeti tanszékének egy használaton kívüli kórtermében igyekeztünk a lehető legoptimálisabb körülményeket biztosítani. Az optimális sebgyógyulás és csontnövekedés biztosításához, elkerülhetetlen a környezeti hőmérséklet optimalizálása (18-25 °C) leginkább a 60-70%-os relatív páratartalom a megfelelő.

## 3.4. A hosszabbítás protokollja

Hét napos kompressziós szakasz után naponta egy millimétert hosszabbítottunk. A cél a húsz százalékos hosszabbítás elérése volt, amit az elkészített röntgenfelvételeken pontos mérésekkel ellenőriztünk (csavarok közti táv mérés). A hosszabbítási napok számát a tibia eredeti hossza, és a radiológiai képek alapján állapítottuk meg (18. ábra). A kísérletek alatt naponta került sor a különböző eredmények kiértékelésére. A nyulak a postoperativ szakban folyamatos fizikai és röntgen kontroll alatt álltak. Minden szövődményt illetve komplikációt feljegyeztünk; így a fájdalmat, a sebfertőzést, a normálistól eltérő duzzanatot, illetve a csavarok abnormális vagy csökkent helyváltoztatását, vagy a készülék bármilyen jellegű instabilitását. A nyulak járását és tartási helyzeteit is vizsgáltuk.



a. b. c.

18.ábra.

Nyúl tibia rtg. felvételek postoperativ (a), 7. napos (b) és 21 napos (c) hosszabbítás után. radiológiai felvételei. Látható a csontképződés az osteotomizált csontvégek között.

A nyulak esetében fellépő posztoperatív szövődményi sajátosság a csavar felületén előforduló repesztéses törések voltak. Komolyabb komplikációt a gyógyulási szakaszban nem észleltünk, a fellépő egyszerűbb szövődményeket, pedig eredményesen kezeltük.

## 3.5. Az állatok előkészítése a szövettani mintavételhez

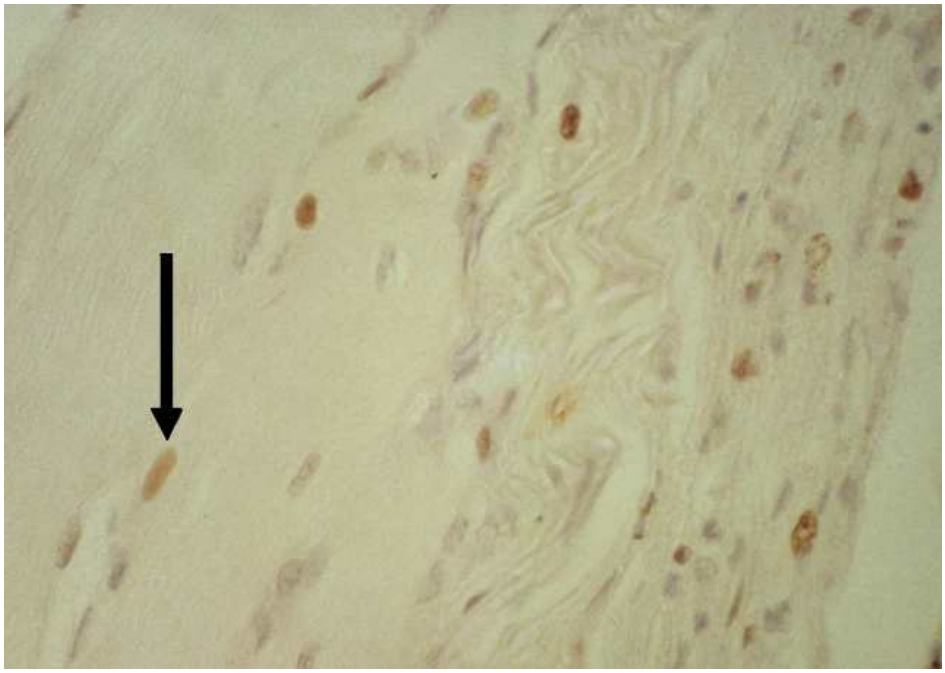
Az osztódó sejteket intravénásan adott timidin analóggal jeleztük. Az állatok egy órával a feldolgozás előtt intravénásan 40mg/ttkg BrdU-t (bromodeoxyuridint) kaptak. BrdU (Sigma Chemical, Poole, Egyesült Királyság) a timidinnel verseng a DNS kettős láncba épülésért, ezután stabilan bent marad.

Az állatok előkészítésénél formalinos fixálásra volt szükségünk. Az állatokat perfundáltuk mert ez lényegesen gyorsítja a formalin szöveti penetrációját. A nyulakat a műtéteknél alkalmazott protokoll szerint altattuk, majd transcardialisan 300 ml NaCl infúziót kaptak, amit 2000 ml 4%-os formaldehid 0,1%-os foszfátpufferben oldott elegyének (pH 7,4) injektálása követett. Ezzel az eljárással készítettük elő őket szövettani mintavételhez.

A flexor digitorum longust az összes állat lábszáráról eltávolítottuk. Az izmok distalis és a proximalis részéről, valamint a myotendinosus-junctio (MTJ) területéről mintákat vettünk, majd ezeket paraffinba ágyaztuk és 5 μm vastagságú szeleteket készítettünk. Egy részüket Haematoxylin-Eosin-nal, Wiegrt Van Gieson trichrome-mal és Masson trichrome-mal megfestettük, másik részükön immunhisztokémiai jelölést végeztünk.

## 3.6. Immunhisztokémia

Deparaffinálás után a metszeteket átmostuk. A minták rehidrálását követően 0,1%-os triprszines kezelést alkalmazunk. Ahhoz, hogy a DNS- be beépült BrdU-t később láthatóvá tudjuk tenni az örökítő anyagot denaturálni kell (1 M 60 °C-os sósav fürdő 10 percig). Háromszor átmossuk foszfát-pufferes oldattal (PBS). Monoklonalis antitesteket (Bu20a) az osztódó sejtek (kötött BrdU) kimutatására használtuk (Magaud és mtsai 1989). Ezt követően a primer antitesteket PBS oldattal kimostuk a mintákból, majd tormaperoxidázzal konjugált nyúlban termelt egér ellenes antitestet (secunder antitest) (Sigma Chemical Co., Poole, Dorset, Egyesült Királyság) vittünk fel a metszetekre. Mosás után (PB oldat) 0,3 v/v hidrogén peroxidot tartalmazó PB- ben oldott DAB-bal (Sigma Chemical Co., Poole, Dorset, Egyesült Királyság) 3 percig kezeltük a mintákat. A DAB csökkenti a secunder antitest kötődését az indifferens helyekhez. Végül egy gyenge Mayer haematoxylin festést alkalmaztunk háttérfestésként (19.ábra). A pozitív kontrollt vékonybél, a negatívat máj metszetek szolgáltatták (Tatsumi, 1998).



19. ábra

BrdU- val jelölt az izomban az MTJ mellett (nagyítás x400).

Metszetenként 20 látótérben számoltuk meg a sejteket. Majd ebből számítottuk ki a festődési indexet (Positive Staining Index)

$$PSI = \frac{\text{Pozitívan festődött izomsejtmag}}{\text{Összes festődött izomsejtmag}} \times 100$$

## 3.7. Szövettani elváltozások elemzése

A metszeteket Zeiss ICM 405 mikroszkóppal vizsgáltuk és a felvételeket Zeiss M 35-s kamerával rögzítettük. Térhálós lencse segítségével határoztuk meg a vizsgálandó területet. A hisztopatológiai elváltozásokat Lee semi-quantitaiv pontrendszerével elemeztük. Az általa használt 5 paramétert 9-re bővítettük. A négyzetek mérete megegyezett a Lee által javasolttal. Minden metszetből 20 látóteret számoltunk meg.

Lee histopathológiai pontrendszere:

Az elváltozásokat 0-3-ig pontoztuk. A 0 a normál volt. A normál értékek az ellenoldali ép izmok mintákból számoltuk.

1. *Izomatrófia:*

   0- normál
   1- az izomrostok nagysága 2/3-a az ellenoldali ép izomrost méretnek, és ez a látótér kevesebb, mint 20%-ban megfigyelhető
   2- az izomrostok nagysága 2/3-a az ellenoldali ép izomrost méretnek, és ez a látótér 20-40%-ban megfigyelhető
   3- az izomrostok nagysága 2/3-a az ellenoldali ép izomrost méretnek, és ez a látótér több, mint 40%-ban megfigyelhető

2. *Izomsejt mag internalizáció:*

   0- normál
   1- 3-5 izomrost centralizált maggal 10 látótérben

2- 10-ből 6 látótérben, látóterenként 5> izomrost centralizált maggal egészen látóterenkénti 5 izomrost centralizált magig

3- látóterenkénti 5< izomrost centralizált maggal

3. *Izom degeneráció:*

0- normál

1- 1-2 degenerálódó izomrost 10 látótérben

2- 3-10 degenerálódó izomrost 10 látótérben

3- 10< degenerálódó izomrost 10 látótérben

A degenerálódó izomrostokra az acidofil citoplazma, H-E festés mellett a harántcsíkolat eltűnése a jellemző. A necrotikus sejtmaradványok eltakarítását makrofágok végzik, amelyek szintén jól láthatóak a metszetekben.

4. *Izom regeneráció:*

0- normál

1- 1-2 regenerálódó izomrost 10 látótérben

2- 3-10 regenerálódó izomrost 10 látótérben

3- 10< regenerálódó izomrost 10 látótérben

A regenerálódó izomrostokat a nagy sejtmag, prominens magvacska és enyhén bazofilabb sejtplazma alapján különítettük el.

5. *Endo-perimysialis fibrosis:*

0- normál

1- enyhe részleges fibrosis

2- 1 és 3 között

3- erőtejes kiterjedt fibrosis

6. *Izomsejtmag internalizáció a mytendinosus junctio(MTJ) vonalában:*

   0- normál (az MTJ a látótér középvonalában)
   1- <6 izomsejt mag internalizáció egy látótérben
   2- 10-21 izomsejt mag internalizáció egy látótérben
   3- 20< izomsejt mag internalizáció egy látótérben

7. *Sejtszám az MTJ vonalában:*

   0- normál <10 sejt egy látótérben
   1- 10-20 sejt egy látótérben
   2- 1 és 3 között
   3- 50< sejt egy látótérben

8. *Kapillárisok száma az MTJ területén:*

   0- normál 0-10 ér 10 látótérben
   1- 5-10 ér 10 látótérben
   2- 1 és 3 között
   3- <15 ér 10 látótérben

9. *Haematomák az MTJ területén:*

   0- normál, nincs haematoma,
   1- csak elszórt apró bevérzések
   2- 1 és 3 között, 3- sok nagy kiterjedésű bevérzés

Az adataink kiértékeléséhez Kruskal-Wallis és Mann-Whitney U tesztet használtunk. A Kruskal-Wallis próba végrehajtása során a mintákat együtt rangsoroljuk, vagyis csoporttól függetlenül készítjük el a rangszámokat. Egyenlő adatok esetén korrigálunk a rangszámok átlagával. Végül csoportonként külön-külön összeadjuk a rangszámokat. A rangszámösszegekből egy képlet segítségével

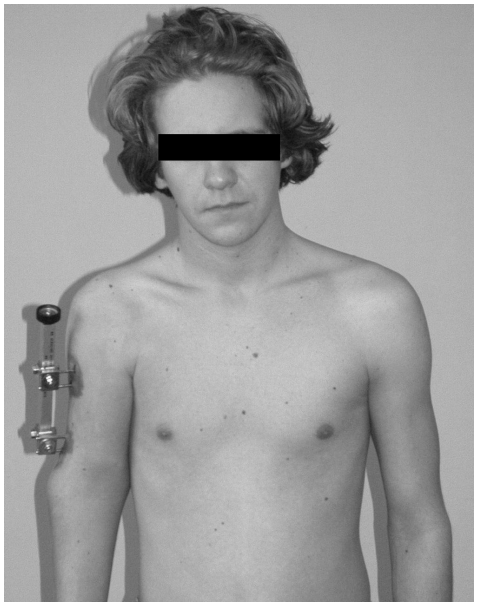
kiszámíthatjuk a *H*-val jelölt próbastatisztika értékét. Az eredményképpen kapott *p*-érték alapján csak annyit tudunk megállapítani, van-e a csoportok között a többitől eltérő. Nemszignifikáns esetben az analízist befejeztük. Ha a *p*-érték alapján szignifikáns a különbség, a páronkénti összehasonlításra a Mann-Whitney U eljárást alkalmaztuk.

Egy kicsit bonyolultabb a Mann-Whitney U statisztika számítása, amely két csoport elemeinek a párba állításán alapul. Az egyik csoport minden egyes elemét ($x_i$ ) párba állítjuk a másik csoport minden egyes elemével (yi), az így keletkezett párok száma n1n2. Megvizsgáljuk, hogy a párok között hány olyan van, ahol az első szám kisebb, mint a másik ($x_i$ l $y_i$ .). Ezeknek a pároknak a száma a Mann-Whitney U -val jelölt statisztika (pontosabban, ha vannak a párok között egyenlők is, akkor az egyenlő párok számának a felét még hozzávesszük U-hoz). Ha a két populáció között nincs különbség, körülbelül egyforma számú olyan pár lesz, amelyekben $x_i$ $y_i$ , mint amelyekben fordított a helyzet. Ha nagyon sok vagy nagyon kevés ilyen pár van, az arra utal, hogy a két populációban lévő számok nem egyformák egymáshoz viszonyítva. Az U/$n_1n_2$ hányados annak a valószínűségnek a becslése, hogy egy, az első populációból véletlenszerűen választott új egyed értéke kisebb lesz, mint a másik populációból választott új egyedé. A módszer igen egyszerű: a két mintát együtt rangsoroljuk, vagyis csoporttól függetlenül készítjük el a rangszámokat. Egyenlő adatok esetén korrigálunk a rangszámok átlagával, a kapott rangszámokat kapcsolt rangoknak nevezzük. Végül csoportonként külön-külön összeadjuk a rangszámokat (elég az egyiket, pl. a kisebb elemszámú csoportét). Ha igaz a nullhipotézis, a két rangszámösszeg közel egyforma lesz. Minél nagyobb a két rangszámösszeg közötti eltérés, annál inkább gondolhatunk arra, hogy az egyik populációban eleve nagyobb értékek vannak, mint a másikban (Dinya 2001). Az eredmények statisztikai értékeléséhez Statisztika 6.0 szoftvert alkalmaztunk.

## 3.8. Humerus hosszabbításon átesett betegek adatai

A Semmelweis Egyetem Ortopédiai Klinikáján 1985 és 2005 között tíz betegnél 11 esetben történt humerus hosszabbítás, öt nőn és öt férfin. Életkoruk 12 és 32 év között változott, átlagosan 17,8 év. A rövidülés átlagos nagysága 8,4 (4,5-13,5) cm volt. Számos kórkép jelent meg az etiológiában, leggyakrabban azonban kongenitális eredetet észleltünk (4. táblázat).

A hosszabbítást Wagner „midi" vagy normál méretű készülékkel végeztük (20.ábra). A szerkezet felhelyezése után a humerus diaphysis közepén felkerestük és izoláltuk a n. radialist, hogy az osteotomiát biztonságosan tudjuk elvégezni. Az első hét napon a készülékkel kompressziót végeztünk, ezt követően kezdtük meg a hosszabbítást napi 2 x ½ mm-rel. A betegek megtanulták a készülék kezelését, a szegek bemeneti helyének az ápolását, valamint a gyógytornát.



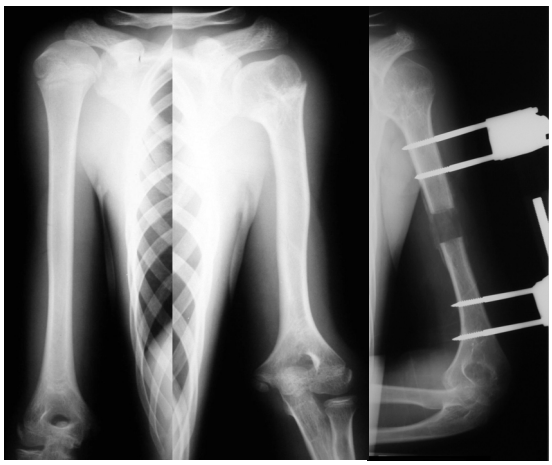
20. ábra: 20 éves férfibetegen congenitális hypoplasia miatt végeztünk felkarhosszabbítást „midi" Wagner-készülékkel.

A műtét utáni 12-14. napon a betegek eltávoztak, és a nyújtást otthonukban folytatták. A váll- és könyökízületi funkciókat 2-4 hetente, a tengelyállást és a csontosodást 2-6 hetenként végzett röntgenfelvételekkel ellenőriztük. A készüléket a teljes csontos

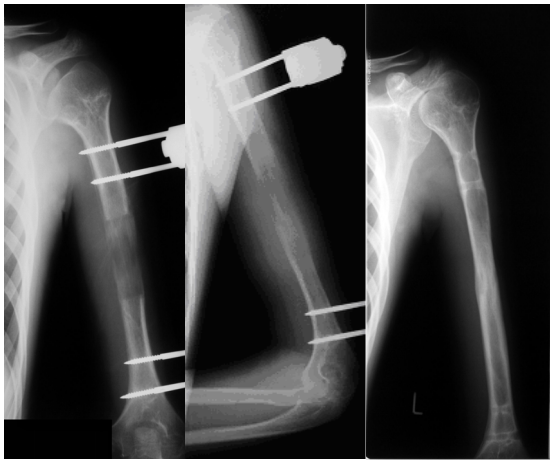
átépülésig a végtagon hagytuk, lemezes osteosynthesist és spongiosa plasticát nem végeztünk (21 a-e. ábra).

| Beteg | Életkor | Rövidülés (cm) | Elért hossz (cm) | Hosszabbítás mértéke(%) | Etiológia |
|---|---|---|---|---|---|
| P.G.M. | 31,9 | 4,5 | 4,5 | 18,8 | congenitalis |
| S.Sz. | 19,0 | 8 | 6 | 26,1 | postirradiatios |
| K.F. | 16,5 | 10 | 5 | 20,8 | congenitalis |
| B.R. | 19,6 | 13,5 | 8 | 44,4 | laes plex.brach |
| K.F. | 17,7 | 5 | 4,5 | 16,1 | congenitalis |
| H.A. | 13,1 | 10 | 6,5 | 36,1 | osteomyelitis |
| M.M. | 14,9 | 5 | 5 | 19,6 | congenitalis |
| B.Á. | 18,2 | 5,5 | 5 | 20,4 | epiphyseolysis |
| B.J. | 12,6 | 10 | 6,5 | 20,3 | osteomyelitis |
| C.P. | 12,6 | 10,5 | 10,5 | 43,8 | osteomyelitis |
| B.M. | 20,1 | 10 | 6,5 | 32,5 | congenitalis |
| **Átlag** | **17,8** | **8,4** | **6,2** | **27,2** | |

4. táblázat: A tizenegy hosszabbításon átesett betegünk összesített adatai.



21a. 21b.



21c. 21d. 21e.

21a. ábra: 12,5 éves fiúgyermek felkar felvétele. Csecsemőkorban lezajlott osteomyelitis miatt kialakult 10,5 cm-es bal oldali humerus rövidülést mutat. 21b: A hosszabbítás megkezdése után 3 héttel. 21c: 6 hét eltelte után; 21d: 10,5 cm hosszabbítás elérésekor; 21e: 10 hónappal a hosszabbítás megkezdése után, a készülék eltávolítását követően.

# 4. Eredmények

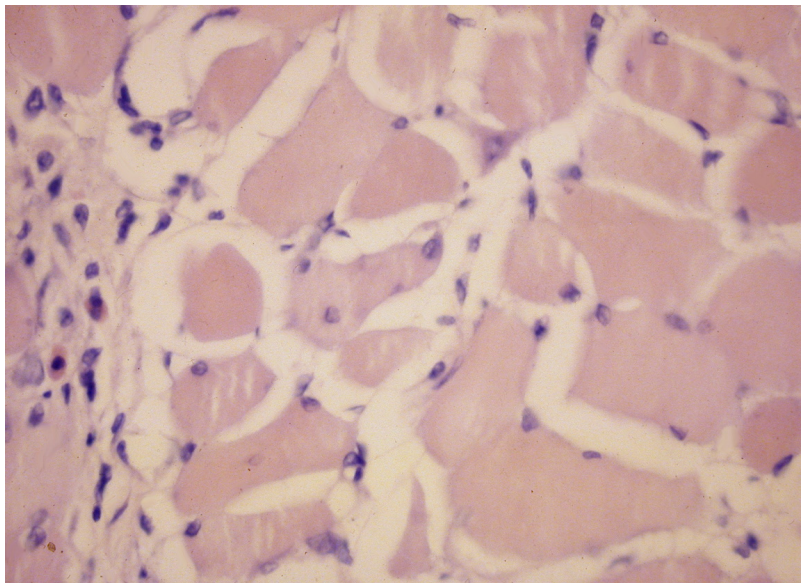
Az áloperált állatok m. flexor digitorum longus (FDL) mind az operált, mind a kontroll oldalon ugyan olyan hosszú volt. Előzetes várakozásainknak megfelelően, FDL-k hossza a hosszabbított végtagokon szignifikánsan emelkedett a kontroll oldaliakhoz viszonyítva (5. táblázat).

| | Átlagos hossz kontroll oldal | Átlagos hossz hosszabbított oldal | Nyújtás mértéke % |
|---|---|---|---|
| **Áloperált G5,G6** | 72,3 (12,2) | 72,6 (12,4) | 0,4 |
| **Felnőtt G1 (0,8 mm/nap)** | 76,9 (6,07) | 84,6 (8,15) | 10 |
| **Felnőtt G2 (1,6 mm/nap)** | 74,4 (5,3) | 84,7 (5,6) | 13,8 |
| **Fiatal G3 (0,8 mm/nap)** | 68,17 (1,59) | 76,87 (2,78) | 12,7 |
| **Fiatal G4 (1,6 mm/nap)** | 68,4 (3,58) | 77,6 (4,63) | 13,4 |

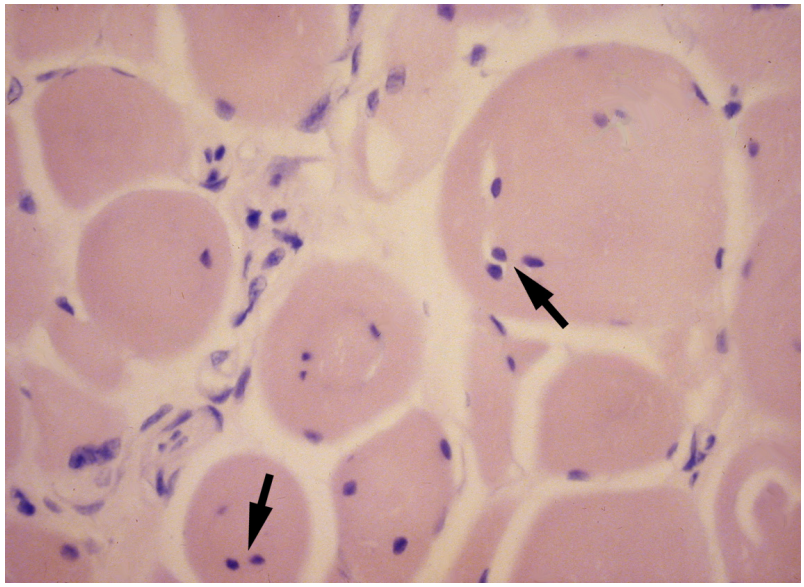
5. táblázat: Az FDL átlagos hossza. Zárójelekben a szórás látható

## 4.1. Histopathológiai vizsgálatok eredményei

Azok a felnőtt állatok, amelyeken napi 1,6mm-t hosszabbítottunk (G2) szignifikánsan nagyobb izomrost átmérő változékonyságot mutattak (ami az izom atrophiára utal), mint azon társaik, akiknél csak 0,8mm hosszabbítottunk (G1) ($p<0,005$) (22. ábra). A két fiatal csoport között (G3,G4) nem találtunk statisztikailag kimutatható különbséget, de nagyobb mértékékű hosszabbítás mellett emelkedett értéket mutatott.



22. ábra: Izomrost atrophia score=3. Felnőtt hosszabbított G2 csoport (1.6mm/nap, 20%) HE x400

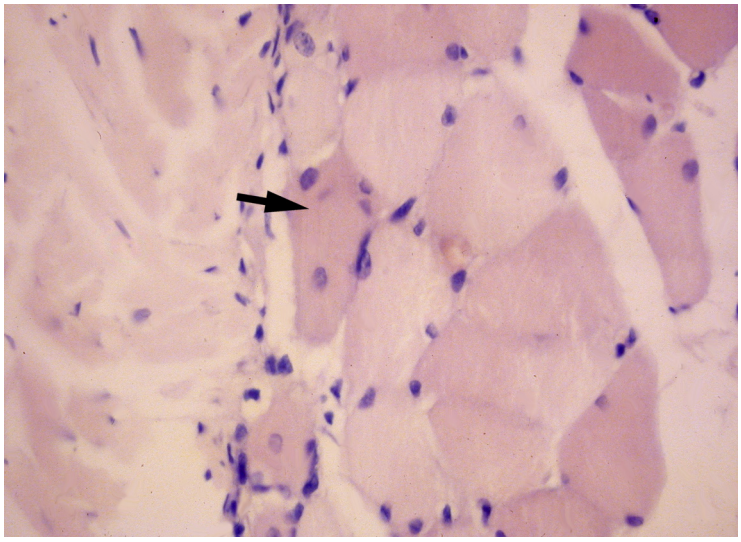


23. ábra: Sejtmag internalizáció (nyilak) score=3. Felnőtt hosszabbított G2 (1.6mm/nap, 20%) csoport HE x400.

Abban az esetben, ha az életkor szerint hasonlítottuk össze a nyulakat, akkor a felnőtt állatokban (0,8mm/nap és a 1,6mm/nap) szignifikánsan emelkedett az izomrost átmérő változékonyság ($p<0,05$), a fiatalokhoz viszonyítva (Átlag értékek: Gl: 1,5; G3: 1,2; G2: 2,35; G4: 1,375) (6. táblázat, 24. ábra). Az izmok distalis részében is emelkedett ez a szám, de a különbség nem volt szignifikáns. (Gl prox: 1,375; Gl dist: 1,625; G2 prox: 2,1; G2 dist: 2,6; G3 prox: 1; G3 dist: 1,4; G4 prox: 1,25; G4 dist: 1,4) (25. ábra).

G2 csoport állataiban az izomsejtmag internalizáció (23. ábra) lényegesen erőteljesebb volt, mint a fiatal G4 csoportban ($p<0,05$). A G1 és a G3 csoport között nem találtunk különbséget (Átlag értékek: Gl: 0,75; G2: 1,35; G3:0,8; G4: 0,9375 ) (5. táblázat, 24. ábra). Abban az esetben, ha a mintavétel magassága szerint vizsgálódunk, akkor csak a G1 csoport distalis részében találunk szignifikánsan emelkedett izomsejtmag internalizációt (az adott izom proximalis részéhez viszonyítva) ($p<0,05$). (Átlag értékek: Gl prox: 0,5; Gl dist: 1; G2 prox: 1,3; G2 dist: 1,4; G3 prox: 0,7; G3 dist: 0,9; G4 prox: 0,625; G4 dist: 1) (25. ábra).

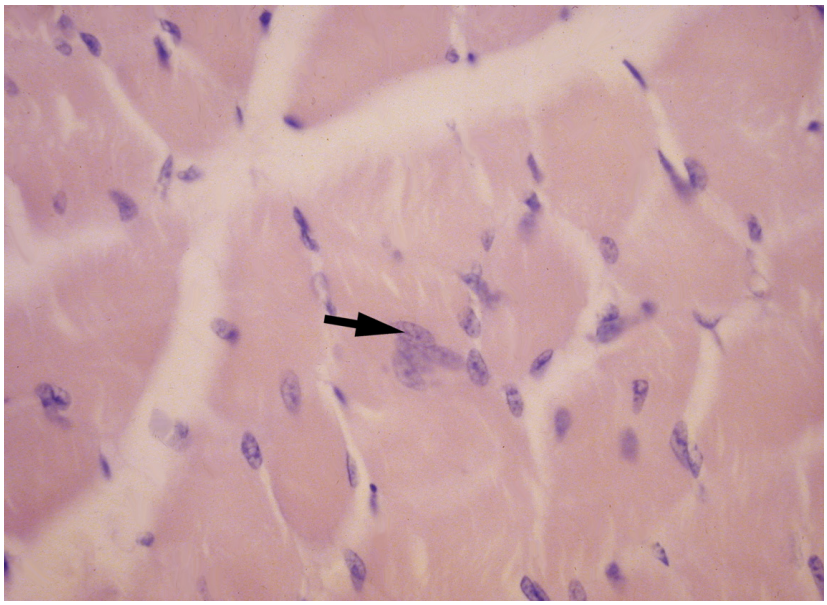
Szignifikánsan emelkedett a degenerált izomrostok aránya a felnőtt (G1, G2) csoportokban ($p<0,05$) a fiatalokhoz képest (G3, G4). De ezen degeneratív jel megjelenése proximalis és a distalis minták között különbség nem mutatkozott. (Átlag értékek: Gl: 1,1875; G2:1,95; G3: 0,85; G4: 1,25 ).



24.ábra: Regenerálódó izomrost az MTJ közelében. Relatív nagy sejtmag és bazofil sejtplazma jellemzi(nyíl jelöli).Fiatal hosszabbított G4 csoport (1,6 mm/nap, 20% ) HEx400

A hosszabbított izomrostokban megfigyelhető, hogy a fiatalabb egyedek szignifikánsan jobb regenerációs készséget mutatnak, mint idősebb társaik ($p<0,001$) (6 táblázat, 26. és 27. ábra).

Amikor a G1 és a G2 csoportot hasonlítottuk össze, azt tapasztaltuk, hogy a G2 csoport regenerációs pontszáma több mint a duplája a G1-nak ($p<0,001$). (Átlag értékek: Gl: 0,375; G2: 0,95; G3: 0,8; G4: 1,75) (6. táblázat, 27. ábra). A fiatal csoportokban (24. ábra) is hasonló arányú izomregeneráció figyelhető meg, csak a regeneráció abszolút értékei magasabbak. A proximails és a distalis minták között nem találtunk különbséget (Átlag értékek: Gl prox: 0,375; Gl dist: 0,375; G2 prox: 0,9; G2 dist G3 prox: 0,8; G3 prox: 0,8; G4 prox: 1,625; G4 prox: 1,75) (27.ábra).



25. ábra: Regenerálódó izomrost nagy sejtmaggal, prominens magvacskával és enyhén bazofilabb sejtplazmával (nyíl). Fiatal hosszabbított G4 (1.6mm/day, 20%) csoport HE x400.

A felnőtt állatokban a peri-és endomysialis fibrosis sokkal erőteljesebb volt, mint fiatalabb társaiknál. Úgy tűnik, hogy a nagyobb mértékű nyújtás, nagyabb mennyiségű fibrotikus szövetet eredményez. (Gl-G2: $p < 0,001$; G3-G4: $p < 0,01$ ). A distalis és a proximalis régiók között nem volt különbség (Átlag értékek: Gl PROX: 1;

Gl DIST: 1,125; G2 PROX: 2,8; G2 DIST: 2,9; G3 PROX: 0,8; G3 DIST: 0,9; G4 PROX: 1,375; G4 DIST: 1,5).

Azokban az állatokban, amelyeken napi 1,6mm-t (G2,G4) hosszabbítottunk szignifikánsan megemelkedett az izomsejtmag internalizáció az MTJ területén, a 0,8 mm/nap (G1,G3) csoportokhoz képest ( Gl-G2: $p < 0.001$; G3-G4: $p < 0.001$ ). E mellett a fiatal egyedek is emelkedett izomsejtmag internalizációt mutattak a felnőtt csoportokhoz képest.

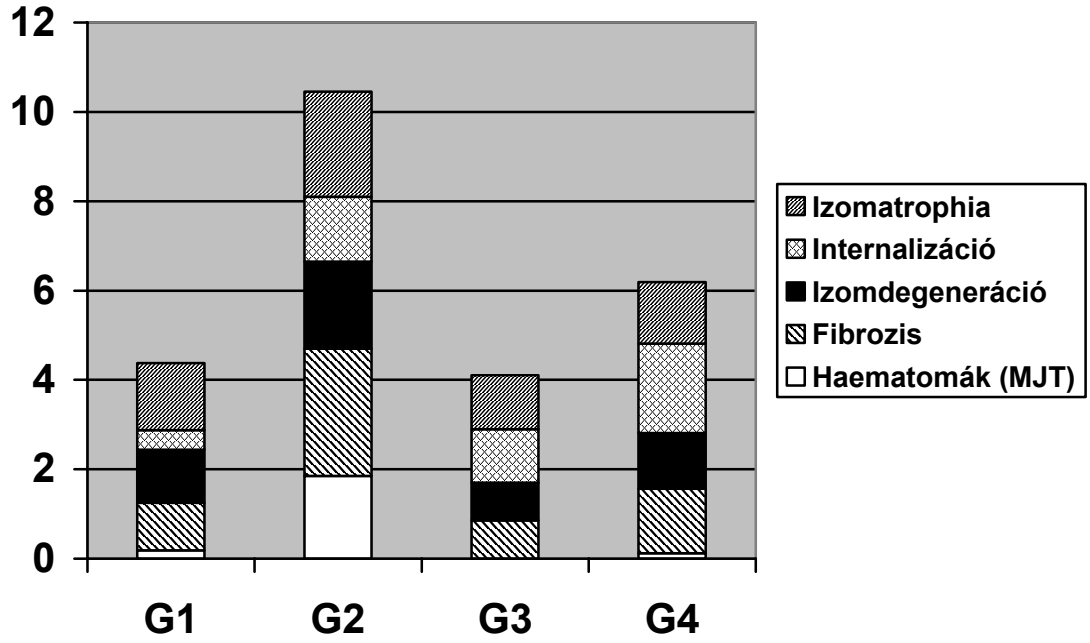
A gyorsabb ütemű hosszabbítás hatására nagyobb mértékben emelkedett a sejt szám az MTJ területén, mint a kisebb mértékű nyújtás hatására. (Gl-G2: $p < 0,001$; G3-G4: $p < 0,01$).

A G4-es csoportban emelkedett kapilláris számot detektáltunk a G3-hoz képest. A felnőtt csoportokban lényegesen nagyobb mennyiségű haematoma alakult ki 1,6mm/nap hosszabbításnál az MTJ területén, mint a 0,8mm/nap csoportban (G1-G2: $p < 0,001$ ). A fiatal egyedeket kevésbé érinti ez jelenség. (G1: 0,1875; G2: 1,85; G3: 0; G4: 0,1) (6. táblázat).

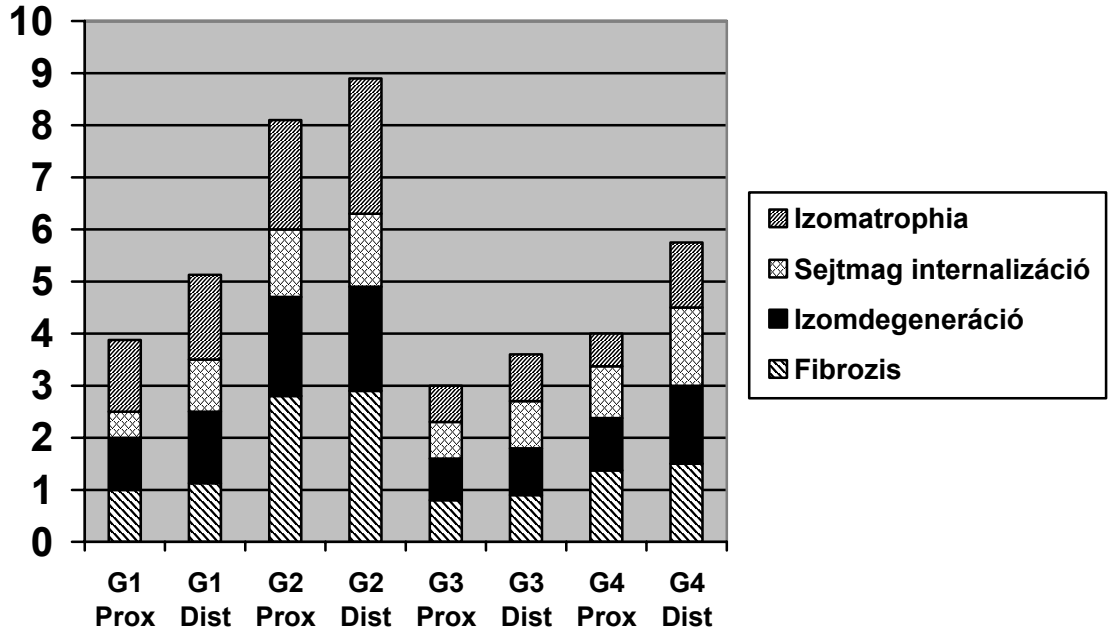
| | Felnőtt | | Fiatal | | Felnőtt | Fiatal |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.8mm /nap G1 | 1.6mm /nap G2 | 0.8mm /nap G3 | 1.6mm /nap G4 | Áloperált G5 | Áloperált G6 |
| Izom atrophia | 1,5 | 2,35 | 1,2 | 1,375 | 0 | 0,0833 |
| Sejtmag internalizáció | 0,75 | 1,35 | 0,8 | 0,9375 | 0,125 | 0,0833 |
| Izom degeneráció | 1,1875 | 1,95 | 0,85 | 1,25 | 0,125 | 0,0833 |
| Izom regeneráció | 0,375 | 0,95 | 0,8 | 1,6875 | 0 | 0 |
| Endomysial és perimysial izomfibrosis | 1,0625 | 2,85 | 0,85 | 1,4375 | 0 | 0 |
| Sejtmag internalizáció az MTJ területén | 0,4375 | 1,45 | 1,2 | 2 | 0 | 0,0833 |
| Sejtszám az MTJ területén | 0,5625 | 1,95 | 0,95 | 1,625 | 0 | 0 |
| Kapillárisok száma az MTJ területén | 0,25 | 1,1 | 0 | 1,375 | 0,125 | 0 |
| Haematomák az MTJ területén | 0,1875 | 1,85 | 0 | 0,125 | 0 | 0 |

6. táblázat

Hisztopatológiai elvátozások összesített eredményei




26. ábra: Összesített izomdegenerációs paraméterek

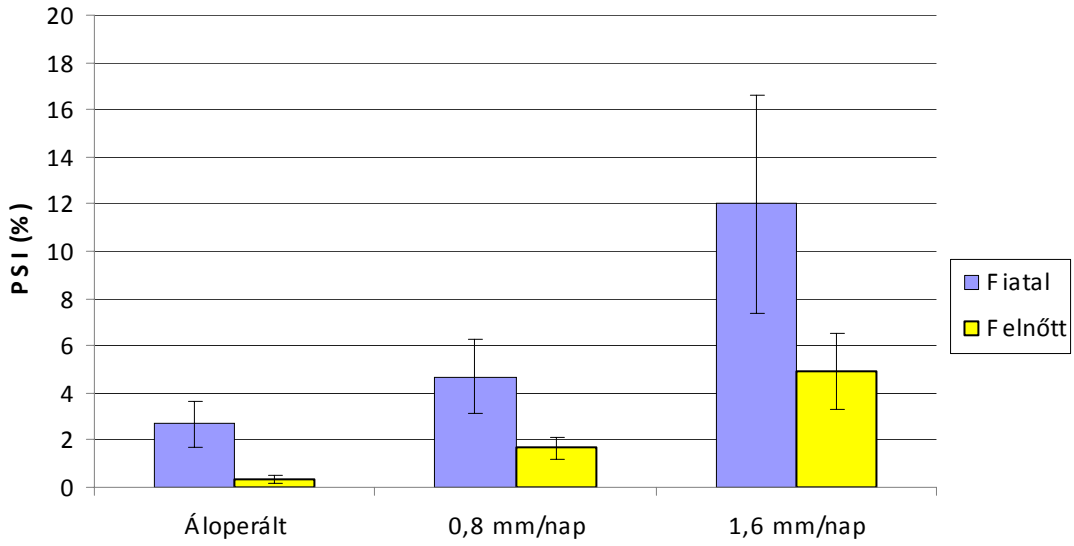



27. ábra: FDL proximalis és distalis részének degeneratív elváltozásai.

## 4.2. Immunhisztokémiai vizsgálat eredményei

A felnőtt áloperált állatok festődési indexe nem mutatott különbséget az operált és a kontroll oldalon. Az előzőekhez hasonlóan a fiatal áloperált állatok esetében is ezt tapasztaltuk.

A hosszabbított végtagok minden esetben magasabb festődési indexet mutattak, mint a kontrollok. Adataink alapján megállapítható, hogy az izomhas területén a nyújtást követően átlagosan kb. hatszor több aktív, osztódó, myogenikus sejt található a kifejlett nyulakban, az áloperáltakhoz viszonyítva (G5: 0,34%, G1: 1,67%, G2: 4,9%). A fiatal, még fejlődő állatok esetében a hosszabbítási rátától függően myogenikus sejtek 2-3 gyakoribbak, mint az áloperált társaiknál (G6: 2,7%, G3: 4,7%, G4: 12%) (28 ábra, 7. táblázat).



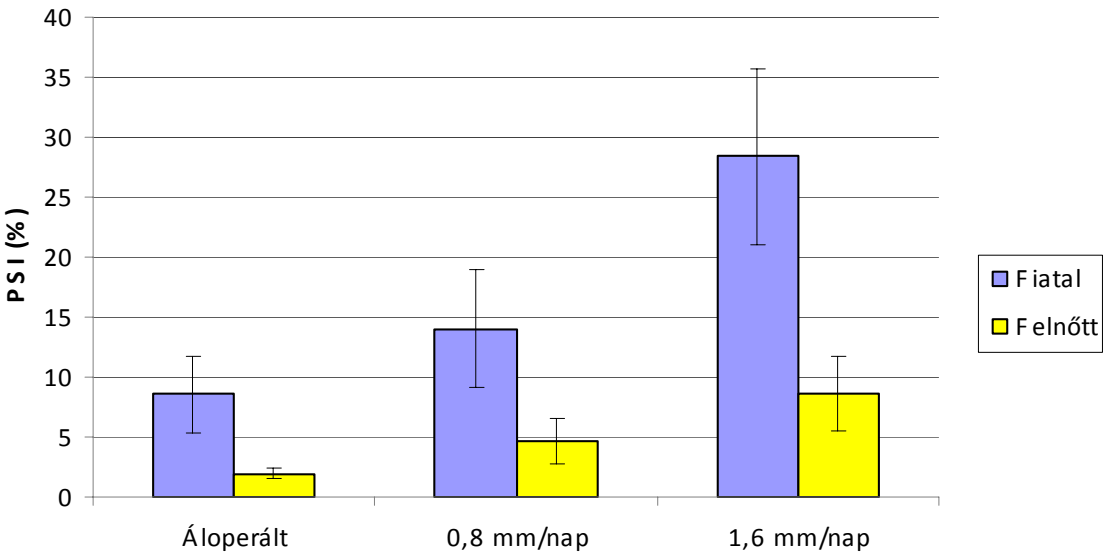

28. ábra: Az izomhas PSI értékei áloperált és nyújtott FDL-ekben.

Hasonló képet látunk az MTJ területén csak előbb említett eltérések csökkenek. Az idős állatoknál a hatszoros szorzó a felére csökken az álperált (G5) csoporthoz viszonyítva. (G5: 1,92%, G1: 4,67%, G2: 8,6%).

A hosszabbításra adott sejtproliferációs válasz a fiatalabb egyedekben arányaiban hasonló, de abszolút értékben nagyobb változást indukál (G6: 8,6%, G3: 14%, G4: 28,4%) (29 ábra, 7. táblázat). Ez azt is mutatja, hogy a fiatal egyedek izomregenerációjában és izomnövekedésében az izomhas is jelentős szerepet játszik.

A fiatal egyedek, mindkét hosszabbítási ráta mellett, mindkét régióban magasabb PSI értékeket mutattak, mint idősebb társaik.

A kísérletünk folyamán a felnőtt állatokban nagyobb mértékben változott meg az osztódó sejtek aránya, mint a fiatalabb csoportokban. Világosan látszik, hogy az idősebb áloperált nyulakban szinte csak az MTJ területén lehet osztódó szatellitsejteket látni. A hosszabbítás hatására felnőtt állatokban beindul, a fiatalabbakban pedig fokozódik a szatellitsejtek proliferatív potenciálja az izomhas területén, ami statisztikailag is igazolható ($p<0,02$) (30. ábra).




29. ábra: Az MTJ PSI értékei áloperált és nyújtott FDL-ekben.

Az összes hosszabbított csoport festődési indexe emelkedett, mind az izomhas, mind pedig az MTJ régiójában ($p<0,01$ az áloperálthoz viszonyítva). A festődési index relatív emelkedése az izomhasban kifejezettebb volt (7. táblázat).

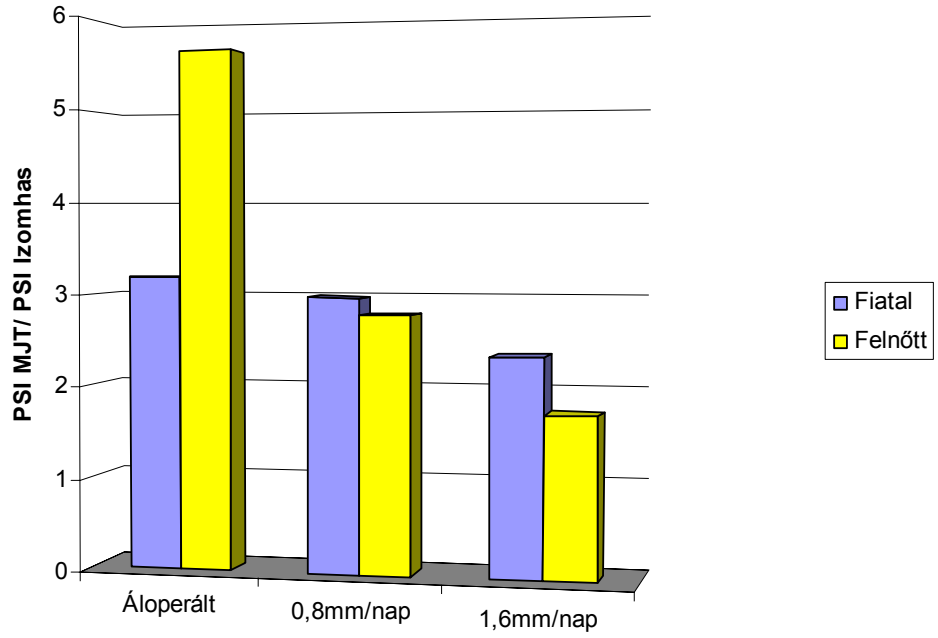
| | Fiatal | Felnőtt | p érték |
|---|---|---|---|
| **MTJ(áloperált)** | 8.6% (3.19) | 1.92% (0.41) | <0.005 |
| **Izomhas (áloperált)** | 2.7% (0.97) | 0.34% (0.16) | <0.003 |
| **MTJ (0,8 mm/nap)** | 14% (4.92) | 4,67% (1.87) | <0.007 |
| **Izomhas (0,8 mm/nap)** | 4.7% (1.6) | 1.67% (0.47) | <0.01 |
| **MTJ (1,6 mm/nap)** | 28.4% (10.3) | 8.6% (3.07) | <0.02 |
| **Izomhas (1,6 mm/nap)** | 12% (4.64) | 4.9% (1.63) | <0.03 |

7. táblázat: A csoportonkénti PSI értékeket mutatja az MTJ-ből és az izomhas területéről. Zárójelekben a szórás látható. A p-értéket a fiatal és a felnőtt csoportok között számoltuk.

Eredményeink azt mutatják, hogy az izom egy aktív, proliferatív válaszreakcióval reagál a nyújtásra, ez világosan tükröződött az osztódó sejtek számának emelkedésében.

Mivel az MTJ területén mind a fiatal, mind a felnőtt csoportban alacsonyabb arányú osztódó sejt szám emelkedést észleltünk, és az áloperált állatokban az MTJ területén nagyobb arányban találtunk osztódó sejteket, ezért úgy tűnik, hogy az MTJ tényleg döntő szerepet játszhat a harántcsíkolt izom regenerációs folyamataiban.

Emellett egyértelműen látható – főleg az idősebb állatoknál –, hogy az izomhas területén található szatellitsejtek ugyanúgy reagálnak a nyújtára, mint az MTJ területén lévők. Az izomhas területén kevesebb szatellitsejt található, ezért kisebb mértékű az itt található aktiváció. A szatellitsejt szám az nyújtási ráta emelésével nőtt, és ezzel párhuzamosan az izomhas egyre nagyobb részt vállalt az izomregenerációból, ennek a volt a jele, hogy a az MTJ és izomhas PSI hányadosa csökkent (30ábra).




30. ábra: Az MTJ és az izomhas festődési indexének arányai. Fiatal állatokban az MTJ proliferatív dominanciája kevésbé hangsúlyos, mint idősebb társaiknál.

## 4.3. Humerus hosszabbítás eredményei

Az elért hosszabbítás nagysága 4,5-10,5 cm között változott, átlagosan 6,2 cm volt. Ez az eredeti csonthosszra számítva 16-44%-os (átlag 27%) nyújtást jelent. A csontosodás gyorsasága (healing index) 25-40 nap/cm volt.

A betegek a procedúrát jól tűrték, valamennyi esetben megfelelő együttműködést tapasztaltunk, mindennapi életüket – kisebb megszorításokkal – élték (31. ábra).

31. ábra: A felkar hosszabbítása a betegek többségénél nem okozott jelentős életmódváltozást.

A csavarok mentén a betegek felénél alakult ki kisebb-nagyobb váladékozás, mely lokális vagy antibiotikummal kiegészített szisztémás kezelés hatására megszűnt. A vállízületi mozgások a hosszabbítás során nem károsodtak. Két betegnél alakult ki 20 ill. 45 fokos flexiós könyökízületi kontraktúra, mely tornáztatásra javult, de teljesen csak a készülék eltávolítása után oldódott meg (ez az eseteink 18,2%-a). Egy esetben jelentkezett radialis paresis a műtet követően (9,2%). A hosszabbítást a szokásos módon folytattuk, mellette szelektív ingeráram kezelést és a gyógytornát alkalmaztunk. A paresis három hónap alatt szűnt meg, a tervezett hosszabbítás megtörtént. Álízület képződést, illetve egyéb major szövődményt egyetlen betegnél sem tapasztaltunk.

# 5.Megbeszélés

## 5.1. Histopathológiai elváltozások elemzése

Elemezve az öt fő izomdegenerációs paramétert (izomrost átmérő változékonyságot, izomsejtmag internalizáció, degenerált izomrostok aránya, peri-és endomysialis fibrosis, haematomák az MTJ területén) kimondható, hogy nagyobb mértékű hosszabbítás, nagyobb izomkárosodást okoz. A felnőtt G2 csoport sokkal rosszabbul viselte a nyújtást – több és súlyosabb szövődmények alakultak ki –, mint a fiatalabb G4 csoport. Mindezek mellet észrevehető egy tendencia – ami statisztikailag nem kimutatható –, miszerint a hosszabbított izmok distalis részét jobban megviseli a nyújtás, mint a proxilmalis harmadát.

A G2 (1,6mm/nap) csoportban a hosszabbítás során számos haematoma alakult ki. Ezek az MTJ területén gyakran kitöltik az izomrostok közötti réseket, mononuclearis infiltrátum látható bennük, ami kizárja az artifaktális eredetét. A G1 (0,8mm/nap) csoportban a haematomák számának csak 1/10-ét detektáltuk. Ez bizonyítja, hogy a haematomák egyértelműen a nyújtás hatására alakulnak ki, és előfordulásuk gyakoriságát a napi nyújtási ráta befolyásolja.

Az izomdegenerációs jelek sokkal gyakrabban fordultak elő a felnőtt csoportokban. A degeneráció kezdeti jelei (a rostok világos eosinophil-lá válnak, granulátumok jelennek meg a sarcoplasmában) leginkább az MTJ területén jellemzőek. Úgy tűnik, hogy a végtaghosszabbítás izomrost károsodáshoz vezet, amely rostnecrosisban és megzavart sejt membrán funcióban manifesztálódik (Dubowitz 1985, Engel 1986).

A peri-és endomysealis fibrosis mennyisége a hosszabbítás mértékével és az életkorral emelkedik. Williams (1999) vizsgálatai során is azt találta, hogy az izmok kötőszövet és kollagén tartalma szignifikánsan emelkedik a közepes nyújtási rátájú csoportban (1,6mm/nap hosszabbítás) az alacsony (0,8mm/nap) rátájú csoporthoz

viszonyítva. A kötőszövet felszaporodása utalhat az izomrost károsodás mértékére, mert Lee (1993) szerint, a sérült rostok helyének egy részét ez tölti ki. E mellett a peri- és endomysealis fibrosis emelkedett mennyisége csökkenti az izom által mozgatott ízület mozgásterjedelmét (Williams 1999). Ez a morfológiai elváltozás lehet a végtaghosszabbítás egyik fő szövődményének (ízület mozgástartományának maradandó beszűkülése) az alapja.

Mintáinkban hypervascularizációra utaló jeleket találtunk, ami az izom regeneráció egyik ismert jele (Aronson 1994). Ez sokkal kifejezettebb volt a fiatal csoportokban.

Fontos megemlíteni, hogy mindkét csoportban sejtszám növekedés volt látható az MTJ területén. Valószínű, hogy ez a reakció e régiónak a nyújtásra adott válasza. Számos esetben tapasztalták, hogy a sérült, nekrotikus szövet teljes eltávolítása előtt, már megfigyelhetőek az izomregeneráció jelei, ezért e két folyamat sokszor egy látótérben egyszerre látható (Mastalgia 1975).

A regenerációs folyamatok biztos jele az izomsejtek számának emelkedése. Tsujimura (2006) és munkatársai azt találták, hogy a harántcsíkolt izmokban található őssejtek, a sarcomerek meghatározott mértékű nyújtására aktiválódnak (Cooper 1999, Tatsumi 2001, Tsujimura 2006). Caiozzo (2002) szerint a nyújtás során az izomrost hasonlóan működik, mint egy kapcsoló. A sarcomer ha eléri a megfelelő hosszúságot, akkor a szatellitsejtek aktiválódnak. Az aktiválódott szatellitsejtek osztódni kezdenek, majd a fuzionálnak a már létező izomrostokkal és megkezdik az új izomrostok kialakítását (Hawke 2001, Schultz 1994). A szatellitsejtek száma az élet során folyamatosan csökken. Ez állhat az idősebb állatokban nagyobb mértékű sejtaktivációjának hátterében. A szatellitsejtek proliferációs hajlama a napi nyújtási ráta emelésével nőtt (a mi kísérletünkben 1,6mm/nap-ig emelkedett). Amennyiben ez az érték elérte a napi 3,2mm-t már a fiatal egyedekben is jelentősen csökkentek a regenerációs paraméterek (Pap és Szőke nem publikált megfigyelése).

Úgy tűnik, hogy az MTJ területén a legnagyobb mértékű a szatellitsejt aktiváció, ezért ez a régió igen jelentős izomrostképző képességgel rendelkezik. Gyakran nevezik ezt a régiót az izom regenerációs raktárának (Caiozzo 2002). A regenerációs jelek sokkal gyakrabban fordultak elő a fiatal állatokban. Ennek az lehet az egyik magyarázata, hogy a fiatalabb állatokban átlagosan nagyobb számú aktiválható

szatellitsejt található, mint felnőtt társaikban (Shisha és mtsai 2007).

Lee elemző pontrendszerét használva arra az eredményre jutottunk, hogy a fiatal állatok harántcsíkolt izmai jobban alkalmazkodnak a végtaghosszabbításhoz. Véleményem szerint az izmok distalis harmada (és az MTJ területe) prominensebben vesz részt a nyújtást kísérő reakciókban, bár ezt statisztikailag nem sikerült igazolni. A nyújtás alatt bekövetkező károsodás indíthatja el az izom regenerációs fázisait, a hosszabbítás során kialakuló nekrotikus szövet helyét idővel kötő-, zsírszövet és újonnan képződött izomrost tölti ki. Ezen szövet arányát erőteljesen befolyásolja a hosszabbítás napi mértéke (Pap 2008).

## 5.2. Sejtproliferációs eredményeink elemzése

Moss és LeBlond (1971) bizonyította be először, hogy a szatellitsejtek felelősek a születési utáni izomsejtszám növekedésért. Ezek a sejtek kiemelkedő szerepet játszanak a normál izomfejlődésben, azáltal, hogy egy megújuló izomsejt raktárt képeznek. A szatellitsejtek fennmaradását az osztódásuk során keletkező myoblastok és leánysejtek aránya szabja meg. Az élet során egyre nagyobb arányban keletkeznek myoblastok, aminek következtében a szatellitsejtek száma egy progresszív csökkenésen megy keresztül (Campion 1984). Ezen megfigyeléshez hasonlatosan a mi eredményeink is azt tükrözik, hogy a felnőtt (áloperált) állatokban szignifikánsan kevesebb szatellitsejt fordult elő mint a fiatalokban.

A szatellitsejtek 5-7%-os izomnyújtásig (0,5 mm/nap) nem aktiválódnak. Schumacher (1994) csak 8-10%-os izomhossznövekedés felett észlelt PSI emelkedést. Valószínűleg a sarcomerek nyújtása indítja be a folyamatot, e mellett a nyújtási ráta emelésével összefüggő PSI emelkedést is megfigyeltünk. Úgy tűnik, hogy a napi hosszabbítási egységek növelése serkenti a szatellitsejt osztódást. Valószínűleg ennek is van egy felső határa, de ennek elemzésére vizsgálatunk nem terjedt ki. Schumacher, Kellner és Hvid (1994) voltak az elsők, akik BrdU festést alkalmaztak szatellitsejtek kimutatásra. Kísérletükben nem vizsgálták a myotendinodus junctio területét, ezért nem

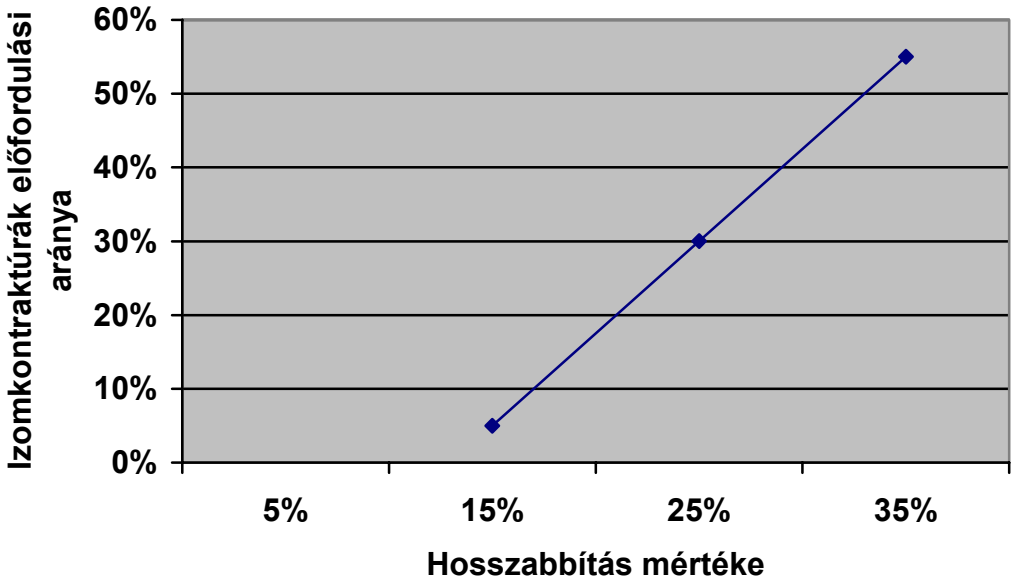
rendelkeztek adattal és nem is tudták összehasonlítani az izomhas szatellitsejt tartalmával. Vizgálatunkban sejtszám növekedést tapasztaltunk az izomhasban hosszabbítás után. Emellett világosan kimutatható volt az MTJ proliferációs aktivitás növekedése. Mivel a szatellitsejtek rendelkeznek myofibrillogenikus tulajdonsággal (Schumacher 1994), ezért megállapíthatjuk az MTJ-nek kulcsfontosságú szerepe van a harántcsíkolt izmok növekedésben. Eredményeink alapján megdőlni látszik az az elmélet, hogy a harántcsíkolt izom növekedés az izomrostok végén következik be (Dix 1990, Schumacher 1994, Caiozzo 2002), mivel vizsgált izmok teljes hosszában megfigyeltünk szatellitsejt aktiválódást. Ahogy azt már korábban leírták, a hosszabbítás folyamán fellépő szövődmények kialakulása és az életkor között összefüggés van (Hayatsu 2001). Kísérleteinket értékelve világosan látszik, hogy a fiatalabb állatok harántcsíkolt izmai nagyobb növekedési, illetve regenerációs kapacitással bírnak.

Mivel az MTJ területén mind a fiatal, mind a felnőtt csoportban alacsonyabb arányú osztódó sejtszám emelkedést észleltünk, és az áloperált állatokban az MTJ területén nagyobb arányban találtunk osztódó sejteket, ezért úgy tűnik, hogy az MTJ tényleg a harántcsíkolt izom regenerációs és proliferativ raktára.

## 5.3. Humerus hosszabbítás eredményeink elemzése

Az eltelt három évtizedben az angol nyelvű irodalomban alig több mint száz humerus hosszabbításon átesett beteget említenek. A közlemények többségében, hasonlóan saját anyagunkhoz, tízes nagyságrendű betegcsoportról számolnak be. A legnagyobb esetszámú anyagot Cattaneo és munkatársai (1990) közölték: 30 esetben végeztek kétoldali humerus elongatiót törpenövés miatt, elsősorban hypochondroplasiás betegeknél. A felkarrövidülések hátterében többnyire kongenitális eredet, újszülöttkori osteomyelitis, trauma vagy juvenilis csontcysta okozta növekedési porckárosodás áll (Poul 2001, Yang 1997). Az irodalmi esetekkel megegyezően saját vizsgálatunkban is a veleszületett rövidülések domináltak.

Paley (1990) szerint az alsó végtagon a 15-20%-ot meghaladó elongatio a szövődmények számának jelentős emelkedését okozza. Maffulli (1996) vizsgálataiban úgy vélte, hogy a 18%-ot meghaladó alsóvégtag hosszabbítás a szövődmények szignifikáns emelkedését eredményezi. Karger és Guille (1993) szerint 25%-os nyújtás felett a szövődmények előfordulási gyakoriság meghaladja a még elfogadható határt. Antoci (2006) közleményében részletesen foglalkozik az egyik legjellemzőbb vázizomhoz társult szövődménnyel: az izom kontraktúrával. Úgy találta, hogy az alsóvégtagi hosszabbítás alatt a kontraktúrák kialakulási valószínűsége egyenes arányban növekszik a nyújtás mértékével (32. ábra), betegei között már 25%-os hosszabbítás mellett is megladta a 30%-ot.




32.ábra A kontraktúrák előfordulási aránya a hosszabbítás függvényében (Antoci, 2006)

Vizsgálatunkban az átlagos hosszabbítási arány a felsővégtagon 27% volt, két betegünknél meghaladta a 40%-ot, e mellett az izomkontratúrák aránya nem haladta meg a 20%-ot. A flexiós könyök kontraktúrák mindegyike 50 fok alatt volt (e határ alatt a hosszabbítást nem kell megszakítani, mert a fixateur eltávolítása után gyógytornával kiválóan korrigálható Lee, 2005).

A beavatkozás tervezésében a 12-14 éves kor tűnik ideálisnak, mert a várható rövidülés már kialakult, vagy pontosabban kalkulálható, tekintettel arra, hogy a felső

végtag csontjaira nincs kidolgozott módszer a végtagrövidülés predictiójára. A csontosodás is ebben korban optimális, a betegek kooperációs készsége megfelelő (Dal Monte és mtsai 1985, Janovec 1991, Lee és mtsai 2005). E mellett Noonan (1998) alsóvégtagi eredményei azt mutatták, hogy a 14 éves kor alatti nyújtások szövődmény rátája szignifikánsan alacsonyabb, mint idősebb társaiknál.

A hosszabbítás kivitelezésében valamennyi betegünknél Wagner-készüléket használtunk. Ebben a tekintetben a szakma véleménye megosztott, olasz szerzők például előszeretettel alkalmaznak Ilizarov-készüléket (Cattaneo 1990). Tapasztalataink az unilateralis készülékkel a humeruson igen kedvezőek:

- a nem teherviselő humerusnak kellő stabilitást ad,
- könnyen kezelhető,
- a teljes csontosodásig a helyén tartható,
- lemezes osteosynthesis nem szükséges (Kiss és mtsai 2007).

A callotasis módszer hatékonyságának köszönhetően spongiosa plasticára egyetlen esetben sem kényszerültünk. Dysplasiás fossa glenoidalis meglétekor sem észleltünk luxatiós tendenciát a hosszabbítás során. Janovec (1991), illetve Poul (2001) tapasztalatai hasonlóan kedvezőek voltak a Wagner-készülékkel történt humerus hosszabbítás után.

Tanaka és munkatársai (1998) összehasonlító vizsgálatukban a humerus hosszabbítás során szignifikánsan gyorsabb csontosodást észleltek, mint a tibia hosszabbítása során. Vizsgáltunk ezt nem tudta teljsenen megerősíteni, mert 25-40 nap/cm csontosodási indexet állapítottunk, ami az alsóvégtagi csontosodási index-szel 32-54 cm/nap (Sangkev, 2007) majdnem megegyezik. A humerus hosszabbításon átesett betegeink végtagjaik jó funkcióját hamarabb visszanyerték. A combcsont vagy a lábszárcsontok hosszabbítása után átlagosan 32 hónap telik el, amíg a betegek a végtagjukat megfelelő módon használni tudják. Ez az idő a felkarcsont esetében csak 8 hónap (Tanaka és munkatársai 1998). Ehhez az is hozzájárulhat, hogy az alsóvégtag hosszú csövescsontjaiba – unilateralis fiateur alkalmzása esetén –, a hosszabbítókészülék eltávolítása után az esetek döntő többségében egy lemez beültetése válik szükségessé. Ennek későbbi eltávolítása nyújtja a végtagfunckió visszatérését.

Emellett az alsóvégtag lényegesen nagyobb igénybevételnek van kitéve a folyamatos – többnyire csak részleges – teherviselés miatt.

A készülék Schanz csavarjainál többnyire kialakult kisebb-nagyobb váladékozás, mely minden esetben szanálható volt, a készüléket emiatt nem kellett eltávolítani. A két könyökízületi kontraktúra a tervezett hosszabbítás elérését nem befolyásolta, de csak a készülékek eltávolítása után szűnt meg maradéktalanul. A kialakult radialis paresis sem akadályozta az elongatio folyamatát: az irodalmi ajánlások alapján a szövődmény kezelése mellett a hosszabbítást nem függesztettük fel (Poul 2001). A bénulásos tünetek a felkar nyújtása ellenére javultak, majd teljesen megszűntek.

A felkar hosszabbítása cirkuláris rendszerrel nem jelent előnyt az unilaterális módszerrel összehasonlítva, hiszen utóbbi esetében sem szükséges második lépcsőben áthidaló osteosynthesis és spongiosaplastica, emellett viselése jelentősen kényelmesebb, mint a cirkuláris fixateuroké. Kellő tapasztalattal alkalmazva, alacsony kockázat mellett teljes hosszkorrekciót érhetünk el, ízületi funkcióvesztés nélkül.

# 6.Következtetések

1. Eredményeink alapján megdőlni látszik az az elmélet, hogy a harántcsíkolt izom növekedés az izomrostok végén következik be (Dix 1990, Schumacher 1994, Caiozzo 2002), mivel a vizsgált izmok teljes hosszában megfigyeltünk szatellitsejt aktiválódást. Ehhez hasonlóan a degeneratív jelek megjelenése is az izom egész hosszában megjelenik. A degeneratív jelek megoszlása disztális izom mintákban némileg gyakrabban fordulnak elő. Ezt csak, mint tendenciát lehetett megállapítni, az eltérés nem volt szignifikáns. A mechanizmus hasonló lehet a csont turn overhez (Tsuimura, 2006). A sérült sejtek helyének nagy részét frissen képződött myoblastok veszik át.

2. Az MTJ valószínüleg az izom proliferatív raktára. Kísérleteink alatt ezen a helyen szignifikánsan nagyobb számú szatellitsejtet találtunk, mint az izom egyéb helyén. Ennek tudatában már kevésbé volt meglepő, hogy itt tapasztaltuk a legerőteljesebb osztódási potenciált. Az izom egy aktív válaszreakcióval reagál a nyújtásra, és ezt a napi nyújtási egységek növekedése egy bizonyos határig fokozza.

3. A hosszabbítás folyamán fellépő szövődmények kialakulása és az életkor között egyértelmű összefüggés van. Kísérleteinket értékelve világosan látszik, hogy a fiatalabb állatok harántcsíkolt izmai nagyobb növekedési, illetve regenerációs kapacitással bírnak. Nagyon lényeges, hogy ezt a tapasztalatatot a klinikai gyakorlatban figyelebe vegyük. Különösen fontos meg említeni, hogy mérlegelni kell a beteg és a családja szociális, illetőleg a beteg compliance-t. Lényeges a gyermekek pszichés felkészítése a hosszabbításra.

4. A napi nyújtási ráta emelése során mind a regenerációs, mind a degenerációs jelek gyakrabban fordulnak elő. Ez egy határig egyensúlyban marad. Kutatási eredményeink azt mutatják, hogy ez az egyensúly igen

törékeny. Ajánlatos a naponkénti hosszabbítási egységeket 1 mm-nél tartani, mert ennél a hossznál a legideálisabb a degeneráció és a regenációs mechanizmusok kombiációja.

5. A jól tolerálható hosszabbítási folyamat, illetve az alsóvégtaggal összehasonlítva alacsony szövődményrátája miatt az ismertetett hosszabbítási módszert hatásosnak tartjuk a humerus különböző eredetű rövidüléseinek kezelésében. A majdnem 30%-os hosszabbítást követően a szövődmények száma nem haladta meg a femur vagy a tibia 20%-os hosszabbítása után tapasztaltakat. Az előforduló szövődmények mindegyik meggyógyult, és a betegek teljes értékű életet élhettek.

6. A hosszabbítás a betegek apróbb megszorításokkal élhették mindennapi életüket. Nyújtást követően a nem terhelő végtag funckiója korán visszatért (alsóvégtagi hosszabbítással összehasonlítva). Lényeges megemlíteni, hogy az általunk végzett humerus hosszabbítások során a teljes csontos konszolidációig hordták a betegek a fixateur-t. Ezért nem szükséges második lépcsőben áthidaló osteosynthesis és spongiosaplastica. Ezzel sikerült a cirkuláris renszerek előnyét behozni, és emellett a Wagner-féle hosszabbító készülék viselése lényegesen komfortosabb. Kellő tapasztalattal alkalmazva, alacsony kockázat mellett teljes hosszkorrekciót érhetünk el, ízületi funkcióvesztés nélkül.

# 7. Összefoglalás

A callus distractiot már régóta használják a végtaghossz különbségek korrekciójára. A végtaghosszabbítás hatása a harántcsíkolt izomra még nem teljesen tisztázott. Jelen tanulmány a végtaghosszabbítás során a vázizomban kialakuló változásokat szemlélteti, amely két fő részből áll: alapkutatási és klinikai vizsgálatból.

Állatkísérleteink során 23 nyúlon végeztünk végtaghosszabbítást, amiket később 6 csoportra osztottunk, életkoruk és a hosszabbítás mértéke szerint. A műtét után 7 napos kompressziót követően kezdtük el a nyújtást. A minták egyrészén szövettani feldolgozás után Lee pontrendszerének a segítségével elemeztük a harántcsíkolt izom elváltozásait. A másik felükön immunhisztokémiai eljárás után az izomban található szatellitsejt aktivációt vizsgáltuk.

Miután az 5 fő izom degenerációt leíró paramétert elemeztük (izomatrphia, sejtmag internalizáció, az izomrostok degenerációs jelei, peri- és endomysialis fibrosis és haemtomák) bizonyossá vált számunkra, hogy a nagyobb mértékű nyújtás (1,6mm/nap) során a harántcsíkolt izom jobban károsodik. E mellet a degeneratív jelek a felnőtt állatokban sokkal gyakrabban fordulnak elő és súlyosabbak, mint fiatalabb társaiknál.

Jelentős szatellitsejt aktivációt észleltünk az összes hosszabbított csoportban. A fiatal egyedek nagyobb abszolút értékű proliferációs potenciált muttattak, mint idősebb társaik. Ez a napi nyújtási ráta emelésével szinkronban emelkedett. A kiindulási szatellitsejt számhoz képest az felnőtt csoportban nagyobb arányú volt az aktiváció, amelyet szintén befolyásolt a napi hosszabbítás mértéke. A hosszabbítás során az izom teljes hosszában aktiválódnak a szatellitsejtek, amit korábban csak a myotendinosus-junctio területén figyeltek meg. Eredményeink alapján kijelenthető, hogy végtaghosszabbítás alatt a fellépő károsodások az izom egy mértékig korrigálni képes.

A klinikai vizsgálatunk célja az volt, hogy retrospektív vizsgálattal értékeljék a nem teherviselő végtagokon végzett hosszabbítás eredményeit. 1984-2005 között 11 esetben történt humerus hosszabbítás a felkar rövidülése miatt. A betegek átlagos végtagrövidülése 8,4 (4,5-13,5) cm-nek adódott. Az átlagéletkor a műtétnél 17,8 (12-31) év volt. Az átlagosan elért végtaghosszabbítás nagysága 6,2 (4,5-10,5) cm volt, ez az

eredeti végtaghossz 27 (16-44)%-a. Tapasztalataink alapján a felkar változatos okok következtében kialakult rövidülése eredményesen kezelhető unilateralis Wagner-készülékkel, a hosszabbítás alatt betegek felkar fukciója kielégítő volt. Kiemelendő, hogy az átlagos alsó végtagi hosszabbítást csaknem 10%-kal haladtuk meg és nem tapasztaltunk a szövődmények megjelenési valószínűségében és súlyosságában változást. Az eredeti Wagner-módszerhez képest jelentős különbség gyakorlatunkban, hogy a készüléket a teljes csontosodás eléréséig a végtagon hagyjuk, így lemez behelyezésére és spongiosaplasticára nincs szükség.

# 8. Summary

The response of the muscle is critical in determining the functional outcome of the limb lengthening. My thesis consists of two parts: basic and clinical research.

In the first part we evaluated the histological and immunhistochemical changes in the muscle tissue after limb lengthening in skeletally mature and immature rabbits. 23 male New-Zeland white rabbits, divided into six groups, were operated on and different lengthening protocols were used in mature and immature rabbits. The histopathologic changes were analyzed by a semiquantitative method according to the scoring system of Lee et al (1994). The changes of proliferative activity of muscle progenitor satellite cells were measured by bromodeoxyuridine immunstaining. After evaluation of the five main degenerative parameters and the changes of the dividing activity of satellite cells it is evident that the adults lengthened at a rate of 1.6 mm/day showed more degenerative changes than those lengthened at 0.8 mm/day. The adult 1.6 mm/day lengthened group presented significantly higher damage in the muscle and lower regenerative signs compared with the young 1.6 mm/day lengthened group, according to the summarized degenerative scores.

The aim of our clinical research was to examine the muscle response after lengthening the humerus in children and young adults. Between 1984 and 2005, 11 humeri were elongated with Wagner fixator at the Orthopaedic Department of Semmelweis University. The average age of patients at the time of surgery was 17.8 years (12-31). The lengthening protocol was 1 mm distraction daily (callotasis) after 7 days latency period. The average rate of lengthening was 6.2 (4.5-10.5) cm, the achieved lengthening was 27%(16-44%). One patient suffered from temporary radial paresis, and temporary flexion contracture of the elbow was observed as complication after placing the fixator. According to our results, the muscle associated complications were less frequent then in the lower limb at same lengthening rate. The muscle function during the lengthening was good, and did not inhibit their daily life. We could leave the fixator in the humerus until total bony reconstruction so there was no need for plate fixation or bone transplantation, and this led a fast functional recovery of the upper extremity after the fixator removed.

# 9. IRODALOMJEGYZÉK


1. Abbot L. C. The operative lengthening of the tibia and the fibula. J Bone Joint Surg. 1927;9:128

2. Allen D L, Roy RR, Edgerton VR. Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. Muscle Nerve 1999;22:1350-60.

3. Anderson JE. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. Mol Biol Cell. 2000;11:1859-74.

4. Antoci V, Craig M, Antoci V Jr, Raney E. Bone lengthening in children: How to predict the complications rate and complexity? J Pediatr Orthop. 2006;26:634-40.

5. Aronson J: Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis Clin Orthop 1994;301:124–131

6. Bischoff R. Chemotaxis of skeletal muscle satellite cells. Dev. Dyn. 1997;208:505-515.

7. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta Nature (Lond) 1987;326: 515-7

8. Buckingham M. Skeletal progenitor cells and the role of PAX genes Biologies 2007a;330:530-533

9. Buckingham M, F Relaix. The role of Pax genes int he developement of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor function Annu Rev Cell Dev Biol 2007b;23:645-73.

10. Caiozzo V J, Utkan A, Chou R, Khalafi A, Chandra H, Baker M, Rourke B, Adams G, Baldwin K, Green S Effects of distraction on muscle length: Mechanisms involved in sarcomerogenesis. Clin Orth Rel Resch 2002; 403:133-45.

11. Calandriello B. Das Verhalten der Muskalfasern bei chirurgischen Gliedmassenverlängerung. Z Orthop 1968; 104: 123-127.

12. Camillo A C, Rocha R C, Chopard R P. Structural and microvascular study of soleous muscle of Wistar rats after section of the sciatic nerve Arq Neuropsiquiatr 2004;62(3-B):835-838.

13. Campion DR. The muscle satellite cell: a review. Int. Rev Cytol1984;87:225-251.

14. Carrol N, Grant C, Hudson R. Experimental observation on the effects of leg lengthening by the Wagner method. Clin Orthop. 1981; 160: 250-257.

15. Cattaneo R, Villa A, Catagni M, Bell D: Lengthening of the humerus using the Ilizarov technique: description of the method and report of 43 cases. Clin.Orthop. 1990;250:117-124.

16. Chirakova A M, Dyachkova G V. Dynamics of the morphologic changes in fasci-muscular apparatus of the leg lengthened by the method of Ilizarov. In: Questions on transosseus osteosynthesis by Ilizarov method. Kurgan, 1981; 34: 100-105.

17. Codivilla A. On the means of lengthening, in the lower limbd, the muscles and tissues which are shortened by deformity. Am J Orthop Surg 1905; 2:353-369.

18. Cole J D, Justin D, Kasparis T, DeVlught, Knodloch C. The intramedullary skeletal kinetic distractor (ISKD): first clinical results of a new intramedullary nail for lengthening of the femur and tibia Injury, Int J Care Injured. 2001; 32: 129-39.

19. Coleman S S,Stevens P M. Tibial lengthening. Clin Orthop and Relat Res 1978; 136:92-104

20. Compere E L. Indications for and against the leg-lengthening operation. J Bone Joint Surg. 1936; 28: 692-705.

21. Cooper RN, Tajbakhsh S, Mouly V, Cossu G, Buckigham M, Butler-Browne GS (1999) In vivo satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle J Cell Sci 112: 2895-901

22. Dal Monte A, Andrisiano A, Manfrini M, Zucchi M: Humeral lengthening in hypoplasia of the upper limb. J. Pediatr. Orthop. 1985;5:202-207.

23. Day CS, Moreland MS, Floyd SS, Jr Huard J Limb lengthening promotes muscle growth J Orthop Res 1997;15: 227-34

24. Debastiani G, Aldegheri R, Reno-Brivio L: Limb lengthening by callus distraction. J. Pediatr. Orthop. 1987;7:129-134.

25. Delloye C, Delefortie G, Coutelier L, Vincent A. Bone regenerate formation in cortical bone during distraction lengthening: An experimental study. Clin Orthop. 1990; 250:34.

26. Des Gachons SP, Pouliquen JC, Pennecot GF. Progressive lengthening of the upper limb: a report of two cases. Rev Chir Orthop. 1982;68:385-389.

27. Dick HM, Tietjen R: Humeral lengthening for septic neonatal growth arrest. J.Bone Joint Surg. 1978;60A:1138-1139.

28. Dr. Diny Elek: Biometria az orvosi gyakorlatban. 2001 Medicina, Budapest.

29. Dix DJ, Eisenberg BR. Myosin mRNA accumulation and myofibrillogenesis at the myotendinous junction of stretched muscles. J Cell Biol 1990;111:1885-94.

30. Dubowitz V (1985) Muscle Biopsy. A Practical Approach. London, Bailliere Tindall-Company.

31. Dyachkova G V, Utekin A A. Extensibility of suprficial fascia in elongation of the le gin experiments. Ortop Traumatol Protez. 1980; 41(6): 44-47.

32. Engel AG, Banker BQ (1986) Myology. New York, McGraw-Hill Book Company

33. Fink B, Neuen-Jacob E, Lienert A, Francke A, Niggemeyer O, Rüther W. Changes in canine skeletal muscles during experimental tibial lengthening Clin Orth Rel Resch 2001; 385:207-218.

34. Hankemeier S, Pape H C, Gosling T,Hufner T,Richter M, Krettek C. Improved comfort in lower limb lengthening with the intramedullary skeletal kinetic distractor. Arch Orthop Trauma Surg. 2004; 124:129-33.

35. Hawke TJ, Garry DJ (2001) Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology J Appl Physiol 91: 534-51

36. Hayatsu K, De Deyen PG. Muscle adaptation during distraction osteogenesis in skeletally immature and mature rabbits. J Orthop Res 2001; 19: 897-905.

37. Heffner R R. Muscle pathology. New York Churchill Livingstone, 1984.

38. Hosny GA: Unilateral humeral lengthening in children and adolescents. J. Pediatr. Orthop.(B) 2005;14:439-443.

39. Ilizarov GA. The tension stress effect on the genesis and growth of tissues: Part I. The influence of stability of stability of fixation and soft tissue preservation. Clin Orthop and Relat Res 1989a; 238: 249-80.

40. Ilizarov GA. The tension stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. Clin Orthop and Relat Res 1989b; 239: 239-85.

41. Ilizarov G.A. Clinical application of the tension stress effect for limb lengthening. Clin Orthop and Relat Res 1990; 250: 8-26.

42. Ilizarov GA. Transosseous ostosynthesis: Theoretical and clinical aspects of the regeneration and growth of tissue. Springer Verlag, New York, 1992

43. Janovec M: Short humerus: results of 11 prolongations in 10 children and adolescents. Arch. Orthop.Trauma.Surg. 1991;111:13-15.

44. Kashiwagi N, Suzuki S, Seto Y, Futami T. Bilateral humeral lengthening in achondroplasia. Clin Orthop and Relat Res 2001; 391:251-57.

45. Karger C, Guille JT, Bowen JR. Lengthening of congenital lowerlimb deficiences. Clin orthop. 1993;293:83-88.

46. Kawamura B, Hosono S, Takahasi T, Yano T, Kobayashi Y Shibata N, Shinada Y. Limb lengthening by means of subcutaneous osteotomy. Experimental and clinical studies. J Bone Joint Surg (Am) 1968; 50(5): 851-878.

47. Kiss S, Pap K, Vízkelety T, Terebessy T, Balla M, Szőke Gy. The humerus is the best place for lengthening Int Orthop. 2007 Feb 24; Epub ahead of print

48. Lee D Y, Choi I H, Chung C Y, Chung P H, Chi J G, Suh Y L. Effect of tibial lengthening on the gastrocnemius muscle. A histopathologic and morphometric study in rabbits. Acta Orthop Scand. 1993; 64(6): 688-692.

49. Lee FY, Schoeb JS, Yu J, Christiansen BD, Dick HM: Operative lengthening of the humerus. J. Pediatr. Orthop. 2005;25:613-616.

50. Lindsey CA, Makarov MR, Shoemaker S, Birch JG, Buschang PH, Cherkashin AM Welch RD, Samchukov ML (2002) The effect of the amount of limb lengthening on skeletal muscle Clin Orthop Relat Res 402: 278-87

51. Maffulli N, Lombardi C, Matarazzo L. A review of 240 patients undergoing distraction osteogenesis for congenital post-traumatic or postinfective lower limb length discrepancy. J Am Coll Surg. 1996;182: 394-402.

52. Magaud J P, Sargent I, Clarke P J, French M, Rimokh R, Mason D Y. Double immunocytochemical labeling of cell and tissue samples wih monoclonal anti-bromodeoxyuridine. J Histochem. Cytochem. 1989; 37: 1517-27.

53. Marakov M R, Kochutina L N, Samchukov M L, Birch J G, Welch R D (2001) Effect of rhythm and level of distraction on muscle structure. Clin Orth Rel Resch 384:250-64.

54. Mastalgia F L, Dawkins R L, Papadimitrou J M. Morphological changes in skeletal muscle after transplantation: a light electron microscopic study of the initial phases of degeneration and regeneration (1975) J Neuro Sci 25:227-47

55. Mintz B, Baker W W. Normal mammalian muscle differentiation and gene control of isocitrate dehydrogenase synthesis. Proc Natl Acad Sci 1967; 58:592-8.

56. Moss FB, LeBlond CP. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. Anat Rec 1971;170:421-36

57. Nagaoka T, Abe M, Yoshimoto H, Shirai H, Onomura T Morphological study of the elongated muscle in limb lengthening Eur J Exp Musculoskel Res 1995;4: 188-94

58. Nogueira M.P., Paley D., Bhave A., Herbert A., Nocente C., Herzenberg J.E. Nerve lesions assosciated with limb lengthening. Journal of Bone and Joint Surgery 2003: 85-A: 1502-10.

59. Noonan KJ, Leyes M, Forriol F, Canadell. Distaction osteogenesisof the lower extremity with use of monolateral external fixation. A study of two hundred and sixty-one femora and tibiae. J Bone Joint Surg Am. 1998;80:793-806.

60. Paley D. Current techniques of limb lengthening by Ilizarov technique. J Pediatr. Orthop. 1988; 8(1) 73-92.

61. Paley D. Problems, obstacles and complications of limb lengthening. Clin Orthop. 1990; 250:81-104.

62. Pap K, Berki S, Shisha T, Kiss S, Szőke G. Structural changes in the lengthened rabbit muscle. Int Orthop. 2008 Feb 8; [Epub ahead of print]

63. Pavlath K. G., Horsley V. Cell fusion in skeletal muscle. Cell Cycle 2003;2:420-423.

64. Poul J, Svebis M: Results of lengthening 20 humeri. Acta Chir.Orthop.Traumatol.Cech 2001;68:289-293.

65. Price C T, Cole J D. Limb lengthening by callotasis for children and adolescent – Early experience. Clin Orthop 1990; 250:105-111.

66. Putti V. The classic. The operative lengthening of the femur. Clin Orthop. 1990; 250: 4-7.

67. Renault V, Thorne LE, Eriksson PO, Butler-Browne G, Mouly V. Regenerative potential of human skeletal muscle during aging Aging Cell 2002;1: 132-9

68. Sangkaew C. Distraction osteogenesis of the femur using convetional monolateral externel fixator. Arch rthop Trauma Surg. 2007. DOI 10.1007/s00402-007-0437-1

69. Schopler SA, Lawrence JF, Johnson MK: Lengthening of the humerus for upper extremity limb length discrepancy. J. Pediatr. Orthop. 1986;6:477-480.

70. Schultz E, McCormick KM (1994) Skeletal muscle satellite cells" Rev Physiol Biochem Pharmacol 123: 213-57

71. Schumacher B, Keller J, Hvid I. Distraction effects on muscle. Leg lengthening studies in rabbits. Acta Ortop Scand 1994; 65(6):647-650.

72. Shen X C, Aronson J. Changes in biomechanical properties of muscle following tibial lengthening in rat. Orthop Res Soc, San Francisco, 1993; pp 379.

73. Sherwood R I, Christiansen J L, Conboy I M, Conboy M J, Rando T A, Weisman I L, Wagers A J. Isolation of adult mouse myogenic progenitors: functional heterogenity of cells within and engrafting skeleteal muscle. Cell 2004; 119:543-554.

74. Shilt J S, Deeney V F, Quinn C O. The effect of increased distraction frequency on soft tissues during limb lengthening ina n animal model. J Pediatr Orthop 2000; 20(2): 146-150.

75. Shisha T, Kiss S, Pap K, Simpson H, Szőke G (2007) Relative ability of young and adult muscles to respond to limb lengthening J Bone Joint Surg [Br] 88(12):1666-9.

76. Shpitz B, Bomstein Y, Mekori Y, Cohen R, Kaufman Z, Grankin M (1997) Proliferating cell nuclear antigen as a marker of cell kinetics in aberrant crypt foci, hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas of the human colon Am J Surg 174: 425-30

77. Simpson A H R W, Williams P E, Kyberd P, Goldspink G, Kenwright J. The response of muscle to different rates of distraction. J Bone Joint Surg. 1991 (Br) Suppl. II. 189-90.

78. Simpson A H, Williams P E, Kyberd P, Goldspink G, Kenwright J. The response of muscle to leg lengthening (1995) J Bone Joint Surg [Br] 77:630-6.

79. Sproul J T, Price C T. Recent advances in limb lengthening. Part I. Clinical advances. Orthop Rev. 1992a; 21(3):307-314.

80. Sproul J T, Price C T. Recent advances in limb lengthening. Part II. Biolocial advances. Orthop Rev. 1992b; 21(4):425-430.

81. Stockdale F E, Holtzer H. DNA synthesis and myogenesis. Expermental Cell Research 1961

82. Stockdale F E. Changing levels of DNA polymerase activity during the development of skeletal muscle tissue in vivo. Dev Biol 1970; 21:462-74.

83. Szentágothai J., Réthelyi M. Funcionális anatómia I. Semmelweis kiadó Budapest 1996.

84. Tanaka K, Nakamura K, Matsushita T, Horinaka S, Kusaba I, Kurokawa T: Callus formation in the humerus compared with the femur and tibia during limb lengthening. Arch. Orthop.Trauma.Surg. 1998;117:262-264.

85. Tatsumi R, Anderson J E, Nevoret C J, Halevy O, Allen E R. HGF/SF is present in normal adult skeletal muscle and is capable of activating satellite cells Dev Biol 1998; 194: 114-128.

86. Tatsumi R, Sheehan SM, Iwasaki H, Hattori A, Allen RE Mechanical stretch induces activation of skeletal muscle satellite cells in vitro Exp Cell Res 2001;267: 107-14

87. Tsujimura T, Kinoshita M, Abe M. Response of rabbit skeletal muscle to tibial lengthening (2006) J Orthop Sci 2006;11:185-90.

88. Verstreken L, Lamoureux J: Idiopathic humerus varus treated by osteotomy and progressive lengthening. Acta Orthop.Belg. 1986;52:86-92.

89. Vízkelety T, Kiss S: A végtaghosszabbítás lehetőségei. 2003;LAM 13:649-654.

90. Wagner H. Operative lengthening of the femur. Clin Orthop. 1978; 136: 125-142.

91. William P E, Simpson A H R W, Kyberd P, Kenwright J, Goldspink G. Structural changes in the rabbit tibialis anterior muscle following distraction of the tibia. Basic Appl Myol 1994; 4(4):431-437.

92. Yamane A. Embryionic and postnatal developemnet of masticatory and tongue muscles Cell Tissue Res 2005;322:183-189

93. Yang CB, Huang SC: Humeral lengthening using the Ilizarov technique. J. Form. Med. Ass. 1997;96:291-294.

94. Yasui N, Kojimoto H, Sasaki K, Kitada A, Shimizu H, Shimomura Y. Factors affecting callus distraction in limb lengthening. Clin Orthop Relat Res. 1993; 293: 55-60

95. Yasui N, Kojimoto H, Shimizu H, Shimomura Y The effect of distraction upon bone, muscle, and periosteum Orthop Clin N Am 1991;22: 563-7

96. Zammit P, Beauchamp J. The skeletal muscle satellite cell: stem cell or son of stem cell? Differentiation. 2001;68(4-5):193-204.

# 10. Saját publikációk jegyzéke

## 10.1. Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **Pap Károly,** Berki Sándor, Shisha Tamás, Kiss Sándor, Szőke György. Structural chnges in the lengthened rabbit muscle. Int Orthop Published online on 08 Feb 2008. DOI: 10.1007/s00264-008-0514-2. ISSN: 0341-2695. **IF: 0,977**

2. Kiss Sándor, **Pap Károly**, Vízkelety Tibor, Terebessy Tamás, Balla Mária, Szőke György. The humerus is the best place for lengthening Int Orthop. 2007 Feb 24; Epub ahead of print PMID: 17323094 PubMed - as supplied by publisher] **IF: 0,977**

3. Relative ability of young and mature muscles to respond to limb lengthening. Shisha Tamás, Kiss Sándor, **Pap Károly**, Simpson Hamish, Szoke György. J Bone Joint Surg Br. 2006;88-B:1666-9. **IF: 1,790**

4. **Pap Károly,** Kiss Sándor, Shisha Tamás, Domos Gyula, Holnapy Gergyely, Szőke György. Hisztopatológiai elváltozások a harántcsíkolt izomban végtaghosszabbítást követően. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet és Plasztikai Sebészet. (in press).

5. Shisha Tamás, **Pap Károly**, Kiss Sándor, Szoke György. Izomsejt proliferáció az izom-ín átmenetben végtaghosszabbítás során. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet és Plasztikai Sebészet. (in press).

## 10.2. További közlemények

1. Open adductor tenotomy in the prevention of hip subluxation in cerebral palsy. **Károly Pap**, Sándor Kiss, Tibor Vízkelety, György Szőke Int. Orthop. 2005: (29)18-20.

2. The incidence of avascular necrosis of the healthy, contralateral femoral head at the end of the use of Pavlik harness in unilateral hip dysplasia. **Pap Károly**, Kiss Sándor, Shisha Tamás, Marton-Szucs Gábor, Szoke György Int Orthop. 2006 Oct;30(5):348-51. Epub 2006 Apr 26. **IF: 0,977**

3. Morphlogical changes in dorsal root ganglia and spinal cord after limb-lengthening. Gyorgy Szoke, Sandor Kiss, Zita Puskar, Tamas Shisha, **Karoly Pap**. J Child Orthop 2007: 1 (Suppl. 1):44

4. Osteochondritis (Calve's disease) of a vertebral body-a rare form of vertebraplana. Shisha Tamás, Kiss Sándor, Varga Péter Pál, Bucsi László, **Pap Károly**, Szőke György. Eur Spine J. 2006: (15)377-383. **IF: 1,824**

5. The dangers of intraosseous fibrosing agent injection in the treatment of bone cysts. The origin of major complications shown in a rabbit model. Shisha Tamás, Marton-Szucs Gábor, Dunay Miklós, **Pap Károly**, Kiss Sándor, Nemeth Tibor, Szendroi Miklós, Szoke György. Int Orthop. 2006 Jul 4; [Epub ahead of print] **IF: 0,977**

6. A nyílt adductor tenotomia eredményessége a spasztikus csípőizületi subluxatio megelőzésében. **Pap Károly**, Kiss Sándor, Vízkelety Tibor, Szőke György Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet 2004:(3) 216-223

7. Az ép oldal avascularis necrosisa Pavlik kengyellel kezelt egyoldali csípődysplasiában **Pap Károly,** Kiss Sándor, Matron-Szűcs Gábor, Shisha Tamás, Szőke György Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet elfogadva

8. Shisha Tamás, Kiss Sándor, **Pap Károly**, Vízkelety Tibor, Szőke György. A nyílt repozició és rövidítéses varizáló derotációs femur osteotomia hosszú távú eredménye spasztikus betegek csípőluxatiójának kezelésben. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet. 2006;49:382-388.

# Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt feleségemnek, Viktóriának, szeretném kifejezni hálámat, végtelen türelméért, szeretetéért és megértéséért.

Köszönöm családomnak, elsősorban szüleimnek, hogy mindvégig biztosították számomra a biztos hátteret és támaszaim voltak tanulmányaim során.

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, mentoromnak Dr. Szőke Györgynek segítségét, útmutatását és barátságát, amit kutatómunkám és értekezésem megírása alatt kaptam tőle.

Prof. Dr. Vízkelety Tibornak bátorítását és atyai támogatását.

Köszönettel tartozom Dr. Kiss Sándornak, Dr. Shisha Tamásnak és a Semmelweis Egyetem Ortopédiai Klinika Gyermekortopédiai Osztály minden dolgozójának.

A Szent István Állatorvostudományi Egyetem Sebészeti és Szemészeti Klinikájának tanszékvezetőjének Dr. Németh Tibornak és munkatársának Dr. Dunay Miklósnak a műtéteknél nyújtott óriási segítségükért.