Neuropeptidek és vazoaktív anyagok hatása a képződő kallusz mikrocirkulációjára - rés-oszteotómiás modell nyúl tibián

Doktori értekezés

Dr. Vendégh Zsolt

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Programvezető: Prof. Dr. Szendrői Miklós egyetemi tanár
Témavezető: Dr. Hamar János PhD, egyetemi magántanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Monos Emil egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Szabó Andrea PhD
Dr. Detre Zoltán PhD

Hivatalos bírálók:

Elnök: Prof. Dr. Mózes Tibor, egyetemi tanár, az MTA doktora

Opponensek: Dr. Kékesi Violetta egyetemi docens
Dr. Hangody László egyetemi docens

Tagok: Dr. Szőke György med. habil.
Dr. Zsolczai Sándor PhD főorvos

Budapest
2009. március 18.

TARTALOMJEGYZÉK

1. Rövidítések jegyzéke 4

2. Bevezetés (irodalmi háttér) 5

3. Célkitűzések 10

3.1. Alapkísérleteink célkitűzései 10

3.2. A második kísérleti sorozat célkitűzései 10

4. Módszerek 11

4.1. A kísérletek általános ismertetése 11

4.2. Az állatok anesztéziája és a monitorozott paraméterek 12

4.3. Az artériás kanül behelyezése 13

4.4. A lézer-Doppler szondák behelyezése 14

4.5. Az alkalmazott vazoaktív anyagok és dózisaik 17

4.6. Mért paraméterek 18

4.7. Számított paraméterek 18

4.8. Statisztikai számítások, alkalmazott számítógépes programok, szignifikancia 20

4.9. A rés-oszteotómiás modell elkészítése és a kísérleti elrendezés 21

4.10. Mérések az oszteotómia után 26

5. Eredmények 26

5.1. Az alapkísérlet mérési eredményei 26

5.1.1. A vazoaktív anyagok hatása a véráramlásra 27

5.1.2. A vazoaktív anyagok hatása a csontvelő mikrocirkuláció érellenállására ... 30

5.1.3. A véráramlás 50%-os visszatérési ideje az egyes vazoaktív anyagok alkalmazása után 32

5.2. A rés-oszteotómiás modell mérési eredményei a 10. posztoperatív napon 37

5.3. A rés-oszteotómiás modell mérési eredményei a 15. posztoperatív napon - egyes anyagokra adott mikrovaszkuláris válaszreakciók 42

5.3.1. A mikrovaszkuláris véráramlási sebesség változása 42

5.3.2. Perifériás mikrovaszkuláris ellenállás 46

5.3.3. Az 50%-os visszatérési idő 48

6. Megbeszélés 49

6.1. Anatómiai áttekintés 49

6.2. Élettani áttekintés 52
6.3. A vérellátás mérésének módszerei a csöves csontokban 54
6.3.1. A képződő kallusz mikrocirkulációjának vizsgálata-irodalmi áttekintés..61
6.4. A lézer-Doppler elven történő áramlásmérés fizikai alapjai és jellemzői..... 62
6.5. Alapkísérletek 70
6.5.1. Az artériás kanül szerepe 71
6.5.2. Az alkalmazott vazoaktív anyagok
(dózisaik, beadásuk sorrendje és módja) 71
6.5.3. A lézer-Doppler szondák kalibrálása és behelyezése..... 76
6.6. A rés-oszteotómiás modell 78
6.6.1. Kísérleti elrendezés, a szerek alkalmazása 78
6.6.2. Az oszteotómia elkészítése 78
6.6.3. Áramlásmérés a képződő kalluszban, mért és számított paraméterek 79
6.7. A képződő kallusz hisztológiai jellemzői..... 80
6.7.1. Az egyes szerek hatásai a képződő kallusz mikrocirkulációjára 83
7. Következtetések..... 87
8. Összefoglalás 90
9. Irodalomjegyzék..... 92
10. Saját publikációk jegyzéke 108
10.1. A témával összefüggő közlemények 108
10.2. A témával összefüggő előadások 110
10.3. A tudományos mukásságot megalapozó közlemények 112
10.4. A tudományos munkásságot megalapozó előadások……114
11. Köszönetnyilvánítás 120

1. Rövidítések jegyzéke

CGRP calcitonine gene related peptide

SP substance P (P-anyag)

NiNa nitroprusszid nátrium (SNP)

LDF laser-Doppler flowmetry, lézer Doppler áramlásmérés

NO nitrogénmonoxid

NOS nitrogénmonoxid- szintetáz

NPY neuropeptide Y (neuropeptid Y)

VIP vasoactive intestinal peptide (vazoaktív intesztinális peptid)

T 50% 50%-os visszatérési idő

2. Bevezetés

A csont vérellátásának, a csontgyógyulás folyamatának és a kalluszképződés dinamikájának ismerete a gyakorló traumatológus számára rendkívül fontos. Ezekről a folyamatokról igen nagy mennyiségű ismeretanyag halmozódott fel a hazai és nemzetközi irodalomban, azonban a csontgyógyuláshoz szükséges vérellátást biztosító lokális mikrocirkuláció szabályozásáról annál kevesebbet tudunk.

Munkahelyemen, a volt Országos Traumatológiai Intézetben (majd többszörös névváltoztatások és átszervezések után a jelenlegi Péterfy Sándor Utcai Kórház Baleseti Központjában), ahol 1990 októbere óta dolgozom, a csontgyógyulás kutatásának mindig fontos szerep jutott.

Ezt példázza, hogy a Központi Baleseti Ambulancia többéves beteganyagának áttekintése alapján (1996-ig bezárólag, 2494 eset), kutatócsoportunk - több munkatársunk részvételével - feldolgozta a mindvégig konzervatívan kezelt orsócsont távoli vég törések radiológiai és funkcionális eredményeit, melyekről közlemény jelent meg (dr. Dóczi József).

Külön munkacsoport alakult a csípőtáji törések epidemiológiájának, kezelésének és rehabilitációjának kutatására, amely átfogó, prospektív tanulmányból tudományos fokozat megszerzésére is elegendő adatot sikerült összegyűjtenünk és nemzetközileg elismert módon feldolgoznunk (dr. Cserháti Péter PhD értekezése, Cserháti, 1992), sőt egy következő, hasonló témájú tanulmány elfogadtatása is folyamatban van (Flóris, 2005).

Nagy jelentőséggel bírt az ún. „combnyak-team” megalakulása, amely Manninger professzor úr vezetésével több ezer combnyaktörés részletes elemzését végezte el. Korábbi munkásságuk során a combfej combnyaktörés utáni életképességének megítélésére vérkeringés-vizsgálatot, flebográfiát végeztek, mely azonban az esetek jelentős hányadában sajnos nem hozott érdemi diagnosztikus eredményt. A team, melynek magam is tagja voltam, sokévi munka után eljutott odáig, hogy az operált combnyaktörések elemzése és utánvizsgálata alapján sikerült a kettős kanülált combnyakcsavarozás elméletét, pontos indikációs területeit és a szükséges moduláris implantátum-készletet is kidolgozni, a hazai klinikai gyakorlatba bevezetni, majd később nemzetközi szinten is elfogadtatni.

Másik kutatócsoportunk, melynek ugyancsak tagja voltam, a nyílt lábszártörések ellátásának taktikájával foglalkozik (a primer kezelési módszer megválasztása, a módszerváltás időpontja, módja, a lágyrészek ellátásának és pótlásának lehetőségei, az utókezelés, a rehabilitáció és a funkcionális eredmények értékelése). Itt is fontos szerepet kap a csont ill. a csontvelő vérellátása és annak szabályozása, ami kiegészül a lágyrészek ellátásának problematikájával (Kádas, 2008). Ebben a témakörben is született már folyamatban lévő, házi védésen elfogadott doktori disszertáció (dr. Kádas István).

A medence sérüléseinek ellátása ugyancsak nagy kihívást jelent a traumatológusoknak. Ezzel a témakörrel is foglalkozott kórházunk egy kutatócsoportja, akik debreceni orvosok és mérnökök bevonásával cadaver-preparátumokon vizsgálták a medence csontos-szalagos sérüléseinek biomechanikai jellegzetességeit és az ily módon nyert eredményeket mesterségesen előállított medence-modelleken, végeselemes számítógépes elemzés alapján értékelték. Feldolgozták 10 év beteganyagát a rendelkezésre álló klinikai paraméterek alapján, sőt olyan univerzális biomechanikai modellt konstruáltak, amely szinte bármilyen, a medencén, mint anatómiai funkcionális egységen végzett további vizsgálatokra is az adott célnak megfelelő kisebb módosításokkal alkalmas (Bodzay 2008).

Jelen tanulmányunkat is az előbbiekben részletezett, a csontgyógyulást kutató kísérleti sorozatba illesztettük be. Nevezetesen: kutatócsoportunk előzetesen vizsgálta a csontgyógyulás egyes fázisaiban nyert szövettani mintákat, melyek alapján arra kerestünk választ, hogy a rés-oszteotómia által létrehozott csontdefektusba az ér- és idegképletek milyen dinamikával és morfológiával nőnek be. Ezt a képződő kallusz szöveteinek immunhisztokémiai vizsgálataival és egyszerű szövettani metszetekkel is vizsgáltuk. Mindezek alapján döntöttem úgy, hogy további vizsgálataimat a fentiekben vázolt vonal mentén vezetem tovább, és lézer-Doppler véráramlásmérő eszköz segítségével megvizsgálom a csontvelőben és a kalluszban természetes körülmények között is előforduló neuropeptidek és más vazoaktív anyagok hatását annak reményében, hogy eredményeink alapján közelebb kerülünk a csontvelő ill. a kallusz mikrocirkulációját szabályozó mechanizmusok megértéséhez.

A fent említett intézmény Kísérleti Osztályán (dr. Hamar János vezetésével) adottak voltak mindazon szakmai, tárgyi és személyi feltételek, amelyek tervezett kísérleteinkhez nélkülözhetetlenek voltak.

Elméleti alapok:

A csontvelő, a kortikális és spongiózus csontállomány morfológiai és funkcionális egységet alkot. A csontvelő rendkívül fontos szerepet játszik a csontgyógyulásban, és vérellátása révén a spongiózus csontállomány fő ellátója oxigénnel és tápanyagokkal. Speciális mikrokörnyezet kialakításával a csontgyógyulás folyamatát angioneogenezis és a neurális struktúrák kialakulása kíséri, melyben fontos szerepük van egyes neurális, humorális faktoroknak is, mint pl. hormonoknak és neuropeptideknek (Brookes 1968, Ahmed 1994, Kazuharu Irie 2002, Jian Li 2007). Ugyanakkor a csontvelő az eritro-és leukopoezis helyszíne is. Ezen szerteágazó funkciók miatt a csontvelő megfelelő vérellátása meghatározó szereppel bír, de a csontvelői véráramlás mennyiségi meghatározása ill. a véráramlás sbességének mérése és változásának detektálása számos nehézségbe ütközik. Továbbá a szabályozási mechanizmusok sem ismertek eléggé.

A csont és a csontvelő véráramlásának mérési technikáival kapcsolatban igen sok irodalmi hivatkozás található, melyekben az egyes módszerek előnyeit, hátrányait és alkalmazási területeiket ismertetik (Anetzberger 2003 és 2004, Austin 1989, Banic 2005, Banis 2005, Brookes 1965, 1967 és 1968, Chan 1999, Dunlap 1997, Gross 1981, Larsen 2008, Loups 1995, Tothill 1980, Van Dil La 1967) . Számos, különféle módszer terjedt el, melyek közül legismertebbek a következők:

- direkt kifolyásos módszer, amely a vizsgált területről kiáramló vénás vér mennyiségét/térfogatát méri (Cumming 1962),
- az artériás befolyás mérése elektromágnessel vagy ultrahanggal (Dunlap 1997, Banis 2005, Hussain 1997),
- a vérrel bejutott, pl. izotóppal megjelölt inert anyagok szöveti koncentrációjának mérése az idő függvényében, ill. az akkumuláció vagy a clearance detektálása (Hellem 1988, Kastrup 2008, Ladefoged 1965, Larsen 2008, Munchi 1993, Sun Shik Shim 1967, Yoshio Mishima 1979),
- izotóppal jelölt mikrogyöngyök eloszlásának és akkumulációjának mérése

(Anetzberger 2003 és 2004, Gross 1981, Kiaer 2005),
- intravitális mikroszkópos eljárás (Hansen-Algenstaedt 2006/a és b).

A véráramlás szabályozása az egyes csontokban és az adott csont különböző érterületein is eltérő, azonban a csontvelő mikrocirkulációjának természetes körülmények közötti szabályozásáról keveset tudunk. A szöveti vérátáramlást olyan neurális, hormonális és metabolikus faktorok szabályozzák, amelyek a csontokban is jelen vannak, továbbá gyulladásos mediátorok és egyéb, biológialag aktív anyagok is szerepet játszanak benne. Az efferens innervációt a szimpatikus, posztganglionáris neuronok biztosítják. Az afferens neuronok különféle neuropeptideket tartalmaznak, mint például a CGRP (calcitonine-gene related peptide), a VIP (vasoactive intestinal peptide), az NPY (neurpeptide Y) és a P-anyag (substance P, SP). Ezen neuropeptidek pontos szerepe nem ismert, bár jelentős ismeretanyag gyűlt össze azzal kapcsolatban, hogy az afferens neuronok ingerlésével azokból vazodilatációt okozó CGRP szabadítható fel, sőt ugyanakkor az SP plazma-extravazációt is okozhat (Ahmed, 1994, Bjurholm, 1988, Imai 2002.,Kazuharu 2002, Lundgaard, 1997). Az enzimek közül a NOS II emelendő ki, amely szintén jelen van a képződő kallusz differenciálatlan sejtjeiben, a preoszteoblasztokban és a preangioblasztokban. Mindezen mechanizmusok egyrészt fokozhatják a mikrocirkulációt, másrészt pedig neurogén gyulladáshoz vezethetnek.

Korábban végzett szövettani és immunhisztokémiai tanulmányok igazolták, hogy a kalluszban már a 10. posztoperatív napon jelen vannak vaszkuláris és neurális elemek, és ezek száma a 10. és a 15. posztoperatív nap között igen gyorsan növekszik. Ez a rapid proliferáció a 15. posztoperatív napon éri el a csúcspontját (Ahmed 1994, Wolf 2001és 2004, Höcherl 2004/a, Vendégh 2009, megjelenés alatt).

Jelen tanulmányunkban a csontvelő ill. a képződő kallusz mikrocirkulációjának vazoaktív anyagok hatására bekövetkezett változásait mértük **lézer-Doppler áramlásmérési technikával**.

Ez a mérési módszer is rendkívül elterjedt a véráramlás változásainak követésére olyan mérési helyzetekben, ahol nem szükséges az abszolút térfogatok meghatározása, ugyanis a változás irányának és mértékének regisztrálása is elegendő információt nyújt

(Chan 1999, ElMaraghy 1998, Fischer 2005/a és b, Hellem 1988, Kastrup 2008, Lautsen 1993, Nötzli 2005, Shymkiw 2001, Swiontkowski 1986, 1988 és 1991, Tonnesen 2005, Vendégh 1999/b, Vendégh 2005/a, Vendégh 2009, közlésre elfogadva). Az első kísérleti sorozatban (10 nyúlon) az intakt femur és az intakt tibia diafízisében vizsgáltuk a csontvelő véráramlásváltozásait vazoaktív szerek (adrenalin, CGRP, SP, nitroprusszid nátrium, Ebrantil+adrenalin) intraarteriális bejuttatását követően. Standardizált körülmények között mértük a vérnyomásban, mikrocirkulációban észlelhető változásokat, és ezek alapján kiszámítottuk az intakt femur és tibia csontvelőjének mikrovaszkuláris érellenállását, valamint a véráramlás sebességének 50%-os visszatérési idő-értékeit.

A második kísérleti sorozatban rés-oszteotómiás modellünk segítségével a tibiában képződő kallusz mikrocirkulációjának ugyanezen anyagok hatására bekövetkezett változásait detektáltuk a 10. és 15. posztoperatív napon (15-15 nyúlon), ugyancsak a fent említett módszerek alkalmazásával. A kalluszban végzett mérésekhez az azonos oldali, intakt femurt használtuk referenciapontként (Vendégh 1999 és 2009 közlésre elfogadva).

3. Célkitűzések:

Alapvető célkitűzésünk a csontvelő és a képződő kallusz mikrocirkulációjának vizsgálata ill. az ezt szabályozó mechanizmusok kutatása volt.

3.1. Alapkísérleteink célkitűzései:

A kísérletsorozat első fázisában arra kerestük a választ, hogy van-e különbség az azonos oldali femur és tibia vérellátása ill. annak szabályozása között, azaz:

a. a nyúl azonos oldali intakt femurjában és intakt tibiájában a csontvelő mikrocirkulációjának változásai ill. mikrovaszkuláris érreakciói mutatnak-e egymáshoz képest statisztikailag szignifikáns eltérést a kísérletben alkalmazott vazoaktív anyagok és neuropeptidek intraarteriális alkalmazásának hatására?

b. használható-e az azonos oldali femur a későbbi kísérletekben a tibia kalluszában végzett mikrovaszkuláris áramlásmérések referenciapontjaként?

3.2. A második kísérleti sorozat célkitűzései:

Ebben a kísérleti sorozatban azt vizsgáltuk, hogy a csontgyógyulás kezdeti szakaszában (a 10. és 15. posztoperatív napon) milyen változások mennek végbe a képződő kalluszban.

A következő kérdésekre kerestük a választ:

a. a csontseb gyógyulásának milyen fázisában jelennek meg reakcióképes érstruktúrák?

b. ezen érstruktúrák milyen reaktivitást mutatnak a vazoaktív anyagokra a csontseb keletkezésétől eltelt idő függvényében, a 10. és 15. posztoperatív napon?

4. Módszerek:

Valamennyi állatkísérletünket a Magyar Köztársaság érvényben lévő Állatvédelmi Törvényének megfelelően végeztük. Kutatási módszereinket az illetékes Etikai Bizottság is jóváhagyta (1998 / XXVIII. és 243 / 1998. XII. 31.), ezen túlmenően azok teljes mértékben megfeleltek a *„NIH Guidelines and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe, No 123, Strasbourg, 1985 ill.1996”* irányelvekben foglalt európai előírásoknak is. A kutató laboratórium érvényes működési engedéllyel rendelkezett az adott kísérletek elvégzéséhez (Fővárosi Állategészségügyi Hatóság).

4.1. A kísérletek általános ismertetése

Mindkét kísérleti sorozatot 2200-2500 gramm testsúlyú, fehér, nőstény Új-Zéland nyulakon hajtottuk végre (összesen 40 nyúlon).

Kísérletsorozatunk két részből épült fel.

Az alapkísérletben összehasonlítottuk az intakt femur és az azonos oldali intakt tibia csontvelőjének az alkalmazott vazoaktív anyagok hatására létrejött mikrovaszkuláris reakcióit. A méréseket 10 nyúlon végeztük.

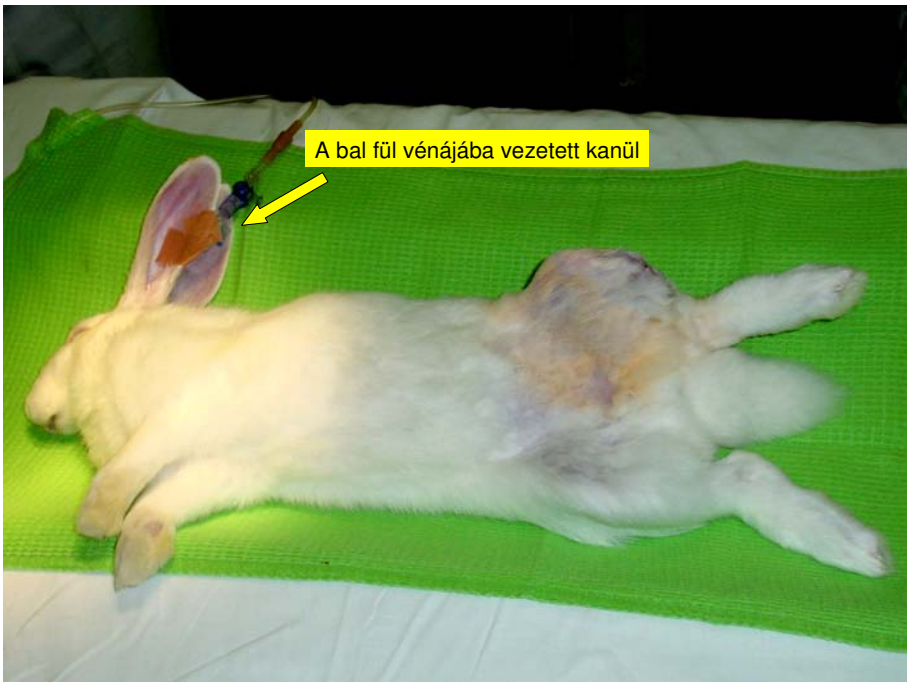
A rés-oszteotómiás kísérletben 2x15 nyúl tibiáján lemezzel és csavarokkal rögzítve hoztunk létre egy 3 mm széles csont-diasztázist. Az itt képződő kalluszban vizsgáltuk az első fázisban is alkalmazott vazoaktív anyagok hatására létrejött mikrovaszkuláris véráramlás-változásokat és kiszámítottuk a mikrovaszkuláris rezisztenciát. Az első csoportba tartozó állatokon (1x15 nyúl) az oszteotómia után 10 nappal, a másodikban (1x15 nyúl) pedig az oszteotómia után 15 nappal végeztük el a méréseket. A két csoportról nyert (mért és számított) adatokat számítógéppel, statisztikai program segítségével dolgoztuk fel.

4.2. Az állatok anesztéziája és a monitorozott paraméterek

Az állatok elaltatásához intramuszkulárisan beadott 40 mg/kg Ketamint (Richter Gedeon Kft, Budapest) és a 6 mg/kg dózisú Xylazint (Bayer AG, Leverkusen, Németország) használtunk. A fenntartáshoz 3 mg/kg/óra mennyiségben Na-Pentobarbitalt (Rhone Merieux, Laupheim, Németország) adagoltunk infúzió formájában egy fülvénán keresztül. A 15 ml/óra sebességű fenntartó infúzió mellett az állatok spontán lélegeztek, testhőmérsékletüket stabilan 37 ºC fokon tartottuk egy fűthető pad segítségével. Az artériás vérgáztenziókat (pO_2 és pCO_2) és a vér pH-értékét 60 percenként ellenőriztük (ABL 300-as típusú vérgáz analizátor, Radiometer, Koppenhága, Dánia), és azok mindvégig a normál tartományban voltak. Lásd az 1. ábrát.

1. ábra

Az anesztéziához használt gyógyszerek és a folyamatos infúzió bejuttatása egy bal oldali fülvénába



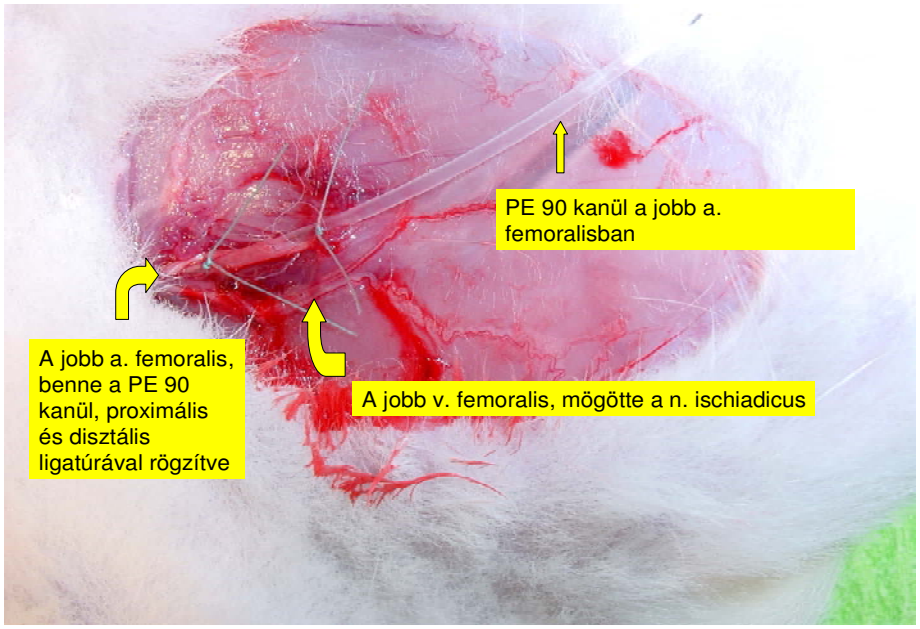
4.3. Az artériás kanül behelyezése

A narkotizált állat jobb combjának mediális oldalát babérlevél alakú metszésből tártuk fel. A felületes bőralatti kötőszöveten és a fascián áthaladva tompán kipreparálható volt az arteria femoralis, a kísérő véna és a n. ischiadicus.

Az artériát proximálisan mintegy 3 cm hosszan felszabadítva és 1%-os Lidocaint a sebre csepegtetve a kívánt mértékű vazorelaxációt elértük, majd az eret megnyitva egy PE 90-es polietilén katétert vezettünk fel az aorta hasi szakaszába, kb. 1 cm-rel annak bifurkációja fölé. Ezután a sebet kiöblítettük és fiziológiás sóoldattal átitatott gézzel fedtük. Lásd a 2. ábrát.

2. ábra

A polietilén katéter elhelyezkedése a jobb a. femoralisban, ligatúrákkal rögzítve



A polietilén katéter helyzete a jobb oldali a. femoralisban, ligatúrákkal rögzítve.

A szükséges katéter-hosszúságot korábbi vizsgálataink során, egy elhullott állat boncolása révén határoztuk meg. Mivel közel azonos testméretű állatokkal dolgoztunk,

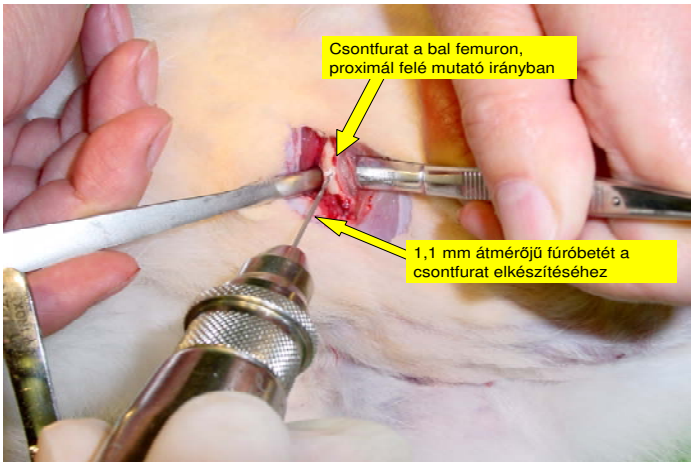
és a bevezetés helye is jól meghatározott volt, a felvezetés hossza állandónak volt tekinthető. A katétert az artériában többszörös ligatúrával rögzítettük, továbbá a környező lágyrészekhez is kiöltöttük. A disztális érszakaszt lekötöttük. Ezáltal a jobb alsó végtagot a keringésből gyakorlatilag kirekesztettük, tehát a beadott szer túlnyomó része a vizsgálni kívánt bal alsó végtagba került, de kollaterálisok és anasztomózisok révén a szisztémás keringésbe is bejutott. A katéterhez háromállású csapot illesztettünk, melyen át a szerek bejuttatása, vérminta vétele és a katéter öblítése biztosítható volt, ugyanakkor közvetlenül mérhetővé vált az aortában uralkodó artériás vérnyomás is. Ehhez MS 30 típusú elektromanométer transzducert használtunk (Electromedics Inc., Colorado, USA). A katéter helyzetét több kísérlet végén is ellenőriztük és az minden alkalommal a bifurcatio aortae fölött helyezkedett el kb. 1 cm-rel.

4.4. A lézer-Doppler szondák behelyezése

A bal comb laterális felszínén ejtett babérlevél alakú metszésből, az izmok között anterolaterálisan, tompán preparálva jutottunk a **femurra** a tapintható csípő- és térdízületek közötti távolság felénél. A csontba 1,1 mm átmérőjű furatot készítettünk olymódon, hogy csak a laterális kortikálist fúrtuk át és a furat iránya kb. 45 fokos szögben proximál felé mutatott. Lásd a 3. ábrát.

3. ábra

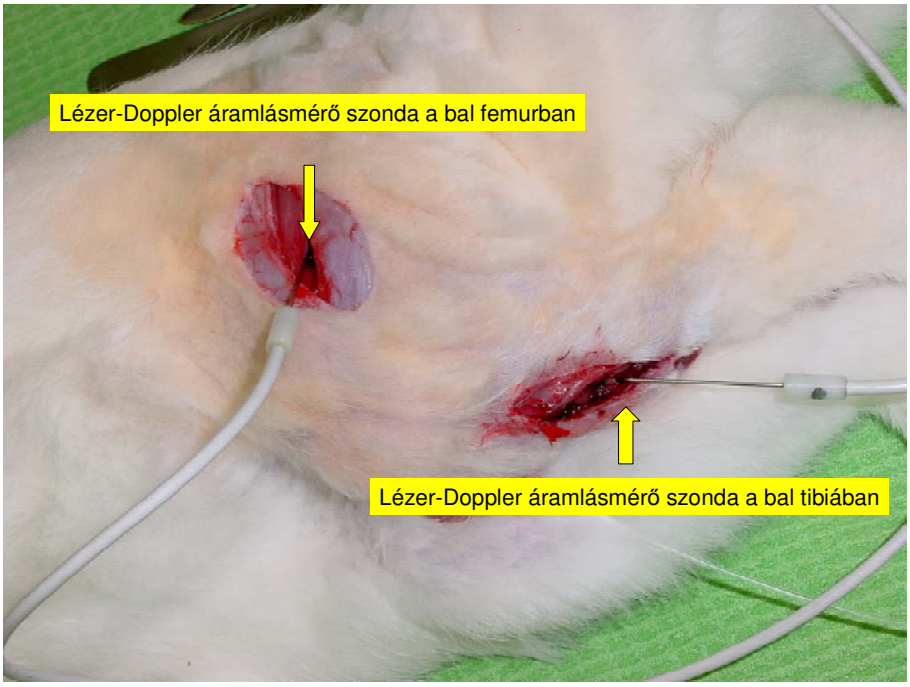
A lézer-Doppler ármalásmérő szonda befogadására szolgáló furat elkészítése a bal femur laterális felszínén



A **tibiát** szintén anterolaterális feltárásból értük el ugyancsak a középső harmadban, a jól tapintható térd- és bokaízületek közötti távolság felénél. Hasonló módon készítettük el a csontfuratot és behelyeztük a lézer-Doppler mérőszondákat (Optronix-Experimetria Ltd., Oxford, Egyesült Királyság), melyek mind a femur, mind a tibia furatban stabilan rögzültek. Lásd a 4. ábrát.

4. ábra

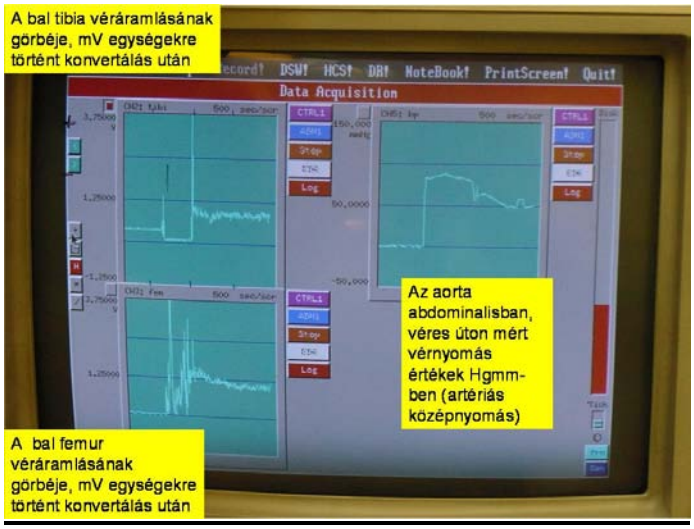
A lézer-Doppler áramlásmérő szondák elhelyezkedése



Mindkét szondát a jelátalakítóhoz és a számítógépes rendszerhez csatlakoztattuk (ISOSYS, Experimetria Kft., Budapest). Lásd az 5. ábrát.

5. ábra

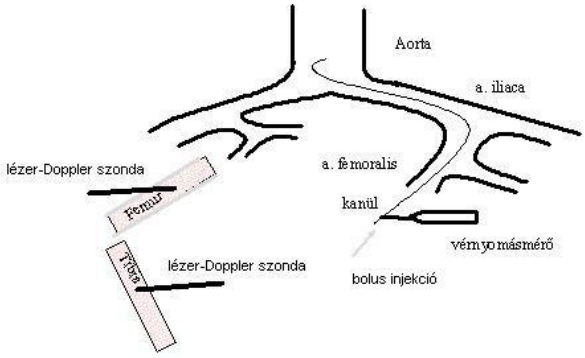
Mérési kép a háromcsatornás monitoron



A vázlatos kísérleti elrendezést a 6. ábra mutatja.

6. ábra

A csontfuratokba helyezett szondák és az artériás kanül helyzete vázlatosan



4.5. Az alkalmazott vazoaktív anyagok és dózisaik

Valamennyi szer alábbi dózisait korábbi kísérleteink alapján, empírikus úton úgy határoztuk meg, hogy a jelen kísérletekben alkalmazott elrendezés mellett a lehető legkisebb szisztémás hatást fejtsenek ki maximális lokális hatás mellett. Az alkalmazott dózisok a következők voltak:

1. Adrenalin (Richter Gedeon Kft, Budapest), 0,2 μg/kg,
2. CGRP (Sigma, St. Louis, USA) 4,0 μg/kg,
3. SP (Sigma, St. Louis, USA) 10,0 pg/kg,
4. NiNa (nátrium-nitroprusszid, Sigma, St. Louis, USA) 8,0 μg/kg és
5. Ebrantil (urapidil hidroklorid, Richter Gedeon Kft., Budapest) 0,5 μg/kg mennyiségben.

Elsőként adrenalint adagoltunk annak ellenőrzésére, hogy a kanül és a lézer-Doppler szondák helyzete megfelelő-e, ill. hogy létre jön-e az adrenalin által okozott szokványos fiziológiai reakció (vérnyomás-emelkedés és áramláscsökkenés). A neuropeptideket (CGRP, SP) és a nátrium-nitroprusszidot ezután minden állat esetében más-más, random sorrendben juttattuk be az esetleges véletlenszerű kölcsönhatások kiküszöbölésére. Valamennyi szer beadását követően azonnal 0,5 ml heparinozott fiziológiás sóoldattal öblítettük át a kanült. A mért paraméterek 5-8 perc elteltével visszatértek ugyan a kiindulási értékre (± 5 %), de a következő szer beadásával 20-25 percet vártunk annak érdekében, hogy a szer hatása biztosan megszűnjön és az állat valamennyi, általunk nem mért paramétere is megnyugtatóan stabilizálódhasson.
Utolsó lépésként Ebrantilt adagoltunk, melynek beadását pontosan 60 másodperccel követve adrenalint juttattunk be a fenti dózisban.
A kísérletek végén az állatokat az altatószer (Na-Pentobarbital, Rhone Merieux, Laupheim, Németország) túladagolásával öltük meg.

4.6. Mért paraméterek

Az artériás kanülből vett vért laboratóriumi körülmények között vizsgáltattuk, meghatároztattuk annak oxigén és széndioxid gáztenzióját (pO_2, pCO_2), valamint pH-értékét. (Ezek minden esetben a normál tartományon belül mozogtak.)

Az aortába felvezetett kanült nyomásmérő fejhez (MS 30-as típus, Electromedics Inc., Colorado, USA) kapcsoltuk. Ezt erősítőn keresztül a számítógépes rendszerrel kötöttük össze (ISOSYS, Experimetria Kft., Budapest). A jel az artériás vérnyomást a monitoron közvetlenül Hgmm-ben leolvashatóan jelenítette meg.

Méréseinkhez 1,5 mW teljesítményű, monokromatikus, He-Ne infravörösközeli (780 nm hullámhosszúságú) lézersugarakat használtunk. Lézer-Doppler szondák segítségével mértük az adott csontvelőterületek véráramlási sebességének relatív változásait, melyek mV-értékekké transzformálva jelentek meg a monitoron. Mérési módszerünk alapját az optikai Doppler-effektus adta, melynek során a fény frekvenciájának eltolódását detektáljuk. Eszerint mozgó tárgyról visszaverődve a fény frekvenciaváltozása optikai Doppler-frekvencia eltolódást okoz, mely elektronikusan detektálható és a $\mathbf{\Delta f / f = (v/c) \times \cos \alpha}$ képlettel írható le, ahol $\mathbf{\Delta f}$ a frekvencia változását jelöli az alapfrekvenciához (**f**) képest, **v** az áramlás sebességét, **c** a fénysebbeséget az α pedig a mérőfejnek az áramlás irányával bezárt szögét jelöli.

4.7. Számított paraméterek

A **vérnyomás**értékek relatív változásait számítottuk olymódon, hogy 100%-nak tekintettük a szer beadása előtti értéket és 0%-nak vettük a 0 Hgmm-es nyomást. A vérnyomás változásai ezen tartományon belül, kalibrálást követően, közvetlenül leolvashatók voltak a monitorról.

Mivel a lézer-Doppler szondákkal történő áramlásmérés nem alkalmas abszolút mennyiségek (pl. ml/min/szövettömeg) kvantitatív meghatározására, csak a **véráramlási sebesség**ben bekövetkezett **relatív változások** regisztrálására, ezért kalibrációnk során alapértéknek (mV) vettük azt a helyzetet, amikor a szonda szabadon a levegőben volt és nem volt előtte semminemű mozgás. Az áramlásváltozás meghatározásához a szer

beadása előtti kiindulási értékből (mV) kivontuk a kalibráció során meghatározott alapértéket és a kettő különbségét tekintettük 100%-nak (mV).

A maximális változást a szer beadását megelőző alapáramláshoz (azaz a 100%-os értékhez) viszonyítva fejeztük ki, ugyancsak százalékos formában.

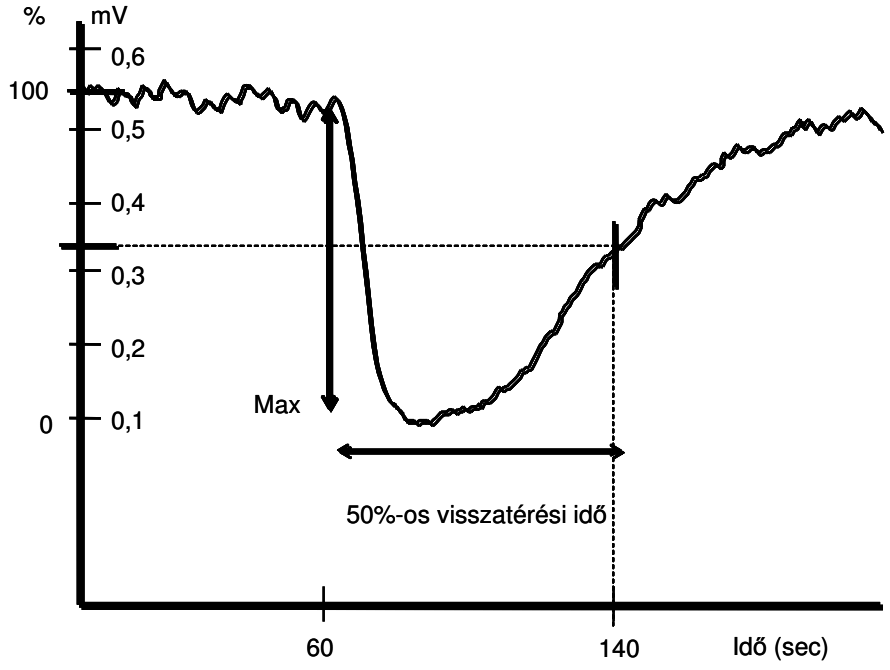
A **mikrovaszkuláris ellenállást** úgy számítottuk ki, hogy az artériás középnyomás %-os változását osztottuk a véráramlás sebességének %-os változásával.

A szerek farmakodinamikai jellemzőinek leírására egy általunk kidolgozott módszert, az 50%-os visszatérési idő kiszámítását alkalmaztunk.

Az 50%-os visszatérési időt számítógépes program segítségével határoztuk meg a 7. ábrán demonstrált elv alapján.

7. ábra

Az 50%-os visszatérési idő kiszámításának elve



Az adrenalin jellegzetes áramláscsökkentő, vazokonstriktor hatása. A hatás maximumához szükséges idő leolvasása bizonytalan, mivel a maximális hatást reprezentáló szakaszon a görbe fluktuációt mutat, nem lehet egyetlen jól meghatározott pontnak tekinteni. A 100%-os visszatéréshez szükséges idő aránytalanul hosszú, a grafikonon nehezen lenne elhelyezhető, ugyanakkor a kiindulási érték csak ±5-8%-os eltéréssel tért vissza. Az 50%-os visszatérési idő hossza azonban pontosan leolvasható egy jól definiálható pont alapján, melynek helyzetét nem a grafikonon mértünk le, hanem számítógépes programmal határoztunk meg. Az ábra csak a módszer vázlatos demonstrációját szolgálja.

A vizsgált végtagcsontok csontvelői területeinek perifériás mikrovaszkuláris ellenállását is kiszámítottuk olymódon, hogy az artériás vé Idő (sec) izalékos változását osztottuk a véráramlás százalékos változásával.

4.8. Statisztikai számítások, alkalmazott számítógépes programok, szignifikancia

Valamennyi értéket százalékos változásként regisztráltunk, mely számítás alapja az adott vazoaktív anyag beadását megelőző állapotban észlelt nyugalmi érték volt. Az adatok számítógépes feldolgozásához a Statistica 5.0 programot (StatSoft Hungary Kft., Budapest) alkalmaztuk.

A femurból és a tibiából nyert adatok összehasonlításához az ANOVA tesztet (Tukey) használtuk, a táblázatokban feltüntetett értékek az átlagot ± SEM-t jelölik. Az egyedi különbségek analíziséhez a Bonferroni-féle post hoc tesztet alkalmaztuk. Statisztikailag szignifikánsnak tekintettük az eltérést, ha a p érték 0,05 vagy annál kisebb volt.

Az egymásnak megfelelő adatok statisztikai összehasonlítását a Student-féle kétmintás t-próba segítségével végeztük el.

4.9. A rés-oszteotómiás modell elkészítése és a kísérleti elrendezés

Általános szempontok

Az állatok anesztéziája, az artériás kanül felvezetése, a vizsgált anyagok dózisa, bejuttatásuk sorrendje és módja valamint a lézer-Doppler szonda helyzete a femurban mindenben megegyezik az alapkísérletnél leírtakkal.

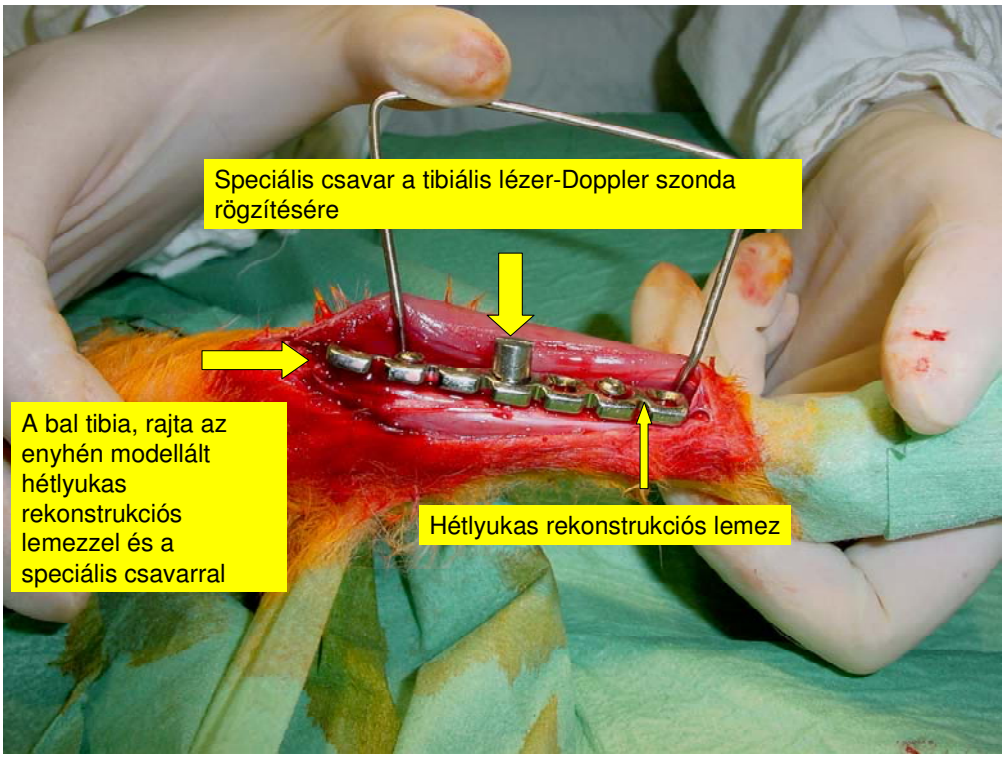
A mért és számított változók, az adatrögzítéshez használt berendezések és programok, valamint a számítások módja és a referenciaértékek meghatározása is megegyezik az alapkísérletnél alkalmazottakkal.

A tibia rés-oszteotómiájának elkészítése

A műtétnél a Wolf és munkatársai által leírt módszer általunk modifikált, továbbfejlesztett változatát alkalmaztuk (Höcherl 2004/a és b, Vendégh 1999/a és b, 2005/a és b, 2009- megjelenés alatt és Wolf 1997). Ennek során a narkotizált állat bal tibiájának elülső felszínén a mindennapi sebészi gyakorlatban is alkalmazott műtői aszepszis és antiszepszis szabályainak betartásával egyenes metszést ejtünk. A csont anterolaterális felszínét annak teljes hosszában kipreparáljuk. Felhelyezzük a hétlyukas, előre modellált (enyhén hajlított, hossztengelye körül propeller-szerűen kissé megcsavart) rekonstrukciós lemezt (Synthes, Svájc), és azt a csonthoz előzetes fúrást és menetvágást követően proximálisan és disztálisan is 3-3, bikortikálisan tartó 2,7 mm-es csavarral rögzítjük. Megjelöljük a periosztеumon a későbbiekben eltávolítani kívánt 3 mm széles csontgyűrű pontos helyzetét. Ennek a 7-lyukas lemez középső furata alatt kell elhelyezkednie, amelybe egy speciálisan kialakított, külső részén menetes, teljes hosszában kanülált szondatartó csavart helyeztünk be. Lásd a 8. ábrát.

8. ábra

A lemez elhelyezkedése a még intakt tibián

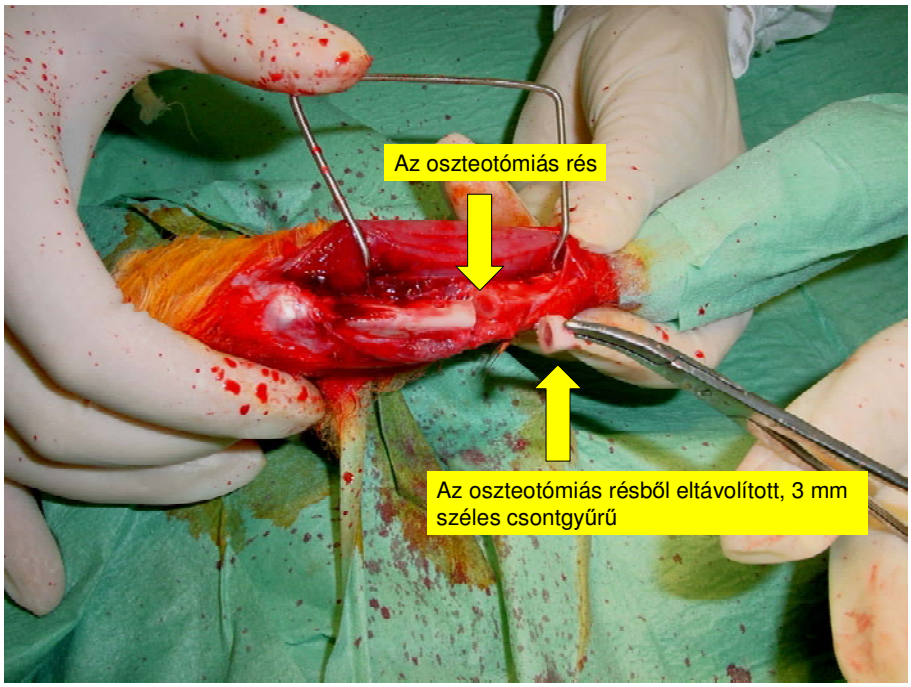


A lemez rögzítéséhez használt menetes csontfuratok helyzete biztosítja, hogy a lemez eltávolítása és a csontgyűrű kifűrészelése után megmarad a pontosan 3 mm széles oszteotomiás rés.

Ezután a csavarokat és a lemezt eltávolítjuk, felkeressük a középső harmad azon részét, ahol a periosztеumon lévő karcolt jelölés található. Ez minden esetben egybeesett azzal a magassággal, ahol a tibia szinosztózist képez a fibulával. A csontokat ezen a ponton oszcillációs fűrésszel harántul átvágjuk, majd a fragmentumokból egy összesen 3 mm széles csontgyűrűt vágunk le, vagyis mind a proximális, mind a disztális fragmentumot 1,5-1,5 mm-rel rövidítjük meg. Lásd a 9. ábrát.

9. ábra

A tibia és a fibula feltárása anetrolaterális, retromuszkuláris behatolásból

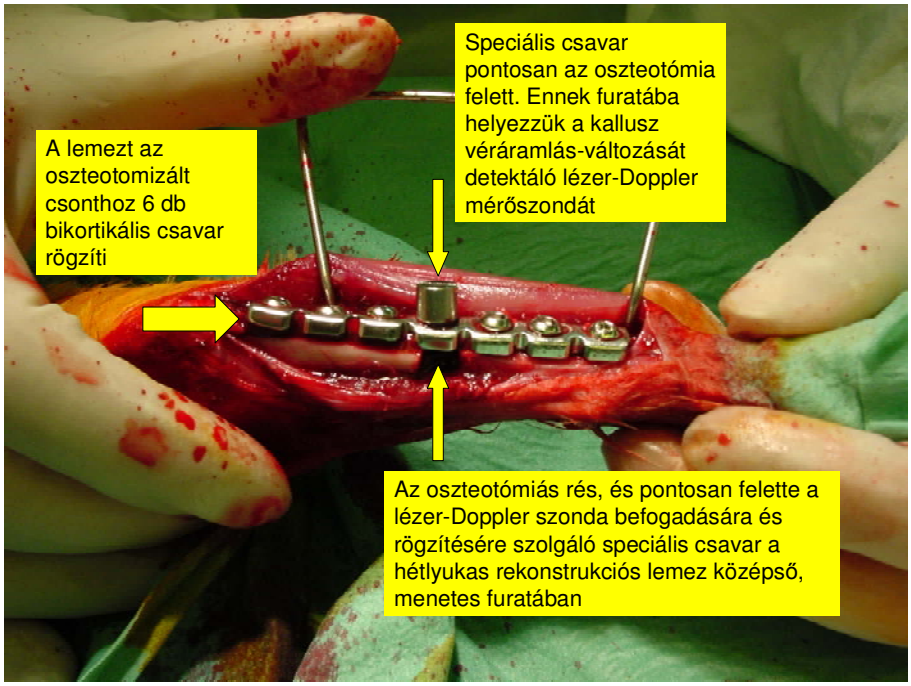


A tibia és a fibula szinosztózisának magasságában 3 mm széles csontgyűrűt távolítunk el. A csontfelszíneken láthatók az előre felhelyezett majd eltávolított rekonstrukciós lemez csavarjainak menetes furatai.

Visszahelyezzük a 7-lyukas rekonstrukciós lemezt. A furatok helyzetéből adódóan a 3 mm-es távolság „automatikusan” létrejön. Ily módon a hétlyukas rekonstrukciós lemez középső lyuka esik pontosan a rés-oszteotómia közepe fölé. Ezt a lyukat úgy alakítottuk ki, hogy a belső felszínébe vágott menet révén alkalmas legyen egy speciális, külső menettel és tengelyirányú, 1,1 mm-es furattal ellátott csavar befogadására, mely a későbbiekben a lézer-Doppler szonda tartóhüvelyeként fog szolgálni. (Lásd a 9/a, 9/b és 9/c ábrákat.)

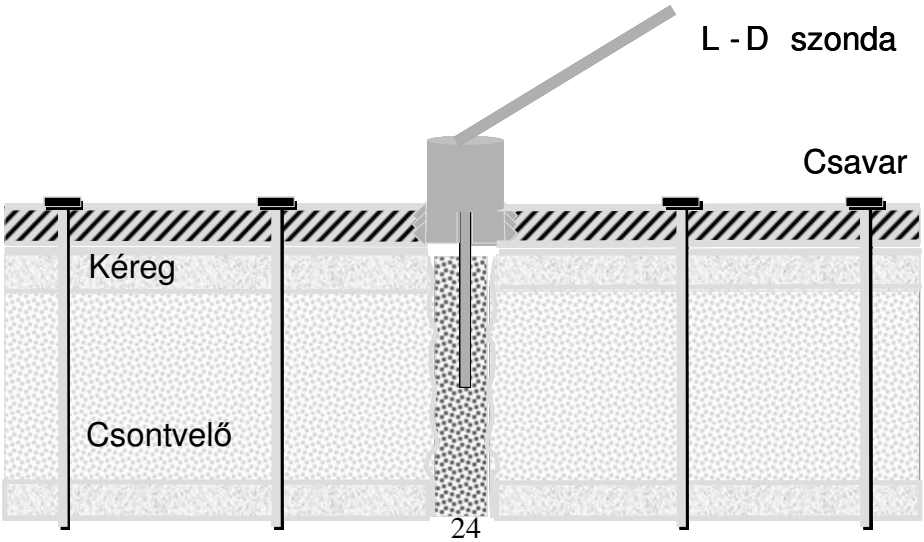
9/a ábra

A lemez és a lézer-Doppler szonda tartóhüvelyéül szolgáló csavar helyzete az oszteotómia felett



9/b ábra

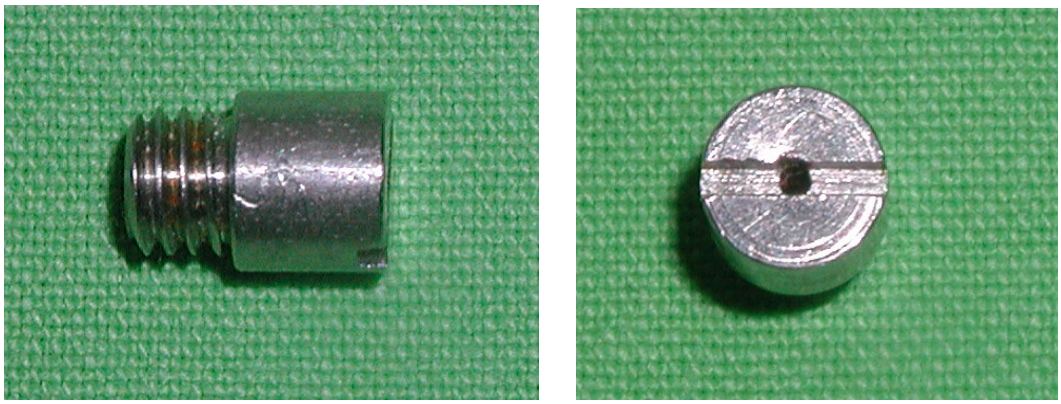
A résoszteotómiás modell vázlata



9/a és 9/b ábra: a lézer-Doppler szonda a lemez középső furatába helyzett menetes hüvelyen keresztül a képződő kallusz középpontjába mutat. A 3 mm széles oszteotómiát a hétlyukas lemez és a bikortikális csavarok rögzítik.

9/c

A speciális csavar



A lemez középső, átalakított furatába menettel illeszkedő, speciális, hossztengelyében kifúrt, külső részén menetes csavar, melyben a 120 fokos szögben meghajlított lézer-Doppler szonda disztális szára stabilan rögzül, és pontosan a képződő kallusz középpontjáig ér. A csavar magasságát úgy választottuk meg, hogy az adott, konstansnak tekintehető anatómiai viszonyok (csontátmérő a középső diafizeális szakaszon) mellett az adott méretű szondát annak 120 fokos görbületéig a csavarba tolva, az pontosan a proximális és disztális kortikálisok közötti távolság felezőpontjáig érjen a kalluszba.

Ezt követően a sebet öblítés után, drén alkalmazása nélkül rétegesen zártuk, majd fedőkötést helyeztünk fel. Az állatokat a posztoperatív periódusban egyedi ketreceikben tartottuk, ahol szabad hozzáférésük volt a szokványos nyúltáphoz és csapvízhez. Mindennaoi gondozásukról, megfigyelésükről szakember gondoskodott. A kirendelt állatorvos utasításai alapján végeztük el a sebek ellenőrzését, fertőtlenítését és a

kötéscseréket. A beavatkozást valamennyi állat túlélte, szeptikus szövődmény nem fordult elő és minden seb per primam intentionem gyógyult.

4.10. Mérések az oszteotómia után

A fenti módon megoperált nyulakat random módon két csoportba osztottuk (2x15 nyúl): az egyik csoportot a műtéttől számított 10. napon, a másodikat a műtéttől számított 15. napon vetettük alá a képződő kalluszon végzett tulajdonképpeni mikrovaszkuláris véráramlás-méréseknek.

Ennek kivitelezéséhez az artériás kanült a korábban leírt módon helyeztük be és a femur trepanációja is a korábbi metódus szerint történt. A bőr alatt jól tapintható speciális csavart kb. 1 cm-es metszésből tártuk fel, és a második lézer-Doppler mérőszondát ezen csavar furatába helyeztük, mely így a képződő kallusz középpontjára mutatott. Ezáltal a szonda vége a rés-oszteotómia középvonalába, a képződő kallusz közepébe került. Lásd a 9/b vázlatos ábrát.

Az elrendezés és a mérés minden lépése, az alkalmazott anyagok és a kísérlet minden egyéb tényezője és körülménye megegyezett a korábban leírtakkal.

A kapott értékeket az azonos oldali femurból nyert adatokkal, mint referencia-értékekkel párhuzamosan értékeltük, valamint vizsgáltuk a 10. és a 15. napon a tibia kalluszából nyert eredmények közötti különbségeket, azaz a véráramlási sebességben, a mikrovaszkuláris rezisztenciában és az 50%-os visszatérési időben bekövetkezett változásokat.

5. Eredmények

5.1. Az alapkísérlet mérési eredményei

A mérések kezdetén az átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt, és átmeneti változást követően erre az alapértékre valamennyi szer beadását követően néhány %-os eltéréssel visszatért. A femur csontvelőjének alap LDF jel értéke (átlagérték mV-ban ± SEM) 0,55±0,072 volt, ez mintegy 2,6-szorosa volt a tibián mért értéknek 0,21±0,031.

Nem volt kimutatható statisztikailag szignifikáns különbség sem a mikrovaszkuláris véráramlási reakciók, sem a mikrovaszkuláris érellenállás, sem az 50%-os visszatérési idők között egyik vazoaktív anyag ill. neuropeptid beadása után sem.

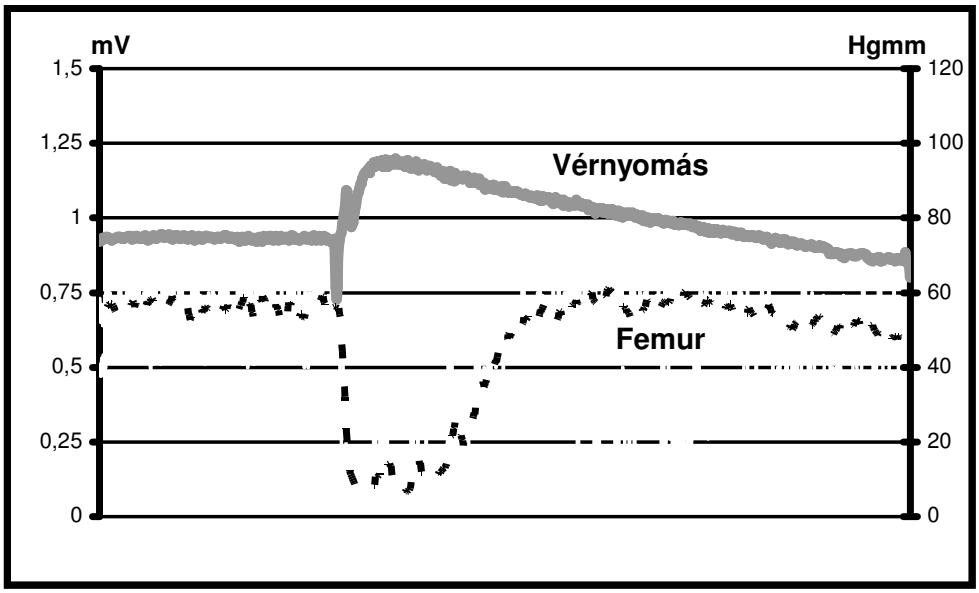
5.1.1. A vazoaktív anyagok hatása a véráramlásra

Adrenalin

Az adrenalin a véráramlást mindkét csontban statisztikailag szignifikáns mértékben csökkentette a kiindulási (100%) értékhez képest: a tibiában átlagosan 48,9 (±6,99)%-ra, a femurban átlagosan 38,7 (±5,31)%-ra. A két csonton mért áramlásváltozások között nem volt statisztikailag kimutatható szignifikáns különbség.
A 10. ábrán az adrenalin jellegzetes hatásgörbéje látható.

10. ábra

Az adrenalin jellegzetes hatásgörbéje (egyedi görbe az egyik kísérleti mérési sorozatból)



Az artériás középnyomás és a femur csontvelőjében mért mikrovaszkuláris véráramlás-változások (Hgmm ill. mV) az idő függvényében, ***adrenalin*** *hatására.*

CGRP és SP

Mindkét neuropeptid csökkentette a véráramlás sebességét a vizsgált csontok csontvelőjében. A CGRP a tibiában 70,9 (±4,3)%-ra, a femurban 60,6 (±3,5)%-ra. Az SP a tibiában 67,1 (±3,4)%-ra és a femurban 66,1 (±4,1)%-ra (átlagos értékek). A két csonton mért mikrovaszkuláris áramlásváltozások között nem volt kimutatható statisztikailag szignifikáns különbség.

Nitroprusszid-nátrium

Nitroprusszid-nátrium adagolását követően a véráramlás szintén csökkent, de kisebb mértékben, mint a fenti két vazodilatátor anyag esetében: a tibián átlagosan 76,2 (±3,7)%-ra, a femuron átlagosan 92,1 (±4,2)%-ra. Itt sem volt igazolható statisztikailag szignifikáns eltérés a két csont mikrovaszkuláris reakciói között.

Ebrantil + adrenalin

Ebrabtil előzetes adagolásával az adrenalin drasztikus áramláscsökkentő hatása statisztikailag szignifikáns mértékben kivédhető volt mindkét csontban ($p = 0,03$). Az áramlást a tibiában átlagosan 74,0 (±5,3)%-ra, a femurban 70,5 (±6,7)%-ra csökkentette, szemben az önmagában adagolt adrenalin áramláscsökkentő hatásával (tibia: 48,9 ±6,99, femur: 38,7±5,31). A két csont mikrovaszkuláris reakciói között itt sem volt igazolható statisztikailag szignifikáns különbség.

A fenti értékeket az 1. táblázat tartalmazza és a 11. ábra szemlélteti.

1. táblázat

Az alkalmazott vazoaktív anyagok hatása az intakt tibia és femur csontvelőjének véráramlás-változásaira (a 100%-os kiindulási érték %-ában, ± SEM)

A két csontvelő mikrovaszkuláris véráramlási reakciói egyik vazoaktív anyag beadása után sem mutattak egymáshoz képest statisztikailag szignifikáns eltérést.

*Az **adrenalin vs. Ebrantil+adrenalin** hatásai között statisztikailag szignifikáns különbség igazolható mindkét mikrovaszkuláris területen (*, $p \leq 0,05$).*

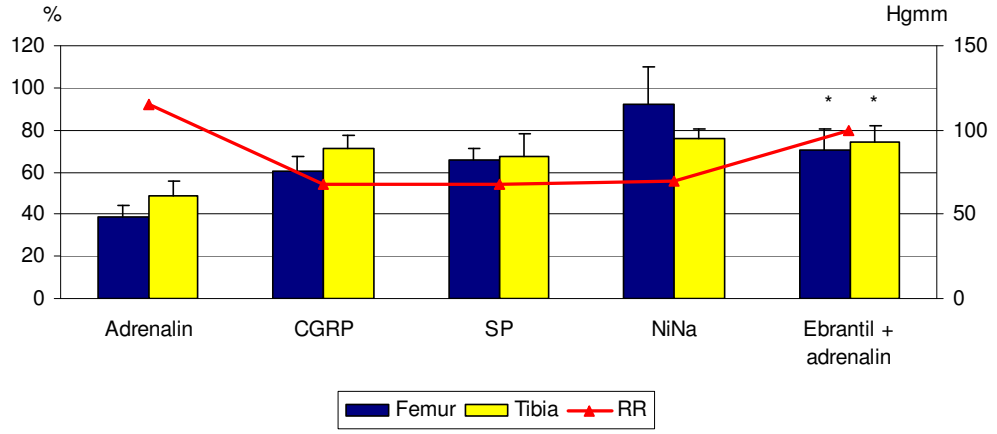
A szerek beadása előtti átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt.

: statisztikailag szignifikáns eltérés az **adrenalin vs. **Ebrantil + adrenalin** véráramlásra gyakorolt hatásai között az intakt tibiában és a femurban*

Csontvelő területek	Adrenalin	CGRP	SP	NiNa	Ebrantil + adrenalin
Tibia	48,9±6,99	70,9±6,81	67,1±11,4	76,2±3,82	74,0±7,71*
Femur	38,7±5,31	60,6±6,49	66,1±5,32	92,1±18,3	70,5±10,78*

11. ábra

Az egyes vazoaktív anyagok hatása az intakt femur és tibia csontvelőinek százalékos véráramlás-változásaira (maximális áramlásváltozások) és az artériás középnyomás maximális változására (Hgmm)



Nincs szignifikáns különbség a két mikrovaszkuláris terület véráramlási reakciói között egyik vazoaktív anyag hatására sem.

***RR:** az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)*

5.1.2. A vazoaktív anyagok hatása a csontvelő mikrocirkuláció érellenállására

Adrenalin (relatív egységekben kifejezve)

Az adrenalin a csontvelő perifériás ellenállását több mint négyszeresére növelte mindkét csontban. A változás a femurban volt intenzívebb (4,67±1,08) és nem sokkal csekélyebb a tibiában (4,07±0,95). Ugyanakkor a két csont mikrocirkulációs érellenállásának változásai között nem volt kimutatható statisztikailag szignifikáns különbség.

CGRP (relatív egységekben kifejezve)

Ez a neuropeptid mindkét csontban megnövelte az átlagos perifériás ellenállást, a tibiában kevésbé (1,28±0,2), a femurban erőteljesebben (1,48±0,34). A reakciók között itt sem volt igazolható statisztikailag szignifikáns eltérés.

SP (relatív egységekben kifejezve)

Ez a neuropeptid a tibiában átlagosan enyhén csökkentette (0,93±0,21), a femurban kissé növelte a (1,17±0,28) perifériás ellenállást, de a kettő közötti különbség statisztikailag itt sem volt szignifikáns.

NiNa (relatív egységekben kifejezve)

A nitroprusszid-nátirum az átlagos perifériás ellenállást kismértékben (0,89±0,09) csökkentette a tibiában és hasonlóképpen a femurban (0,85±0,04) is. Egyik különbség sem volt statisztikailag szignifikáns.

Ebrantil + Adrenalin (relatív egységekben kifejezve)

Ebrantil előzetes adagolásával az adrenalin erős áramláscsökkentő hatását ki lehetett védeni a tibián (1,54±0,26, ill. Ebrantil nélkül 4,07±0,95*, az eltérés szignifikáns, p = 0,026). A szerek kombinációja a femuron is szignifikáns különbséget eredményezett az adrenalin egyedüli alkalmazásához képest (1,65±0,28, ill. Ebrantil nélkül 4,67± 1,08*, p = 0,023). Ugyanakkor a két csont mikrovaszkuláris reakciói között itt sem volt statisztikailag szignifikáns eltérés.

A fenti adatokat a 2. táblázat tartalamazza és a 12. ábra szemlélteti.

2. táblázat

A perifériás mikrovaszkuláris ellenállás változásai az egyes vazoaktív szerek hatására az intakt femurban és tibiában (relatív egységekben, ± SEM)

*Nincs statisztikailag szignifikáns különbség a két mikrovaszkuláris terület érellenállása között, azonban az **Ebrantil** szignifikáns mértékben kivédte az **adrenalin** érellenállást növelő hatását (*, $p \leq 0,05$)*

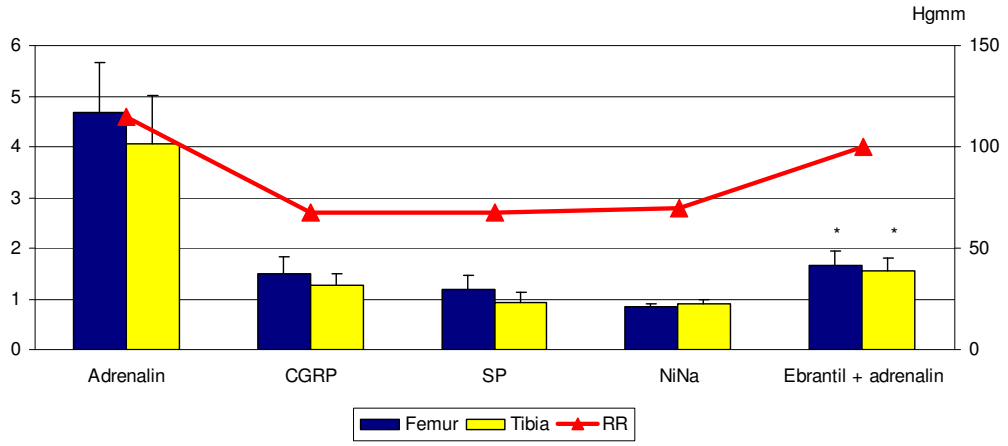
A szerek beadása előtti átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt.

: statisztikailag szignifikáns eltérés az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin perifériás mikrovaszkuláris ellenállásra gyakorolt hatásai között az intakt tibiában és femurban*

Csontvelő területek	Adrenalin	CGRP	SP	NiNa	Ebrantil + adrenalin
Tibia	4,07±0,95	1,28±0,21	0,93±0,21	0,89±0,09	1,54±0,26*
Femur	4,67±1,08	1,48±0,34	1,17±0,28	0,85±0,04	1,65±0,28*

12. ábra

Az egyes vazoaktív anyagok hatása a perifériás mikrovaszkuláris ellenállásra az intakt femurban és tibiában (relatív egységekben) és az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)



A tibia és a femur reakciói között nincs statisztikailag szignifikáns különbség, de az ***Ebrantil*** *szignifikáns mértékben kivédte az* ***adrenalin*** *hatását.*

RR: *az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)*

5.1.3. A véráramlás 50%-os visszatérési ideje az egyes vazoaktív anyagok alkalmazása után (másodpercben kifejezve, intakt femur és tibia esetében)

Adrenalin

Adrenalin adását követően az 50%-os véráramlási visszatérési idő az intakt tibiában 113,8±24,0 s, az intakt femurban pedig 93,3±11,7 s volt. A csontok reakciói között nem volt statisztikailag szignifikáns eltérés.

CGRP

CGRP hatására az áramlás 50%-os visszatérési ideje a tibián 118,6±23,92 s volt, míg a femuron 91,2±9,44 s. A két érték között nem volt statgisztikailag kimutatható szignifikáns eltérés.

SP

SP hatására a tibián az 50%-os véráramlási viszatérési idő 27,6±3,19 s volt, ugyanakkor a femuron pedig 23,1±3,25 s volt. A két érték között itt sem volt statisztikailag kimutatható szignifikáns eltérés.

NiNa

Nitroprusszid-nátrium esetében a tibia véráramlásának 50%-os ideje 66,8±15,5 s volt, a femurban 77,5±14,8 s. A két csontvelői terület reakciói között itt sem volt statisztikailag szignifikáns eltérés.

Ebrantil + adrenalin

Ebrantil előzetes adagolásával az adrenalin esetében mért 113±24,0 s 50%-os visszatérési idő a tibiában 54,0±4,75 s-ra csökkent, míg a femurban 93,3±11,7 s-ról 32,3±7,53 s-ra csökkent. A két csontvelői terület reakciói között itt sem volt statisztikailag szignifikáns eltérés, azonban az adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin viszonylatban igen.

A fenti adatokat a 3. táblázat foglalja össze és a 13. ábra szemlélteti.

3. táblázat

A vazoaktív anyagok hatása az intakt femur és tibia csontvelői véráramlásának 50%-os visszatérési idejére (sec, ± SEM)

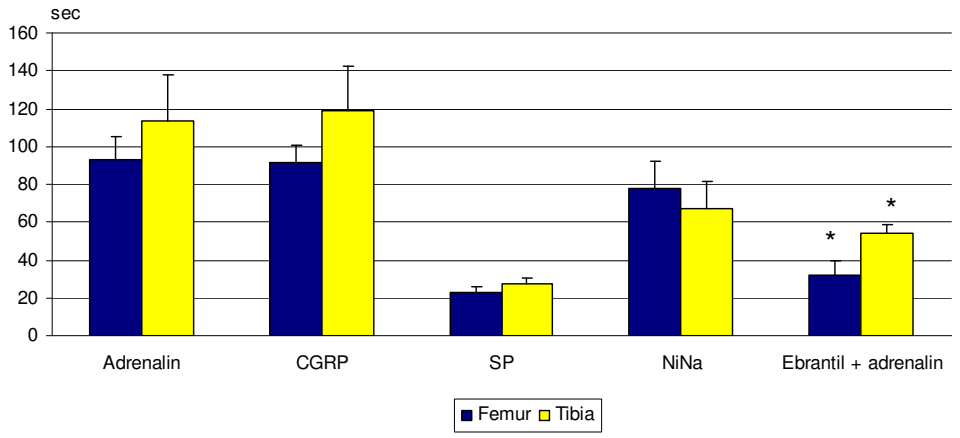
*Az előzetesen adagolt **Ebrantil** hatására az **adrenalin** 50%-os visszatérési ideje statisztikailag szignifikáns mértékben lerövidült. A két mikrovaszkuláris terület (intakt femur és tibia) reakciói között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség ($p \leq 0,05$). A szerek beadása előtti átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt.*

: statisztikailag szignifikáns eltérés az **adrenalinnak vs. Ebrantil + adrenalinnak a csontvelői véráramlás 50%-os visszatérési idejére gyakorolt hatásai között a tibiában és a femurban*

Csontvelő területek	Adrenalin	CGRP	SP	NiNa	Ebrantil + adrenalin
Tibia	113,8±24,0	118,6±23,92	27,6±3,19	66,8±15,5	54,0±4,75*
Femur	93,3±11,7	91,2±9,44	23,1±3,25	77,5±14,8	32,3±7,53*

13. ábra

A vazoaktív anyagok hatása az intakt femur és tibia csontvelői véráramlásának 50%-os visszatérési idejére (sec)



A két csontvelő mikrovaszkuláris reakciói között nincs szignifikáns különbség az 50%-os visszatérési idők tekintetében.

Statisztikailag szignifikáns eltérés mutatható ki az ***adrenalinnak vs. Ebrantil + adrenalinnak*** *a csontvelői véráramlás 50%-os visszatérési idejére gyakorolt hatásai között a tibiában és a femurban is.*

A 4. és 5. összefoglaló, áttekintő táblázat tartalmazza az intakt tibiára és femurra vonatkozó valamennyi fenti adatot. A statisztikailag szignifikáns eltéréseket * jelöli.

4. táblázat

Összefoglaló, áttekintő táblázat

Az alkalmazott vazoaktív anyagok hatása a *tibia* csontvelőjének maximális mikrovaszkuláris véráramlás-változására, az artériás középnyomás maximális változására, a mikrovaszkuláris perifériás ellenállásra és a mikrovaszkuláris véráramlás 50%-os visszatérési idejére (± SEM, $p \leq 0,05$)

: statisztikailag szignifikáns eltérés az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin véráramlásra, a perifériás mikrovaszkuláris ellenállásra és az áramlás 50%-os visszatérési idejére gyakorolt hatásai között a tibiában*

A szerek beadása előtti átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt.

TIBIA	**Adrenalin**	**CGRP**	**SP**	**NiNa**	**Ebrantil + adrenalin**
Áramlás változás (%)	48,9±6,99	70,9±6,81	67,1±11,4	76,2±3,82	74,0±17,71*
Artériás középnyomás (Hgmm)	114,6±4,8	73,6±2,41	65,8±3,15	69,9±1,82	108,1±3,42
Mikrovaszkuláris ellenállás (relatív érték)	4,07±0,95	1,28±0,21	0,93±0,21	0,89±0,09	1,54±0,26*
50% -os visszatérési idő (sec)	113,8±24,4	118,6±23,92	27,6±3,19	66,8±15,5	54,0±4,75*

5. táblázat

Összefoglaló, áttekintő táblázat

Az alkalmazott vazoaktív anyagok hatása a *femur* csontvelőjének maximális mikrovaszkuláris véráramlás-változására, az artériás középnyomás maximális változására, a mikrovaszkuláris perifériás ellenállásra és a mikrovaszkuláris véráramlás 50%-os visszatérési idejére (± SEM, $p \leq 0,05$)

: statisztikailag szignifikáns eltérés az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin véráramlásra, a perifériás mikrovaszkuláris ellenállásra és az áramlás 50%-os visszatérési idejére gyakorolt hatásai között a femurban*

A szerek beadása előtti átlagos artériás középnyomás 88,0±3,5 Hgmm volt.

FEMUR	**Adrenalin**	**CGRP**	**SP**	**NiNa**	**Ebrantil + adrenalin**
Áramlás változás (%)	38,7±5,31	60,6±6,49	66,1±5,32	92,1±18,3	70,5±10,78*
RR max (Hgmm)	114,6±4,8	73,6±2,41	65,8±3,15	69,9±1,82	108,1±3,42
Mikrovaszkuláris ellenállás	4,67±1,08	1,48±0,34	1,17±0,28	0,85±0,04	1,65±0,28*
50%-os visszatérési idő (sec)	93,3±11,7	91,2±9,44	23,1±3,25	77,5±14,8	32,3±7,53*

5.2 A rés-oszteotomiás modell mérési eredményei a 10. posztoperatív napon

A képződő kalluszban már a 10. posztoperatív napon volt mérhető alap véráramlás [0,14±0,016 (SEM) mV], amely az intakt tibia csontvelői véráramlásának [0,21±0,031 (SEM) mV)] 2/3-a volt 87,5±2,8 Hgmm átlagos artériás középnyomás mellett. CGRP és SP beadását követően a véráramlás változásai passzívan követték a vérnyomás változásait.

Azonban adrenalin ill. Ebrantil + adrenalin hatására már a 10. posztoperatív napon volt érellenállás-növekedés, természetesen vérnyomás-emelkedés mellett, amely reakciót részben sikerült az Ebrantillal kivédeni. Lásd a 6. táblázatot és a 14. ábrát.

6. táblázat

Az intakt femur csontvelőjében és a 10 napos kalluszban mért véráramlás-változások és az artériás középnyomás változásai az egyes vazoaktív anyagok hatására (% ill. Hgmm ± SEM)

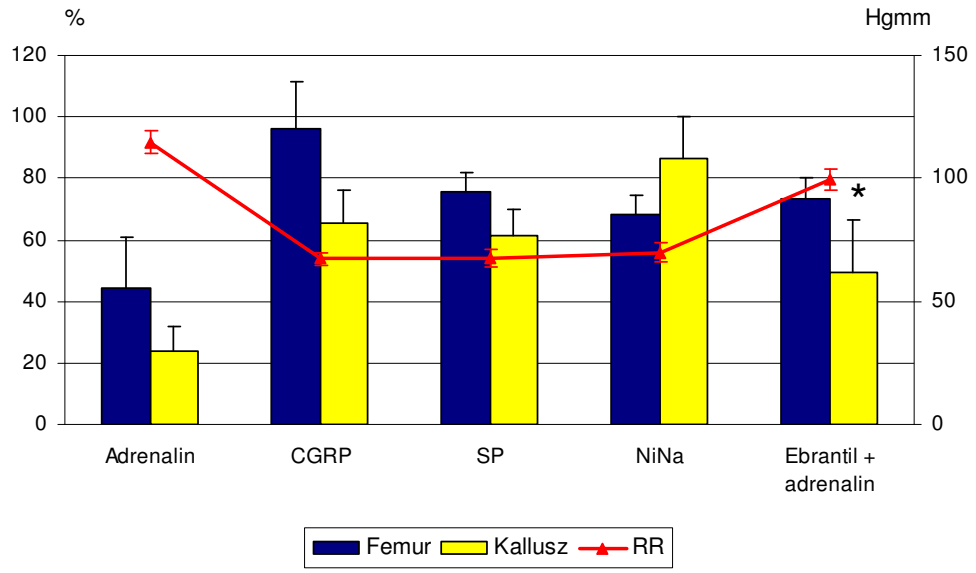
CGRP, SP *és* ***NiNa*** *hatására a véráramlás-változások passzívan követték az artériás középnyomás változásait a képződő kalluszban.* ***Adrenalin*** *hatására, a vérnyomásemelkedés ellenére, véráramlás-csökkenés következett be, mely* ***Ebrantil*** *adásával csökkenthető volt. A különbség statisztikailag szignifikáns ($p \leq 0,05$).*

****:*** *statisztikailag szignifikáns eltérés az* ***adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin*** *véráramlás-változásra gyakorolt hatásai között a 10 napos kalluszban*

Vazoaktív anyagok	Kallusz (%)	Femur (%)	Átlagos artériás középnyomás (Hgmm)
Adrenalin	23,77±7,8	44,25±16,81	114,7±4,5
CGRP	65,56±10,93	95,87±15,64	67,4±2,65
SP	61,55±8,6	75,57±6,18	67,63±3,81
NiNa	86,59±13,41	68,24±6,04	70,0±4,06
Ebrantil + adrenalin	49,42±17,1*	73,44±6,71	99,7±4,21

14. ábra

Az intakt femur csontvelőjében és a 10 napos kalluszban mért százalékos véráramlás-változások és az artériás középnyomás maximális változásai az egyes vazoaktív anyagok hatására (% ill. Hgmm)



*Az **adrenalin** okozta vérnyomásemelkedés ellenére, az azonos oldali femurhoz hasonlóan véráramlás-csökkenés következett be, mely **Ebrantil** adásával részben kivédhető volt. A különbség statisztikailag szignifikáns.*

*A szerek beadása előtti átlagos **artériás középnyomás** 87,5±2,8 Hgmm volt.*

***RR:** az artériás középnyomás maximális változásai (Hgmm)*

Adreanlin beadását követően a mikrovaszkuláris ellenállás relatív egységekben kifejezett értéke is kimutathatóan megnövekedett a 10. posztoperatív napon, amely hatás Ebrantillal statisztikailag szignifikáns mértékben csökkenthető volt. Lásd a 7. táblázatot és 15. ábrát.

7. táblázat

Az intakt femur csontvelőjében és a 10 napos kalluszban mért mikrovaszkuláris ellenállás-változások és az artériás középnyomás változásai az egyes vazoaktív anyagok hatására (relatív érték ill. Hgmm ± SEM)

Adrenalin *hatására a vérnyomásemelkedés mellett mikrovaszkuláris ellenállás-növekedés következett be, mely* ***Ebrantil*** *adásával statisztikailag szignifikáns mértékben csökkenthető volt mind a kalluszban, mind az intakt femur csontvelőjében ($p \leq 0,05$).*

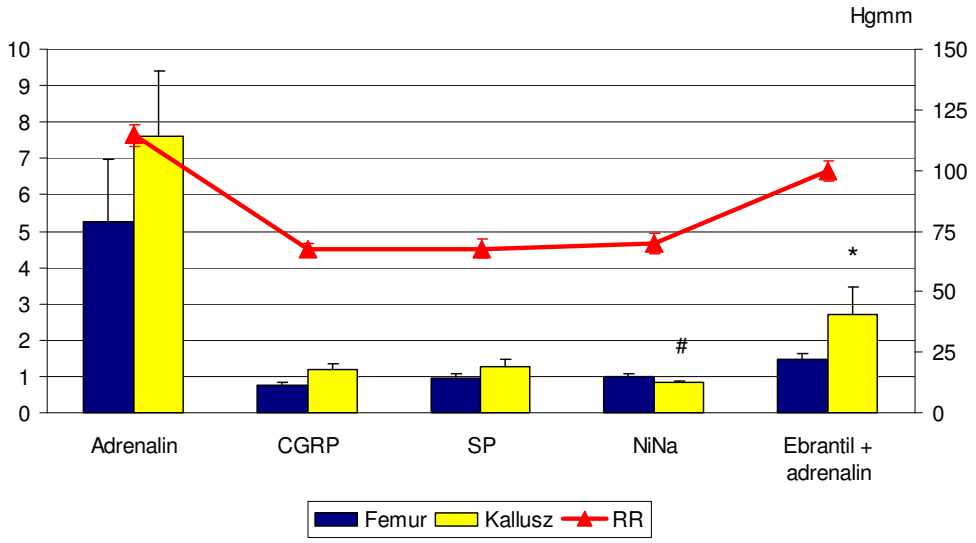
****:*** *statisztikailag szignifikáns eltérés az* ***adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin*** *adagolásának a mikrovaszkuláris ellenállásra gyakorolt hatásai között a 10 napos kalluszban*

#: NiNa *hatására statisztikailag szignifikáns különbség jött létre a femur és a 10 napos kallusz mikrovaszkuláris rezisztencia-értékei között*

Vazoaktív anyagok	Kallusz (relatív érték)	Femur (relatív érték)	Átlagos artériás középnyomás (Hgmm)
Adrenalin	7,61±1,85	5,27±1,67	114,7±4,5
CGRP	1,19±0,15	0,76±0,08	67,4±2,65
SP	1,26±0,21	0,96±0,12	67,63±3,81
NiNa	0,83±0,06#	0,98±0,08	70,0±4,06
Ebrantil + adrenalin	2,71±0,77*	1,49±0,13	99,7±4,21

15. ábra

Az intakt azonos oldali femur csontvelőjében és a 10 napos kalluszban mért mikrovaszkuláris ellenállás-változások és az artériás középnyomás maximális változásai az adrenalin és Ebrantil + adrenalin hatására (relatív egységekben)



Adrenalin *hatására a vérnyomásemelkedés mellett mikrovaszkuláris ellenállás-növekedés következett be, mely* ***Ebrantil*** *adásával statisztikailag szignifikáns mértékben csökkenthető volt mind a kalluszban, mind az intakt femur csontvelőjében.*

NiNa *hatására statisztikailag szignifikáns különbség jött létre a femur és a 10 napos kallusz mikrovaszkuláris rezisztencia-értékei között*

A szerek beadása előtti átlagos ***artériás középnyomás*** *87,5±2,8 Hgmm volt.*

RR: *az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)*

Az átlagos 50%-os visszatérési idő valamennyi szer beadását követően hosszabb volt a 10 napos kalluszban, mint a femurban, de adrenalin hatására a különbség statisztikailag szignifikáns mértékű volt. Lásd a 8. táblázatot és a 16. ábrát.

8. táblázat

A vazoaktív anyagok hatása az 50%-os visszatérési időre a 10 napos kalluszban és az azonos oldali intakt femurban (sec ill. ± SEM)

*A **NiNa** esetében az 50%-os visszatérési idő a 10 napos kalluszban statisztikailag szignifikáns mértékben rövidebb volt, mint a femurban ($p \leq 0,05$), **adrenalin** esetében pedig ugyancsak szignifikáns mértékben hosszabb.*

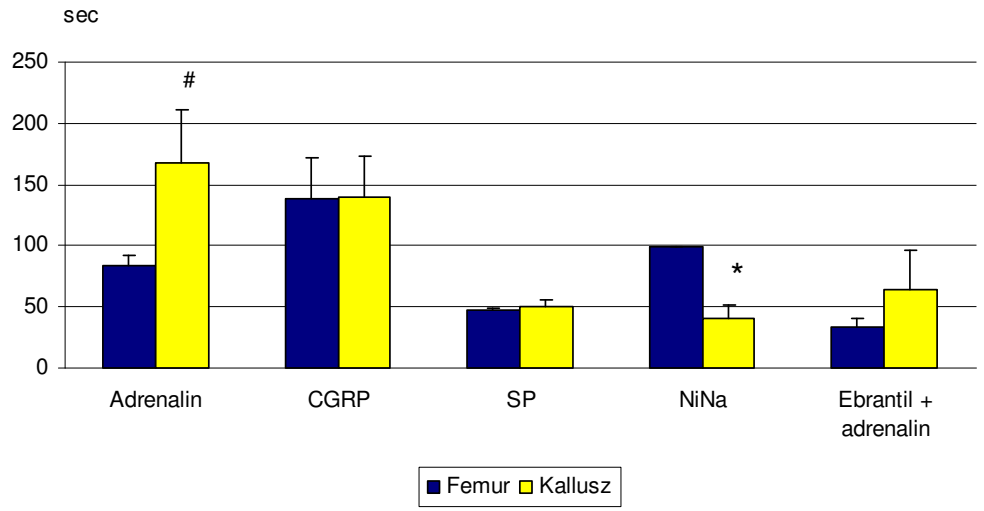
***:** statisztikailag szignifikáns mértékben rövidebb a **NiNa** beadását követő 50%-os visszatérési idő a 10 napos kalluszban, mint a femurban*

*#: statisztikailag szignifikáns mértékben hosszabb az **adrenalin** beadását követő 50%-os visszatérési idő a 10 napos kalluszban, mint a femurban*

Vazoaktív anyagok	Kallusz	Femur	Átlagos artériás középnyomás (Hgmm)
Adrenalin	167,3±44,6#	83,8±8,67	114,7±4,5
CGRP	140,3±33,28	137,8±33,9	67,4±2,65
SP	50,2±6,87	47,8±0,88	67,63±3,81
NiNa	40,0±11,53*	98,7±0,31	70,0±4,06
Ebrantil + adrenalin	64,5±23,5	34,0±7,0	99,7±4,21

16. ábra

Az adrenalin és az Ebrantil + adrenalin hatása az 50%-os visszatérési időre a 10 napos kalluszban és az azonos oldali intakt femurban



*Az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** hatása között statisztikailag szignifikáns eltérés volt kimutatható a 10 napos kalluszban (*, $p \leq 0,05$)*

5.3. A rés-oszteotomiás modell mérési eredményei a 15. posztoperatív napon - az egyes anyagokra adott mikrovaszkuláris válaszreakciók

5.3.1. A mikrovaszkuláris véráramlási sebesség változása

Szignifikánsan magasabb alap véráramlási értéket (mV) kaptunk a kalluszban a 15. napon, mint a 10.-en [10. nap: 0,14±0,016 (SEM) mV és 15. nap: 0,24±0,033 (SEM) mV*, p= 0,012], és ez az alapáramlás 1,7-szeres növekedését jelentette. Lásd a 9. táblázatot és a 17. ábrát.

9. táblázat

Az átlagos alap véráramlási értékek összehasonlítása az intakt tibiában, a kalluszban és a femurban a 10. és a 15. poszoperatív napon, a feltüntetett átlagos artériás középnyomásérték mellett (mV ill. Hgmm ± SEM)

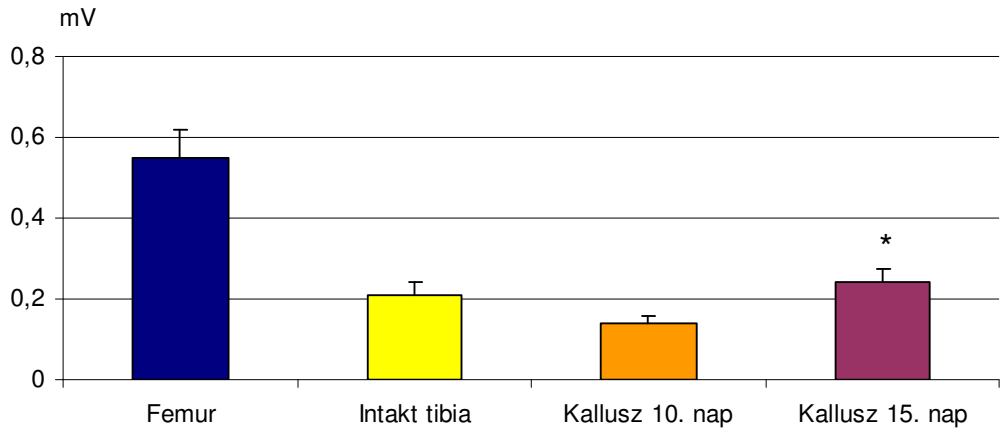
A szerek beadását megelőzően, a 15. posztoperatív napon a kalluszban mért alap véráramlási sebességet reprezentáló mV értékek statisztikailag szignifikánsan nagyobbak, mint a 10. napon (, $p \leq 0,05$). Az átlagos artériás középnyomás-értékek (Hgmm) mind a négy esetben statisztikailag azonosak voltak. Az* ***intakt tibia*** *alap véráramlási sebességének már* ***2/3-a visszatér a 10. posztoperatív napra****, az áramlási sebesség a 15. posztoperatív napon pedig meghaladja az intakt tibiában mért értéket.*

:** statisztikailag szignifikáns eltérés a* ***10 napos és a 15 napos kallusz *véráramlási sebességei között*

A vizsgált mikrovaszkuláris terület	Átlagos alap véráramlási sebesség (mV ± SEM)	Az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm ± SEM)
Femur	0,55±0,072	87,9±2,16
Intakt tibia	0,21±0,031	88±3,5
Kallusz a 10. nap	0,14±0,016	87,5±2,8
Kallusz a 15. nap	0,24±0,033*	88,6±2,95

17. ábra

Az átlagos alap véráramlási értékek összehasonlító diagramja a femurban az intakt tibiában, és a kalluszban a 10. és a 15. posztoperatív napon



*Statisztikailag szignifikáns eltérés bizonyítható a kallusz véráramlási sebességében a **10. és a 15. posztoperatív napokon** mért értékek között (*, $p \leq 0,05$).*

Minden adatot a szer beadása előtti alapértékhez viszonyítva adtunk meg és az alapértéket 100%-nak tekintettük. Az alapértékhez (100%) képest bekövetkezett mikrovaszkuláris véráramlási adatokat a 10. táblázat foglalja össze és a 18. ábra szemlélteti.

10. táblázat

Az artériás középnyomás és a mikrovaszkuláris véráramlási sebesség relatív változásai az alkalmazott vazoaktív anyagok hatására a kalluszban és az intakt femurban a 15. posztoperatív napon, a kiindulási 100%-os értékhez viszonyítva (Hgmm ill. % ± SEM)

*A **CGRP és az SP** és statisztikailag szignifikáns eltéréseket okozott a kallusz mikrovaszkuláris áramlási sebességében a femurhoz képest (*, $p \leq 0,05$), ill. az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** a kalluszban (#, $p \leq 0,05$),*

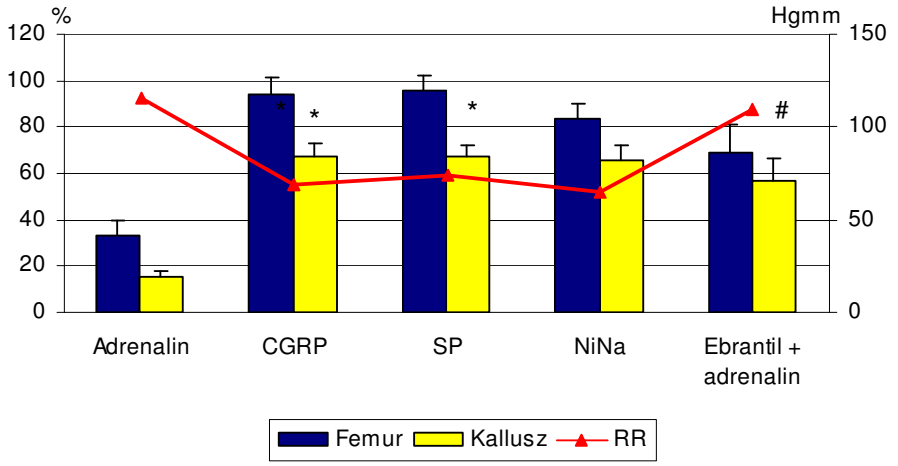
: statisztikailag szignifikáns eltérés a kallusz **CGRP és SP hatására bekövetkezett mikrovaszkuláris véráramlási sebességeiben a femurhoz képest*

*#: statisztikailag szignifikáns eltérés a kalluszban az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** által kiváltott reakciók között*

Vazoaktív anyagok	Kallusz (%)	Femur (%)	Az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm ± SEM)
Adrenalin	15,76±1,89	32,95±16.69	115,1±2,4
CGRP	67,16±6,1*	94,1±6,89	69,2±3,1
SP	67,49±4,69*	95,3±7,22	74,3±2,3
NiNa	66,06±6,01	83,84±6,24	64,4±3,2
Ebrantil + adrenalin	56,54±9,87#	68,79±12,2	99,4±1,95

18. ábra

Az artériás középnyomás és a mikrovaszkuláris véráramlási sebesség relatív változásai a 15 napos kalluszban és az intakt femurban a 15. posztoperatív napon az alkalmazott vazoaktív anyagok hatására (Hgmm ill. %-os változás)



*A **CGRP és az SP** és statisztikailag szignifikáns eltéréseket okozott a kallusz mikrovaszkuláris áramlási sebességében a femurhoz képest. ($p \leq 0,05$)*
*Statisztikailag szignifikáns eltérés igazolódott a kalluszban az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** által kiváltott reakciók között ($p \leq 0,05$)*
***RR:** az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)*

5.3.2. Perifériás mikrovaszkuláris ellenállás

Adrenalin hatására a kalluszban mért átlagos rezisztencia nem szignifikáns mértékben ugyan, de magasabb volt, mint a femurban. A CGRP és az SP alkalmazása szignifikáns különbséget eredményezett a femurhoz, mint referenciaponthoz képest. Ugyanakkor szignifikánsan kisebb volt a kallusz érellenállása Ebrantil+adrenalin adagolását követően, mint az adrenalin önmagában való alkalmazásakor. Az eredményeket a 11. táblázat foglalja össze és a 19. ábra demonstrálja.

11. táblázat

A perifériás mikrovaszkuláris ellenállás relatív változásai a 15. posztoperatív napon a kalluszban és az azonosoldali, intakt femurban az egyes szerek beadása után (relatív egységekben, ill. Hgmm, ± SEM)

*A **CGRP és az SP**, ill. az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** statisztikailag szignifikáns különbséget okozott a perifériás mikrovaszkuláris ellenállásban (*, #, $p \leq 0,05$)*

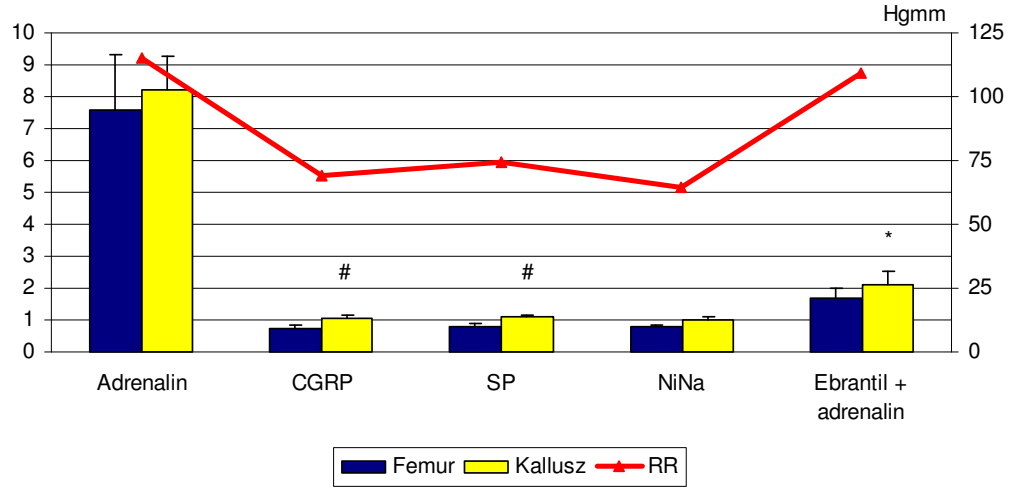
: az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin okozta statisztikailag szignifikáns eltérés a mikrovaszkuláris ellenállások tekintetében, a kalluszban*

*#: **CGRP és SP** hatására statisztikailag szignifikáns eltérés jött létre a femur és a kallusz között*

Vazoaktív anaygok	Kallusz (relatív egységek)	Femur (relatív egységek)	Az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm ± SEM)
Adrenalin	8,23 ± 1,05	7,57 ± 1,73	115,1±2,4
CGRP	1,07 ± 0,08#	0,76 ± 0,06	69,2±3,1
SP	1,08 ± 0,08#	0,81 ± 0,06	74,3±2,3
NiNa	0,99 ± 0,11	0,78 ± 0,05	64,4±3,2
Ebrantil + Adrenalin	2,09 ± 0,44*	1,7 ± 0,31	99,4±1,95

19. ábra

A perifériás mikrovaszkuláris ellenállás relatív változásai a 15. posztoperatív napon a kalluszban és az azonosoldali, intakt femurban az egyes szerek beadása után (relatív egységekben ill. Hgmm-ben)



*A **CGRP és az SP**, ill. **az adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** statisztikailag szignifikáns különbséget okozott a perifériás mikrovaszkuláris ellenállásban ($p \leq 0,05$)*

***RR:** az artériás középnyomás maximális változása (Hgmm)*

5.3.3. Az 50%-os visszatérési idő

Adrenalin adagolását követően az 50%-os visszatérési idő a kalluszban szignifikáns mértékben hosszabb volt. Ebrantil+adrenalin bevitele után az 50%-os visszatérési idő szignifikánsan rövidebb volt, mint az adrenalin egyedüli alkalmazása után. A NiNa beadását követően is szignifikánsan rövidebb volt az 50%-os visszatérési idő a kalluszban, mint a femurban. Lásd a 12. táblázatot és a 20. ábrát.

12. táblázat

A kallusz és a femur 50%-os visszatérési ideje a vizsgált anyagok beadása után a 15. posztoperatív napon (sec ill. Hgmm, ± SEM)

Adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin *és* ***NiNa*** *adagolása az 50%-os visszatérési időkben statisztikailag szignifikáns eltérést okozott a kalluszban a 15. posztoperatív napon (*, #, p ≤0,05)*

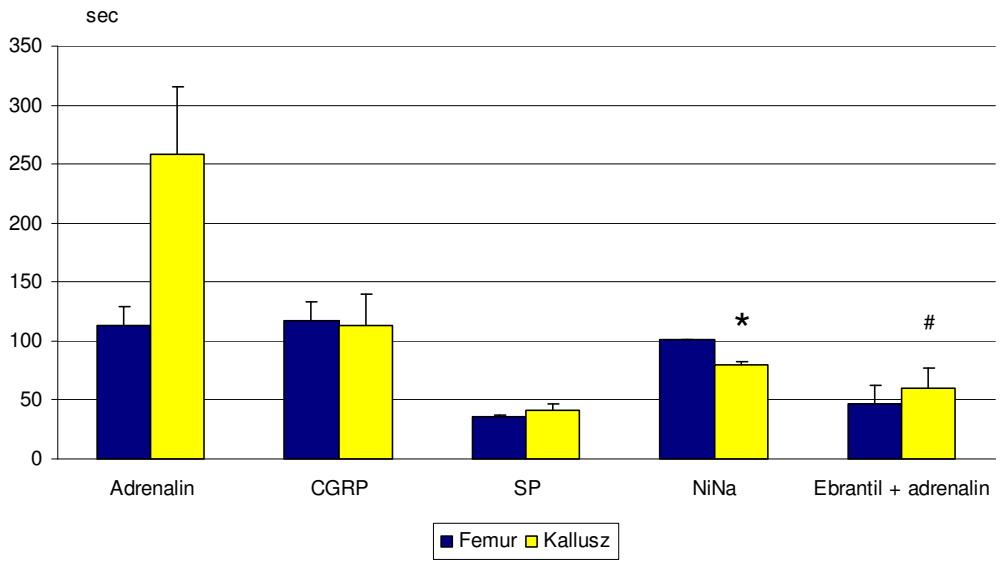
: a* ***NiNa* *statisztikailag szignifikáns eltérést okozott a femur és a kallusz 50%-os visszatérési ideje között*

#: az ***adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin*** *statisztikailag szignifikáns eltérést okozott a kallusz 50%-os visszatérési idejében*

Vazoaktív anyagok	Kallusz (sec)	Femur (sec)	Átlagos artériás középnyomás (Hgmm, ± SEM)
Adrenalin	257,9±57,7	112,6±17,04	115,1±2,4
CGRP	113,0±26,88	116,9±16,47	69,2±3,1
SP	41,0±4,94	36,4±0,79	74,3±2,3
NiNa	80,0±2,08*	100,5±0,19	64,4±3,2
Ebrantil + adrenalin	59,3±18,23#	46,33±16,01	99,4±1,95

20. ábra

A kallusz és a femur 50%-os visszatérési ideje (sec) a vizsgált anyagok beadása után a 15. posztoperatív napon



*Az **adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin** és **nitroprusszid-nátrium** adagolása az 50%-os visszatérési időkben statisztikailag szignifikáns különbséget okozott a kalluszban a 15. posztoperatív napon.*

6. Megbeszélés

6.1. Anatómiai áttekintés

A hosszú csöves csontok vérellátása az utóbbi néhány évtizedben vált vizsgálatok és kísérletek tárgyává. Dinamikusan fejlődnek azok vizsgálati módszerek, amelyek révén az érdeklődés előterébe került mikrocikuláció és annak szabályozása is jól vizsgálható. Az ilyen típusú kísérletek egyik első átfogó elemzése és áttekintése Tondevold nevéhez fűződik (Tondevold 1983).

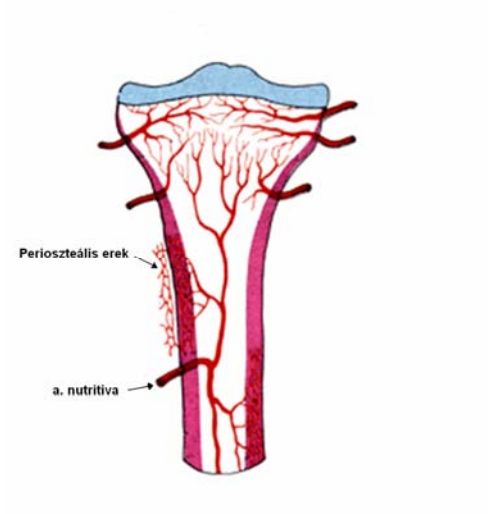
A csöves csontokat olyan fiziológiai egységnek kell tekinteni, amely különféle típusú, funkciójú és eltérő élettani igényű szövetekből áll. Axiómának tekinthető, hogy a csont anyagcseréjéhez megfelelő mennyiségű vérre és ép vérellátásra van szükség. Funkcionális szempontból a csont vérellátsának 6 fő forrását különböztethetjük meg (Glowacki 1998):

1. proximális epifizeális artériák
2. proximális metafizeális artériák
3. a diafizeális a. nutritiva-k különállóan vagy párokban
4. disztális metafizeális artériák
5. disztális epifizeális artériák
6. a perioszteális artériák.

A csontba belépő a. nutritiva a csontba való belépése után hamarosan felszálló és leszálló ágakra oszlik a velőűrben (Brookes 1965), és ezek az ágak biztosítják a diafízis kortikálisának vérellátását. Lásd a 21. ábrát.

21. ábra

Hosszú csöves csont proximális metfízisének vérellátása vázlatosan



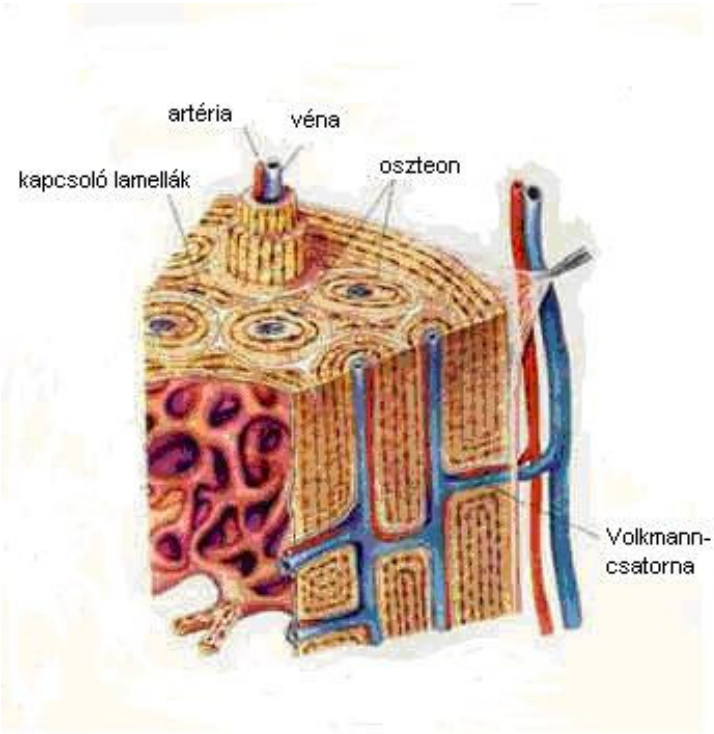
Az a. nutritiva és a perioszteális artériák elhelyezkedése és oszlása

(Forrás: Internet, Wikipedia)

Intravitális mikroszkópos eljárással kimutatták, hogy ezek az artériák alkotják a szinuszoidokat is. Fontos tudnunk, hogy a csonton belül regionális eltérések észlelhetők az érstruktúra vonatkozásában, és a csontvelő hemopoetikus aktivitása igen nagymértékben befolyásolja a kapillárisok számát a csontvelőben. Vannak olyan érágak is, amelyek kilépnek a csontvelőből, és a haránt lefutású Volkmann-, ill. a csont hossztengelyével párhuzamosan futó Havers-csatornákon át belépnek a kortikális endoszteális felszínére, majd visszatérnek a csontvelő venuláiba. Lásd a 22. ábrát.

22. ábra

A Volkmann-csatornák elhelyezkedése



A Volkmann-csatornák erei, az endoszteális érhálózat szerkezete

(Forrás: Internet, Wikipedia)

A vénás elvezetés radier irányban történik (Brinker 1990). A vénák meglehetősen nagy számban vannak jelen a metafízis és a diafízis szöveteiben, de a diafízis vénái sokkal nagyobb átmérőjűek és egy centrális szinuszt hoznak létre, amelynek vénás elfolyását a v. nutritiva biztosítja. Megmérték a vénás és az artériás rendszer ereinek össz-átmérőjét és azt találták, hogy a vénás rendszer 30-szor (!) nagyobb átmérőjű, mint az artériás (Wilkes 1975, Tondevold 1983, Brinker 1990).

A csont növekedése folyamán a metafizeális és a diafizeális erek fuzionálnak egymással, közös hálózatot alkotnak. Még mindig nyitott a kérdés, hogy vannak-e a csontban nyirokerek, több szerző kutatásai sem adtak egyértelmű választ.

6.2. Élettani áttekintés

A csontok idegi hálózata igen gazdag és az eddigi kutatások alapján minden bizonnyal részt vesznek a csont perfúziójának szabályozásában. Már 1846-ban megfigyelték (Gross 1846, lásd Hedberg, 1995, DOI 10.1007/BF00184749) és 1902-ben igazolták (Ottolenghi 1902, lásd Herskovits, 2005, DOI 10.1002/ca.980040208) a milelinhüvellyel rendelkező és mielinhüvely nélküli idegrostok jelenlétét mind a kortikális csontállományban, mind a csontvelő szövetében. Tondevold 1983-ban kiadott munkájában hivatkozik rájuk, de ezek az irodalmi források érthető okokból ma már eredeti formájukban nem hozzáférhetők. Egy másik kutatócsoport hisztológiai módszerekkel igazolta noradrenerg és kolinerg idegek jelenlétét a csontban lévő erek falában (Thurston 1982). A fenti megfigyelések ellenére sem volt tisztázott, hogy ezen idegi struktúrák milyen mértékben járulnak hozzá a lokális vazomotoros reakciókhoz és a csont vérkeringésének szabályozásához (Turchányi 2002).

Nyilvánvaló, hogy ezen idegek szelektív ingerlése nem lehetséges, azaz minden olyan kísérlet során, amelyekben idegingerlést végeztek, a kevert funkciójú szomatikus idegek ingerlésekor együttesen ingerelték a különböző vegetatív és muszkuláris rostokat is. Azt is bizonyították (Tondevold 1983), hogy adrenalin vagy noradrenalin infúziójával csökkenthető az intraosszeális nyomás. További lényeges megfigyelés, hogy- kutyákon végzett kísérletsorozat alapján- az a. femoralis lefogása után csökken az intraosszeális nyomás, de a n. ischiadicus ingerlésének hatására azonnal növekedni kezd, melynek oka valószínűleg a vénás elvezetési hálózat rezisztenciájának megnövekedése. A fentiek alapján következtethető, hogy a csontokban biztosan jelen

vannak idegi struktúrák és hogy a megnövekedett szimpatikus idegi hatás csökkenti a csont vérátáramlását, továbbá, hogy a centrális artériás vérnyomás csökkenése is ilyen irányban hat.

A csont vérellátását a fenti rendszerek biztosítják. Az a. nutritiva lekötését követően az intraosszeális nyomás átmenetileg jelentősen csökken, ám a vizsgált csontok 50%-ában az intraosszeális nyomás 3 órán belül visszaállt az eredeti értékre. Ez azt jelenti, hogy a csont, legalábbis a makrocirkuláció szintjén, egy funkcionális egységként viselkedik. Ezek a tanulmányok bizonyítják, hogy a csöves csontok esetében a csontot, mint funkcionális egységet egy olyan „több bemenetes" és „több kimenetes" rendszerként kell szemlélnünk (Overbeck 1970, Tondevold 1983), amelyben a fő vérellátó csatornának igen fontos szerepe van, és ennek keringészavara átmeneti hemodinamikai változásokat okozhat a csont vérellátásában (Turchányi 2005).

McDonald (1994) nyúl tibiákon végzett kísérletei alapján elemzi a vérkeringés hatását a csont fizikai megterhelésére (behelyzett nyársak melletti kompresszióra és disztrakcióra) bekövetkezett alakváltozásait. Megállapítja, hogy teljes perfúziós nyomás fennállásakor-adott erő hatására-a csont kevésbe deformálódik, mint lecsökkentett véráramlás esetében.

Iversen a csontvelő véráramlás-szabályozásának vizsgálatakor az alábbi faktorok szerepét emelte ki (Iversen 1997).

1. Lokális tényezők

A megfigyelés, miszerint fokozott vörösvértest-termeléskor a csontvelőben hiperémia figyelhető meg, azt sugallja, hogy az **eritropoietinnek** szerepe lehet a csontvelő mikrovaszkuláris rezisztenciájának szabályozásában. Direkt hatást fejthet ki a vaszkuláris siamizomsejtekre, ill. indirekt hatást a vaszkuláris endotéliumon keresztül. Jóllehet, a mai napig sincs egyértelmű kísérletes bizonyíték arra, hogy az eritropoietinnek értágító hatása lenne. Ugyanakkor tudjuk, hogy az eritropoietin vazodilatátor anyagok szintézisét ill. felszabadulását indukálja az endotél sejtekből, a strómából és a vérképző rendszer sejtjeiből, a NOS indukálható formáján keresztül, a NO a citokinek révén, az interleukin-1, az interferon-γ és a TNF-α vonalon (Iversen, 1997). Ebben a folyamatban legnagyobb valószínűség szerint a nitrogénmonoxid játszik fontos szerepet.

Többszörösen bizonyították (pl. Fleming 2001), hogy a vaszkuláris endotélium sejtjei képesek értágító és vazokonstriktor anyagok szintézisére is. A vaszkuláris simaizomsejtekben lévő **nitrogénmonoxid-szintetáz** működését citokinek (szintén az interleukin-1, interferon-γ és a TNF-α) serkentik (Iversen 1997). A nitrogénmonoxid-szintézis gátlásával a csontvelő véráramlásának igen jelentős csökkenését lehet elérni. Súlyosfokú hipovolémia lokális vazokonstrikciót okoz különböző szervekben. Ezt a reakciót főként a szimpatikus vazomotoros aktiváció során keletkező **noradrenalin** mediálja, melynek hatása a csontban/csontvelőben ellentmondásos: egyrészt a csontvelő mikrovaszkuláris rezisztenciájának növelésével hozzájárul a teljes szervezet artériás vérnyomásának fenntartásához, de ugyanakkor a csontvelő véráramlásának csökkentésével gátolja a vörösvértestek és a trombociták csontvelőből való kiáramlását. Az, hogy az adrenerg agonisták vazokonstrikciót vagy vazodilatációt okoznak, erősen függ azok koncentrációjától és az α- ill. β- adrenerg receptorok egymáshoz való mennyiségi viszonyától a csontvelő szövetében.

2. Neuronális vazomotor aktivitás

A csontvelő érrendszerének idegi hálózata igen gazdag. Sem a szimpatikus vazomotoros denerváció, sem a kémiai denerváció nincs hatással a csontvelő véráramlására, sőt a csontvelő anyagcseréjét és a sejtek termelődését sem befolyásolta. Inert gáz izotóppal (Xe) mérve a szimpatikus vazomotor rostok közvetlen ingerlése (egerekben) nem okozott a tibia csontvelőjében véráramlásváltozást, de ugyanakkor egyidejűleg jelentős vazokonstrikció jött létre ugyanazon végtag vázizomzatában és bőrében (Iversen 1997).

6.3. A vérellátás mérésének módszerei a csöves csontokban

A csonton ill. annak egyes területein (periosztеum, endoszteum, csontvelő) történő véráramlás-mérésre számos módszer ismeretes. A mérési elv és módszer alapján több csoportot különböztetünk meg, melyek közül a fontosabbak:

-a vénás kifolyás közvetlen mérése (Cumming 1962)

- az artériás befolyás mérése ultrahangos vagy elektromágneses úton (Dunlap 1997, Banis 2005)
- egyes vérkeringésbe juttatott anyagok szöveti koncentrációjának mérése az idő függvényében (a vér alkotóelemeinek izotópokkal történő megjelölése után az akkumuláció, vagy a kiürülés mérése, pl. hidrogén vagy xenon clearance alapján)
- intravitális mikroszkópos eljárás (Hansen-Algenstaedt 2006)
- dinamikus áramlásmérés fűthető termoszonda segítségével.

A maguk ismert korlátait figyelembe véve mindegyik jól használható lehet, de az adott vizsgálathoz a megfelelő módszert kell kiválasztanunk annak alapján, hogy milyen változókat kívánunk nyomon követni. Minden szempontból tökéletesnek tehát egyik módszer sem tekinhető.

A csont vérellátásának vizsgálatára szolgáló ideális módszernek – véleményünk szerint, Dunlap ajánlása alapján (Dunlap 1997) - a következő igényeket kellene kielégítenie:

1. non-invazivitás (a lehetőségekhez képest)
2. a vérellátásban szerepet játszó valamennyi érstruktúra vérátáramlásának egyidejű mérése
3. annak felmérése, hogy az adott érstruktúrák közül melyiknek milyen szerep jut a csont vérellátásában az összes többi érstruktúra által biztosított vérmennyiség szállításában (százalékosan)
4. az áramlás közvetlen és dinamikus mérésének lehetősége
5. legyen kompatibilis más véráramlás-mérő rendszerekkel
6. heteken, vagy akár hónapokon át legyen alkalmas a véráramlás mérésére
7. használata egyszerű és reprodukálható legyen.

A véráramlás mérésére tett kísérletek közül az egyik első módszer a **hőérzékelés** elvén alapult, melyet már több mint 70 évvel ezelőtt is használtak, elsősorban a végtag-isémia követésére (Chambers 1992) és az izom perfúziójának detektálására kísérletes körülmények között (Kiyoyuki Shichino 1991). Ennek elvi alapját a véráramlás által kiváltott hiperémia és a következményes hőmérsékletemelkedés adta (Greehalg 1989), melyet a fűtőszondáról és a detektorszondáról nyert értékek különbsége alapján értékeltek. Nem volt igazán jól használható, mivel a mérőszonda behelyezése

aránytalanul nagy sebészi feltárást igényelt, és a sebészi beavatkozás önmagában is jelentős hiperémiát képes létrehozni, ami természetesen zavarja a valódi áramlásváltozások által indukált jeleket és a keringés fiziológiás eloszlását megváltoztathatja. Ugyanakkor más szerzők agyi aneurizmán végzett méréseikkel hasznosnak és jól értékelhetőnek találták a módszert (Munchi 1993).

Dunlap és mtsai. kutyákban végzett kísérleteik alapján leírják az a. nutritiva fölé in vivo behelyezett véráramlás-mérő **ultrahangos** mérőfejek behelyezésével nyert tapasztalataikat (Leidig 1987, Gilson 1988, Loupas 1995, Hussain 1997). Megállapítják, hogy ezen módszerrel pontos mérési eredményekhez juthatunk a tápláló artériák monitorozása révén. Ugyanakkor a módszer pontossága erősen függ a vizsgált ér átmérőjétől, ámbár kisátmérőjű artériák esetében is jó eredményt ad, főként a kétdimenziós szélessávú technika alkalmazása révén. Előnye még, hogy egyszerűen használható és használatával pontos eredmények nyerhetők, továbbá az érátmérő tekintetében is igen széles skálán használható. Hosszan tartó (permanens) beültetésre és monitorozásra is alkalmas, és ilyen szempontból jobb, mint a hasonló célra alkalmazott egyéb módszerek. Maguk a szerzők is megemlítik a módszer hátrányát, miszerint kizárólag az a. nutritiva szerepe vizsgálható és mérhető, ami természetesen nem ad teljes körű információt a csont egészének vérellátására vonatkozóan, azaz nem a szöveti véráramlást méri, hanem csak az egyetlen artériáét. Ezen túlmenően ezen módszrenek is, mint minden közvetlen véráramlásmérő módszernek igen nagy hátránya, hogy csak aránytalanul nagy sebészi feltárásból végezhető el a mérés. Ez természetesen a lágyrészek károsodásával, de legfőképp érsérüléssel járhat, ami erősen befolyásolja az adott terület mikrocirkulációját.

Ezzel a módszerrel kizárólag az a. nutritiva által biztosított vérellátás mérhető (az is csak bizonyos kompromisszumok árán). Ugyanis számos, kisméretű ér is hozzájárul az adott csont vérellátásához a metafizeális és epifizeális, ill. perioszteális vérellátéási rendszer révén. Ezen rendszerek által létrehozott vérellátást nem lehet a fenti, ultrahang-szondákat alkalmazó módszerrel kiszűrni. Ugyanakkor a szerzők tapasztalata alapján a módszer–korlátai ellenére-jól kombinálható egyéb véráramlásmérő módszerekkel, de erre vonatkozó, minden kétséget kizáróan bizonyító erejű irodalmi hivatkozás nem található.

Egy kutatócsoport olyan izotópokkal végzett igen változó és bizonytalan eredményekkel méréseket, amelyek kifejezetten a csontszövethez kötődnek (Sun Shik Shim, 1967). A Ca 45 izotóp jól használhatónak tűnne, de bonyolultsága miatt (pl. perctérfogat meghatározása, az artériás és a vénás vér oxigén-koncentrációjának folyamatos mérése és az ezek alapján elvégzett matematikai számítások) nem terjedt el és más területeken is csak igen speciális esetekben használható.

Más szerzők 125 jódantipirinnel, ^{133}Xe-nal és hidrogénnel (Yoshio Mishima 1979) végzett **kimosási méréseket** elemeztek. Valamennyi ilyen típusú módszer lényege az, hogy az előbb említett szerek közül az egyik izotópot bejuttatják a szervezetbe és a mérési hely felett (külsőleg) észlelt radioaktivitást regisztrálják, amely megfelel az adott izotóp vérkeringés általi kiürülésének, tehát a szöveti koncentráció mérésére alkalmasabbak (Sun Shik Shim 1967, Henry, 1970.Gosselin 1971, Bjerre-Jepsen 2008). Ezek a módszerek sem ideálisak, mivel igen invazívak és nagy sebészi feltárást igényelnek azon a területen, ahol a méréseket kell elvégezni. A sebészi feltárás által kiváltott szöveti reakció és inhomogenitás, továbbá az izotóp különböző affinitású kötődése a jelenlévő különféle szöveti komponensekhez megnehezíti az ilyen módszerrel nyert eredmények értékelését. Tonnesen és mtsai. (Tonnesen, 2005.) az agyi perfúzió vizsgálata alapján hasonlították össze a ^{133}Xe módszert a lézer-Doppler áramlásméréssel. Megállapították, hogy a lézer-Doppler technika még kontrollált hipovolémia esetében is leglább olyan pontos eredményeket szolgáltat az agyi véráramlásról, mint a ^{133}Xe módszer, sőt, alacsonyabb áramlástartományban még megbízhatóbb is. Más szerzők viszont kimutatták, hogy szimpatektomizált borjúvégtagban lézer-Doppler módszerrel a ^{133}Xe kimosás technikával nyert eredmények nem összehasonlíthatók (Kastrup 2008), azaz a szimultán végzett mérések eredményei egymástól statisztikailag szignifikáns mértékben eltértek. Egy másik munkacsoport viszont jó korrelációt talált a ^{133}Xe kimosás és az elektromágneses áramlásmérés révén nyert adatok között (Ladefoged 1965). Dahlqvist és Kiaer is hangsúlyozza, hogy a gáz-kimosás technikák csak korlátozott mértékben alkalmasak az egyes fiziológiai folyamatok (gázcsere, véráramlás) nyomon követésére (Dahlqvist 2008, Kiaer 2005).

A 70-es, 80-as években az egyik legnépszerűbb módszer az **izotóppal megjelölt gyöngyöket** alkalmazó módszer volt (mikroszférák, **„microspheres”**). Ez a mérési

technika azon alapul, hogy 15 mikrométer átmérőjű agar vagy plasztik mikroszférákat juttatnak be a keringésbe, melyeket előzetesen gamma-sugárzó izotóppal jelöltek (Gross 1981). A gyöngyök az 5-7 mikrométer átnérőjű kapillárisokban elakadnak, felgyűlnek és itt a felhalmozott radioaktivitás mérhető. Fő hátránya, hogy a módszer invazív és egy statikus végállapotot rögzít. Számos szerző végzett összehasonlító elemzéseket, amelyekben a lézer-Doppler véráramlásmérési módszer hatékonyságát hasonlították össze a radioaktív mikroszférák használatával és a két módszert egyenértékűnek találták (Yasuhiro Shibata 2004, Robertson 2004). Robertson rámutat arra is, hogy a 15 mikrométeres mikroszférák a méréshez szükséges csontbiopsziát követően a vénás rendszeren és a nyirokutakon keresztül igen gyorsan eljutnak a tüdőbe, ezért a csontokban történő lokális izotóp-akkumuláció méréséből származó eredmény pontatlan lehet. Hasonló véleményt fogalmazott meg Tothill is ^{85}Sr-mal jelölt mikroszférák esetében (Tothill 1980), viszont mások nem tapasztaltak ilyen hibaforrásokat a radioaktív mikroszférákkal történő mérés során (Anetzberger 2003, 2004) Ennek valószínű oka az, hogy nem végeztek csontbiopsziát, melynek során a mikroszférák elvándorolhattak volna. Egy másik kutatócsoport a fenti hibák kiküszöbölésére kilencféle különböző izotóppal megjelölt mikroszférát alkalmazott, de a nyert eredmények itt is Poisson-féle eloszlást mutattak (Austin 1989), azaz csak bizonyos hibahatárral értékelhetők (Maki 1997, Larsen 2008).

A mikroszféráknak véráramlás-mérésre történő használata előtt a következő követelményeknek kell eleget tennünk:

1. Garantálnunk kell, hogy a mikroszférák vérben való eloszlása egyenletes legyen.
2. A mikroszféráknak olyan átmérőjűeknek kell lenniük, hogy már az első alkalommal is embolizációt okozzanak a célterület elérésekor.
3. Annyi mikroszférát kell befecskendeznünk, hogy az elemzés céljára kivett biopsziás szövetmintákban kellő mennyiségű radioaktív mikroszféra legyen jelen a detektálhatósághoz (a sugárzás legalább tízszerese legyen a háttérzajnak).
4. A mikroszférák méretének és radiológiai töltésének eloszlása akkor ideális, ha mind a méretük, mind a töltöttségük valamennyi részecske esetében azonos. Az izotóp által bevitt töltöttségnek nem szabad felszabadulnia vagy megszűnnie a szövetekben, közvetlenül az embolizáció után.
5. Ne zavarja a szövet vérellátását.

Megjegyzendő, hogy egyes szerzők (Shymkiw 2001) nyulak kortikális csontállományán vizsgálva hasonlították össze a mikroszférák használatán és lézer-Doppler elven történő áramlásmérés eredményeit vazokonstriktor és vazodilatátor anyagok (noradrenalin és nitroprusszid nátrium) hatására. Azt találták, hogy a két módszer pontossága között pozitív korreláció áll fenn, és a reprodukálhatóságot illetően sem találtak 5%-nál nagyobb eltérést.

Egyes vizsgálatokban (Tondevold 1983) a mikroszférákat humán szérum-albuminból készítették, de az ilyen mintákkal végzett elemzések eredményei semminemű eltérést nem igazoltak a hagyományosnak tekinthető agar mikroszférákkal végzett mérések eredményeihez képest. Ugyanakkor az is bizonyítást nyert, hogy a mikroszférák sem a kardiovaszkuláris paramétereket, sem a vesék glomeruláris filtrációját nem befolyásolják.

Mindezen módszerek alkalmazását követően felmerül a kérdés, hogy a beadott mikroszférák milyen mértékben befolyásolják a szöveti mikrocirkulációt, miután azok beékelődtek a mikrovaszkuláris érrendszerbe és elzárták azt.

A mikroszférák alkalmazása és a szöveti mintavétel nem minden szempontból előnyös. Ezen technikákkal ugyanis kizárólag a biopsziás mintában, az adott pillanatban észlelhető véráramlásra lehet következtetni. Ha a méréseket hosszabb időn át kívánjuk végezni, akkor a mikroszférákat infúzió útján kell bejuttatnunk.

A módszer annak embolizáló hatása miatt kizárólag állatkísérletekben alkalmazható , továbbá a relatíve nagy mikroszféráknak az áramlás tengelyében való akkumulációja szintén levon a mérési módszer értékéből.

A csontban lévő (ill. be- és kiáramló) **vérsejtek eloszlási változásainak** alapján is tettek kísérletet a perfúzió indirekt meghatározására. Ezen módszerrel kapcsolatban az alábbi kérdéseket kell megfontolnunk:

1. A vizsgálni kívánt különböző vaszkuláris indikátorok képesek-e áthatolni a csont vérellátást biztosító erek falán, és ha igen, akkor ennek mértéke és sebessége mindvégig azonos-e, vagy mindvégig az érpályában maradva indikátorként jól használhatók?

2. Az erek funkcionális kapacitása és a perfúzió korrelál-e egymással, vagy vannak olyan érterületek, amelyeknek kicsi ugyan a kapacitása, de bennük az áramlás igen gyors?
3. Van-e bárminemű változás a vörösvértestek és a vérplazma arányaiban a csonton való átáramlás közben, vagy a vér összetétele egyáltalán nem változik meg a csonton való perfúzió folyamán, azaz ugyanúgy viselkedik-e, mint a vérkeringés artériás oldalán, a nagyvérkör egyéb területein?

A vörösvértestek ^{51}Cr-mal történő megjelölése (Van Dil La 1967, Brookes 1967, 1968) nem változtatja meg sem a vörösvértestek reológai tulajdonságait, sem mechanikai tulajdonságaikat, sem sejtmembránjuk stabilitását vagy ozmotikus rezisztenciáját. Ugyanakkor azonban a lép az artériás hematokritot a vizsgálati állatokban akár 40-50%-kal is képes megváltoztatni, a módszer csak szplenektomizált állatokon ad elfogadhatóan pontos eredményt, ez azonban aránytalanul nagy sebészi inváziót jelent. Áramlási sebesség mérésére nem alkalmas ez a módszer sem.

Másik igen elterjedt módszer **a szérum albumin radioktív izotóppal történő megjelölése**. Közismert, hogy az albumin bizonyos mértékben kijut ugyan az extravaszkuláris térbe, de ennek mértéke Tondevold és mtsai. szertint a mérések szempontjából elhanyagolható. Ugyanakkor más szerzők bizonyították, hogy az albuminnak mindössze 16%-a található az intraosszeális érpályán belül, mivel az albumin a csontszövet bioszintézisének egyik alapfehérjéje, tehát a nagymértékű extravazáció miatt mérésre nem alkalmas.

Intravitális mikroszkópos eljárást alkalmazott Hansen-Algenstaedt, m ely módszer azonban bonyolultsága és az erősen szubjektív értékelhetősége miatt nem terjedt el (Hansen-Algenstaedt 2006).

A fenti módszerek funkcionalitásának összefoglalásaként az alábbi következetéseket vonta le Tondevold és mtsai. :

1. A hosszú csöves csontok képesek arra, hogy anyagcsere-igényüknek megfelelően, autoregulációs mechanizmusaik révén szabályozzák a nagyvérkörből bejutó artériás vér mennyiségét. Kutyákon végzett kísérletek alapján bebizonyosodott, hogy ha a vérnyomás hosszabb időre 70 Hgmm alá

vagy az artériás oxigéntenzió 75 Hgmm alá csökken, akkor a csont vérellátása teljesen leáll.

2. Tudjuk, hogy egy adott csonton belül is igen nagy regionális különbségek észlelhetők a csont vérátáramlásának vonatkozásában. Ennek valószínű oka az lehet, hogy a csont a mechanikai terhelésnek és a hemopoetikus szövetek anyagcsereigényének megfelelően, autoreguláció révén végzi el a bejutó vérmennyiség disztribúcióját.
3. Nagyobb fizikai igénybevétel hatására a hosszú csöves csontok vérátáramlása 50-75%-kal megemelkedik, és ez a hiperémia a fizikai megterhelést követő közel 1 órán át fennmarad.
4. A csont valamennyi területén léteznek igen jelentős térfogatú extravaszkuláris területek, melyek albumint akkumulálnak.

6.3.1. A képződő kallusz mikrocirkulációjának vizsgálata (irodalmi áttekintés)

A képződő kalluszban zajló keringési folyamatok vizsgálatára már számos esetben történt kísérlet, azonban semmilyen irodalmi utalás nem található arra, hogy a képződő kalluszban, a fejlődés különböző stádiumaiban, real-time módszerrel, dinamikusan, az adott állaton kalibrált referencia-ponthoz viszonyítva, közvetlenül, lézer-Doppler elven mérték volna az egyes vazoaktív anyagok kallusz-mikrocirkulációra gyakorolt hatását.
Kirkeby és mtsai. kortikospongiózus csontléc beültetését követően végeztek áramlásmérést patkányokon lézer-Doppler technikával és ezt a módszert igen jól használhatónak találták az ilyen jellegű kísérletek során (Kirkeby 1993).
Más szerzők anngiográfiás módszerekkel követték a csontgyógyulást nyúl tibiákon (Klug 1986), ám ők sem dinamikusan, a törésgyógyulás folyamatában, hanem annak csak bizonyos fázisaiban végeztek vizsgálatokat Colobaryt-E 153 szuszpenzió intraarteriális befecskendezésével. A módszer jellegéből adódóan ez a technika csak egy bizonyos statikus állapot pontos rögzítését tette lehetővé, de nem vizsgálta semmilyen vazoaktív anyag lokális, dinamikus hatását, hanem csak a hisztomorfológiai és radiológiai elváltozásokat értékelte.

Egy másik kutatócsoport immuncitokémiai módszerekkel igazolta, hogy a migráló endotélium által expresszált proteolitikus enzim, az urokináz jelenléte arra utal, hogy a kalluszban erek találhatók (Oni 1993).

Megint más szerzők (Ladányi 1964) kutya tibiák Küntscher szerinti velőűrszegezését követően végezték a kallusz mikroszkópos vizsgálatát festékanyag befecskendezével. Megállapították, hogy bár a velőűrszegezés átmenetileg erősebben károsítja a csont vérellátását, azonban nem vezet oszteonekrózishoz, legfeljebb a gyógyulást késleltetheti.

Cleas és mtsai. bárányokon végeztek fixateur externe-el rögzített résoszteotómiát, majd a résből nyert szövettani minták elemzése alapján megállapították, hogy az erek benövése a velőűrben sokkal intenzívebb, mint a széli részeken (Claes 2002).

Egy másik kutatócsoport mikroszférák használatával, statikus módon elemezte a csont vérkeringését (Grundnes 1992), és a törésgyógyulás során a kallusz véráramlásának az alapértékhez viszonyított mintegy háromszoros növekedését tudták igazolni.

A csontgyógyulás folyamatának követésére japán kutatók humán disztrakciós modell segítségével végeztek ultrahangos méréseket (Kana Mukai-Higashihori 2008), melynek során megállapították, hogy az ultrahangos vizsgálat igen hasznos a konszolidáció megítélése szempontjából, de a vérátáramlás mértékének megítélésére közvetlenül nem alkalmas.

6.4. A lézer-Doppler elven történő áramlásmérés fizikai alapjai és jellemzői

A fenti szakaszban több, kísérleti célra általánosan használt véráramlásmérési módszert tekintettünk át. Látható, hogy egyik módszer sem felel meg teljes mértékben az „ideális módszer”-rel szemben támasztott követelményeknek, azaz mindegyikük csak bizonyos kompromisszumok árán és a vizsgálni kívánt paraméterek szempontjából tekinthető alkalmasnak és az eredmények értékelésénél a módszer korlátait figyelembe kell venni.

Ezen módszerek sajátságainak megismerése után jelen kísérleti sorozataink valamennyi szakaszában a lézer-Doppler elven alapuló, lokális, mikrocirkulációs áramlási sebességváltozás-mérést alkalmaztuk a csontvelőbe ill. a képződő kalluszba

helyezett mérőszondák segítségével. Irodalmi adatokból nyilvánvaló, hogy ez a módszer sem tökéletes, hiszen,-mint az előző szakaszban részletesen taglaltuk-, számos leírás található egyéb metódusokról, amelyek évtizedek óta igyekeznek a csontban-csontvelőben végbemenő véráramlási folyamatokat különböző szempontok szerint nyomon követni. Ezek jellemzően az átfolyó vérmennyiség abszolút értékének meghatározására törekednek akár kvantitatív, akár szemikvantitaív úton, de legtöbbször egy statikus állapotot rögzítenek. A véráramlás-változások dinamikus követésére azonban lényegesen kevesebb módszer ismeretes.

A lézer-Dopplerrel történő mérési módszert ill. alkalmazásának történeti áttekintését Swiontkowski ismerteti egy 1991-ben publikált munkájában (Swiontkowski 1991). Megállapítja, hogy a lézer-Doppler elven történő áramlásmérés pontos és megbízható módszer a mikrocirkuláció vizsgálatára. Több mérési sorozattal, in vitro és in vivo körülmények között is igazolták a módszer reprodukálhatóan jó teljesítményét és más mérési módszerekhez viszonyított jó korrelációját. Klinikai körülmények között is vizsgálták meniszkuszokon, inakon, szalagokon, továbbá csontelhalás, csontvelőgyulladás esetén a nekrózis kiterjedésének pontosabb megítélésére, ill. a kalluszképződés vizsgálatára. A mozgatóapparátus (váz-izomrendszer) számos patológiás folyamatának hátterében a mikroperfúzió zavara húzódik meg patogenetikai faktorként (pl. a csontok fertőzései, implantátumok körüli lazulások – csontrezorpció, a csont és a lágyrészek gyógyulási zavarai). A legtöbb, kísérleti körülmények között, állatokon alkalmazott mérési módszer humán célokra nem alkalmas, mert az eredmény értékeléséhez az adott szövetdarabot el kell távolítani, míg a lézer-Doppler módszernek ilyen hátránya nincs, bár alkalmazása szintén csak szövetdestrukció árán lehetséges. Ennek mértéke azonban elfogadható kompromisszum az általa nyerhető információ értékéhez viszonyítva.

A módszer alkalmazását először Schwalow és Townes javasolták, a gyakorlati kivitelezés pedig Mainman nevéhez fűződik (az ide vonatkozó referenciák Swiontkowski fent említett cikkének irodalmjegyzékében találhatók: Infrared and optical lasers. Phys. Review, vol.: 112, 1940-1958.). Az első méréseket nyulak retináján végezték 10 mW teljesítményű lézersugárral. A viszonylag nagy sugárteljesítményt az elfogadható jel/zaj arány elérése érdekében kellett alkalmazni, de így humán felhasználásra alkalmatlan volt. A fejlesztés során flexibilis száloptikát dolgoztak ki a

hélium-neon lézerhez, a mérőszondák és az optikai szálak átmérőjét csökkentették, majd a nyert jeleket erősítőre vezették, ezzel is javítva a jel/zaj arányt.

Csontokban elsőként Matsen alkalmazta sertések spongiózus csontállományának véráramlás-mérésére (dokumentáltan, Periflux POF1 készülékkel). Hasznosnak és reprodukálhatónak tartotta ezt a módszert a pulzushullám ill. a vérnyomástól függő áramlásváltozások követésére, olyannyira, hogy új oszteoszintézis-eljárások mikrocirkulációra gyakorolt hatásának felmérésére is használatos (pl. a retrográd femur velőűrszegezést követően az elülső és a hátsó keresztszalag véráramlása a felére (49 ill. 52%-ra) esik vissza, amely tényeknek klinikai konzekvenciái is lehetnek (ElMaraghi 1998).

Ugyanzet támasztja alá egy másik munkacsoport (Machens 2005, Banic 2005) vizsgálata is, akik a szabad lágyrészátültetések posztoperatív perfúziójának megítélésére haszonnal alkalmazták a lézer-Doppler elven működő berendezést, sőt Banic és mtsai. A folyamatos monitorozást javasolták ilyen lebenyek esetében. Mások (pl. Fischer 2005/a) is megerősítették, hogy közel lineáris összefüggés figyelhető meg a vörösvértestek lebenyen belüli áramlási sebessége és a lézer-Doppler eszköz elektromosan konvertált jelei között, sőt a hullám formája alapján diagnosztikus értékű következtetéseket vontak le az artéria ill. a véna elzáródására vonatkozóan (Fischer 2005/b). Az infravörösközeli hullámhosszú hélium-neon lézer csontokba, porcokba és a lágyrészekbe való behatolóképességét is megvizsgálták (Nötzli 2005). Azt találták, hogy a kortikálisba 3 mm mélyen, a spongiózus csontba 3,5 mm mélyen képes behatolni és a vér áramlását mebízhatóan regisztrálni.

Több szerző (Chan 1998, Dunlap 1997, Hellem 1998, Lausten 1993, Swiontkowski 1986 és 1988) közleményéből kiderül, hogy bár a szabályozó mechanizmusok mibenléte és hatásmódja nem teljesen tisztázott, de az afferens vérellátásnak fontos szerepe lehet a kallusz-képződésben, sőt a kallusz remodellációjában is. Legfrissebb álláspontjuk szerint a csontban végzett véráramlás-mérések túlzottan időigényesek és a szöveti struktúrák szükségtelenül nagy destrukciójával járnak. A szabályozható és a mérni kívánt anatómiai struktúrába helyezett, infravörösközeli sugárzási tartományba eső lézersugarakkal végzett lézer-Doppler fotodetektálás nyújtja a legmegfelelőbb eljárást a véráramlásban bekövetkezett változások dinamikus követésére. A lézer-Doppler perfúziós mérési eljárás egy

kétdimenziós, az adott képre vonatkoztatott áramlási sebességről tájékoztat és az eddig rendelkezésre álló adatok alapján az egyik leghasznosabb eszköz a csont in vivo perfúziójának elemzésének céljára.

Lausten és mtsai. sertéseken végzett vizsgálataik alapján megállapította, hogy az a. iliaca externa leszorítása után a femurkondilusokon végzett mikroszférás technikával és lézer-Doppler áramlásmérésekkel végzett kísérletekkel mindkét módszer jelentős és egymáshoz igen hasonló értékeket adó áramláscsökkenést jelzett az adott érterületen. Továbbá bizonyították, hogy a mikroszférás és a lézer-Doppler eljárással nyert adatok egymással igen szoros korrelációban vannak (nincs statisztikailag szignifikáns különbség a két módszer használhatóságának vonatkozásában), tehát a két módszer ekvivalens módon alkalmazható a véráramlás vizsgálatára, ámbár az artéria leszorítása után a lézer-Doppler módszer gyorsabban és érzékenyebben reagált a vérkeringés helyreállására (azaz a megemelkedett perfúzióra), mint a mikroszférás technika. A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy bár a lézer-Doppler technika - természeténél fogva - kizárólag relatív értékek kifejezésére alkalmas, mégis jobban használható a mikrovaszkuláris véráramlás különböző ingerek által kiváltott változásainak dinamikus követésére.

Swiontkowski és mtsai. két közleményükben is (1986 és 1988) foglalkozik a lézer-Doppler eljárások és a mikroszférás módszer előnyeinek-hátrányainak összehasonlító elemzésével. Véleményük szerint a lézer-Doppler áramlásmérés valósidejű és megbízható módszer és kiválóan használható a csont véráramlásának kísérletes és klinikai megítélésére. Arra a következtetésre jutottak (bárányokon végzett kísérletek alapján), hogy a mikroszférákkal és a lézer-Doppler áramlásméréssel végrehajtott mérések eredményei között nem volt kimutatható statisztikailag szignifikánsan eltérő különbség. Következésképpen a lézer-Doppler áramlásmérés és a mikroszférás technika gyakorlati értéke azonos, a felhasználásuk preferenciája kizárólag az adott kutató gyakorlatától és tárgyi felkészültségétől függ, jóllehet, a mikroszférákat alkalmazó módszer több ismert hátránnyal jár (lásd feljebb).

Az említett szerzők hasonló témával foglalkozó másik cikke, melyben ugyancsak a mikroszférákkal végzett vérkeringési vizsgálatok eredményeit taglalják, éppen ellenkező következtetéseket von le. A kísérleteket nyulakon végezték és a femur kondilusok tekintetében nem találtak statisztikailag szignifikáns összefüggést a lézer-

Doppler áramlásmérés útján regisztrált eredmények és a 85Sr-mal megjelölt mikroszférák alapján nyert eredmények között.

Ennek okaként a következő tényezők merültek fel:

- kiterjedt arteriovenózus söntök,
- a mikroszférák nem megfelelő keveredése a bal szívkamrába történt befecskendezés során
- elégtelen számú mikroszféra jelenléte a vizsgált csontmintákban, tehát nem volt semmiféle matematikai lehetőség a kellő számú mikroszférából nyert adatok megfelelő feldolgozására.

Ugyanakkor a szerzők megállapítják, hogy a lézer-Doppler technika könnyen használható és véleményük szerint egy adott csontterület véráramlásának vizsgálatára és annak kiértékelésére sokkal több előnnyel használható, mint a mikroszférás eljárás. Jóllehet, a lézer-Doppler vizsgálatok esetében az in vivo kalibráció a megbízható klinikai alkalmazás érdekében elengedhetetlen.

Swiontkowski és mtsai. ill. Chan és mtsai. többféle állatkísérletes modellen szintén jó eredménnyel alkalmazta a lézer-Doppler áramlásmérést. Ezen méréseknél sem volt szükség abszolút térfogatok meghatározására, kizárólag a véráramlás változásainak detektálása volt a cél. A ^{46}Sc-mal megjelölt mikroszférákkal végzett mérés eredményei jó korrelációt mutattak a lézer-Doppler módszerrel mért erdményekkel. Mindkét módszert könnyen és biztonságosan használhatónak és jól reprodukálhatónak tartották.

Ezek alapján az általunk választott módszer ismert előnyeit és hátrányait is figyelembe véve is alkalmasnak bizonyult a definiált alapértékhez képest bekövetkezett mikrovaszkuláris áramlás-változások követésére. A fentiek alapján mérési sorozatainkhoz a lézer-Doppler mérési módszert választottuk, tudva, hogy a mérések pontosságát számos tényező befolyásolhatja, de jelenlegi tudásunk szerint nem áll rendelkezésre egyetlen olyan váráramlásmérő módszer sem, amellyel a csont adott területének mikrocirkuláció-változásait egyszerűbben, megbízhatóbban és több órán át lehetne követni. Az általunk használt modellben az adott vazoaktív anyag által kiváltott mikrovaszkuláris reakciók dinamikájának, tendenciájának százalékos (relatív) kifejezését fontosabbnak ítéltük, mint az átáramlott vérmennyiség ml/percben (vagy egyéb hasonló egységben) kifejezett abszolút értékeit.

A változások elektronikus úton mV-értékekké alakíthatók, és statisztikailag, matematikailag feldolgozhatók, megfelelően kalibrált görbéken megjeleníthetők és a görbéken geometriai alapú számításokat is lehet végezni, pl. T50%. A mérés fizikai alapjaiból következően a szondának stabilan kell rögzülnie a vizsgálandó terület felett, így elkerülve a mozgásból származó zavaró műtermékeket. Tudnunk kell továbbá, hogy ezzel a módszerrel csak önkényesen definiált mértékegységekkel dolgozhatunk, melyek meghatározásához a mérést megelőzően kalibrációra van szükség. (Egyes szerzők javasolják a lézer-Doppler elven történő áramlásmérés kalibrációját más, abszolút térfogatmérésre alkalmas módszerekkel, vagyis ílymódon kvantitatívvá téve a módszert. Ennek eredményességéről az irodalomban ellentétes nézetek olvashatók.)

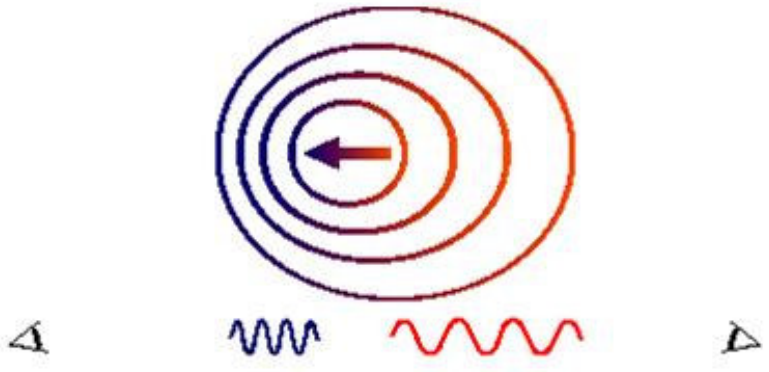
Jelen tanulmányunkban azonban nem volt szükség abszolút, kvantitatív térfogatok meghatározására, hiszen mindössze a vazoaktív anyagok által okozott áramlásváltozásokat kívántuk detektálni. Erre a lézer-Doppler szondákkal végzett kissé invazív, de valós idejű és az áramlás-változásokat folyamatosan detektáló eljárást minden szempontból megfelelőnek találtuk, kihasználva az azonos oldali femurnak, mint referenciapontnak minden előnyét: ugyanazon végtag fő artériája látja el mindkét csontot, ezért az intraarteriálisan alkalmazott vazoaktív anyagok hatásai közel azonos mértékben érvényesülnek. Továbbá alapkísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a két hosszú csöves csont intraarteriálisan bejuttatott vazoaktív szerekre adott mikrovaszkuláris válaszreakcióinak dinamikájában nincs statisztilailag szignifikáns eltérés, bár alap véráramlásuk mértéke–vélhetőleg főként a csontok dimenzióiból és anatómiai elhelyezkedéséből adódóan-erősen különbözik.

A módszer fizikai alapjai

A Doppler-elven történő első mérések az akusztikus Doppler-effektuson alapultak, melyet a 23. ábra szemléltet.

23. ábra

Az akusztikus Doppler-effektus elvi alapjai



Ha a hangforrás a megfigyelőhöz közeledik, akkor a hullámhossz csökken, a frekvencia nő (ún. kék eltolódás), míg ha tőle távolodik, akkor a hullámhossz nő, a frekvencia csökken (ún. vörös eltolódás).

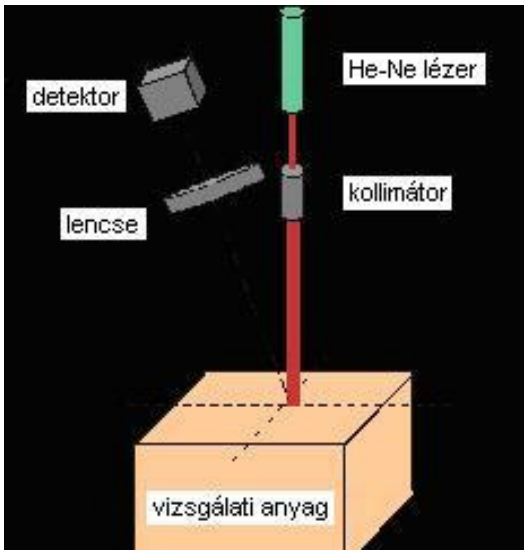
A lézer-Doppler módszerrel történő mérés fizikai alapja teljesen hasonló az akusztikus Doppler-effekuséhoz. A különbség abban áll, hogy az optikai Doppler-effektus esetében nem hanghullámok, hanem a fény frekvenciájának eltolódását detektáljuk. Eszerint mozgó tárgyról visszaverődve a fényfrekvencia változása optikai Doppler-frekvencia eltolódást okoz, mely elektronikusan detektálható és a

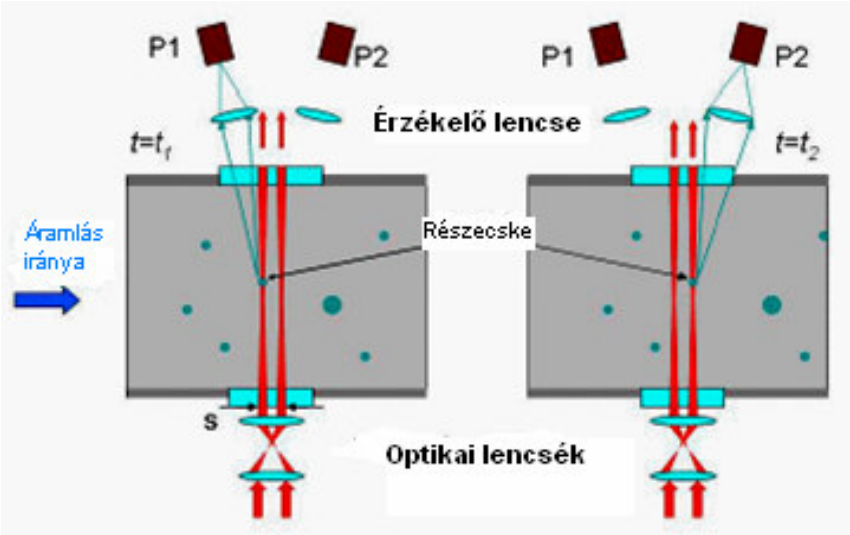
$$\Delta f / f = (v/c) \times \cos \alpha$$

képlettel írható le, ahol **Δf** a ferkvencia változását jelöli az alapfrekvenciához (**f**) képest, **v** az áramlás sebességét, **c** a fénysebbeséget az **α** pedig a mérőfejnek az áramlás irányával bezárt szögét jelöli. Lásd a 24. ábrát.

24. ábra

Az optikai Doppler-effektus vázlata





A mérőszondák elhelyezkedése az egyenes vonalú mozgást végző részecskékhez képest, ill. a fenykibocsátó (P1) és fényreceptor (P2) fejet egynással és az áramlás irányával bezárt szöge.

Mivel a véráramlás jelen módszerrel detektálható alapját a vérvolumen legtömegesebb alakos elemeit a vörösvértestek teszik ki, ezért a véráramlás mérését a vörösvértestek áramlási sebességének és az átáramlott térfogat meghatározásának alapján végeztük. A vörösvértestek áramlási sebessége elhanyagolható a fény terjedési sebességéhez képest, ezért állandó sebességű áramlás esetén sem fényváltozás (oszcilláció), sem frekvenciaváltozás nem lesz mérhető.

Azonban a koherens lézerfény ilyen körülmények között is szóródik ill. különböző módon verődik vissza a vér mozgó alakos elemeiről (vörösvértestekről). Ugyanakkor a stabilan álló környezeti elemekről szóródás nélkül tér vissza, és az így keletkezett frekvencia-különbségek interferálnak. Az interferencia a mért fény oszcillációjában nyilvánul meg, mely jelenség a Doppler-frekvencia eltolódása formájában pontosan detektálható.

6.5. Alapkísérletek

Alapkísérleteinkben a nyúl intakt femurjának és tibiájának csontvelőjében vazoaktív anyagok hatására létrejött mikrovaszkuláris véráramlás-változásait vizsgáltuk lézer-Doppler módszerrel. Az irodalomból számos más véráramlásmérési módszer ismert, de az előzőekben részletezett hiányosságaik és hátrányaik miatt helyettük a lézer-Doppler módszert választottuk. A kvantitatív vagy szemikavantitatív módszerek nehezen kivitelezhetőek, nem teljesen megbízhatóak, mérési pontosságukat ugyanazok a tényezők rontják, mint az általunk választott módszerét. Mennyiségi áramlásmérésre tehát nem törekedtünk, sokkal inkább az áramlásváltozások in vivo, folyamatos és dinamikus követésére, megfelelő referenciaponthoz viszonyított értékek elemzése alapján. A folyamatok dinamikáját vizsgáltuk és ennek érdekében váltottuk ki az érreakciókat. Több szerző is rámutat a módszer jó használhatóságára, később (természetesen kellő számú állatkísérletes vizsgálat alpján) még akár a humán klinikai gyakorlatban is a csontfragmentumok életképességének megítélésében (Hobbs 2000).

Célunk a szerek hatásának tanulmányozásán kívül annak eldöntése volt, hogy az azonos oldali femur és a tibia csontvelőjének érrendszere azonosan vagy eltérően reagál-e az intraarteriálisan beadott szerekre. Miután bizonyítottuk, hogy nincsen

szignifikáns különbség a két érterület rekciói között, sor kerülhetett a tibia rés-oszteotómiájában képződő kallusz mikrocirkulációjának vizsgálatára, melyhez tehát referenciapontként az azonos oldali femur csontvelőt használhattuk.

6.5.1. Az artériás kanül szerepe

Az artériás kanül korábban ismertetett bevezetési módja és elhelyezése mellett a következő szempontok miatt döntöttünk. A behatolási hely feltárása viszonylag egyszerű és biztonságos, a kanül a jobb a. femoralisban jól rögzíthető. Ugyanezen feltárásból a jobb hátsó végtagot artériás ligatúrával gyakorlatilag teljesen kirekeszthetjük a keringésből, tehát a szerek javarészt a vizsgált, mért bal hátsó végtagba jutnak. (A kanül felvezetésének magasságát, azaz a kanül hosszát – mivel gyakorlatilag azonos testméretű állatokat használtunk– egy elhullott állat boncolása során mértük ki.) Ugyanakkor tudnunk kell, hogy a kanül pozicionálásából és a kollaterális keringésből adódóan a kirekesztés nem teljes, és a szerek szisztémás hatása is érvényesül. Mivel a kanült közvetlenül a hasi aortába vezettük, egy háromállású csap közbeiktatásával ideális helyzetet sikerült teremteni a vérnyomás direkt, véres úton történő méréséhez ill. a szerek bolusban történő bejuttatásához, továbbá a kísérletek teljes ideje alatti időszakos vérvételhez a laboratóriumi vizsgálatok céljára (vérgáz- és pH-értékek). Az állatok testhőmérsékletét egy fűthető pad segítségével tartottuk állandó 37°C-on, ugyanis a testhőmérséklet változása a vér pH-értékét és ennél fogva az egyes szerek hatását is befolyásolhatta volna. Mivel az alkalmazott anesztézia során az állatok spontán lélegeztek, a vérgázok ellenőrzésére is szükség volt az esetleges hipoventillációból adódó sav-bázis eltolódások kiszűrésére. Ezen paraméterek mindvégig a normál tartományban maradtak.

6.5.2. Az alkalmazott vazoaktív anyagok (dózisaik, beadásuk sorrendje és módja)

Az alkalmazott szerek dózisait egy előzetes kísérletsorozatban, ugyanilyen elrendezésben titráltuk arra törekedve, hogy az általuk kifejtett szisztémás hatás lehetőleg minimális, a lokális hatás pedig maximális legyen.

Első szerként minden esetben adrenalint adtunk, az ezt követően beadott CGRP, SP és nitroprusszid nátrium sorrendjét véletlenszerűen határoztuk meg arra törekedve, hogy az esetleges, előre nem látható interakciókat kizárjuk. Az utolsóként beadott szer az Ebrantil, majd ezt pontosan 60 másodperccel követően ismételten az adrenalin volt.

A háromállású csapon keresztül az anyagokat közvetlenül a hasi aortába, ill. a ligatúra révén a bal hátsó végtagba juttattuk. A szerek beadását követően heparinozott fiziológiás sóoldattal öblítettük át a rendszert részben a bealvadás, elzáródás megakadályozására, részben pedig a szerek kimosása és így a későbbi interakciók elkerülése céljából.

Két vazoaktív anyag beadása között legalább 20-25 percet vártunk. Ezen idő alatt a vizsgált jellemzők visszatértek a szer beadása előtti szintre, az állat vitális paraméterei stabilizálódtak.

Adrenalin

Az adrenalint (0,2 mikrogramm/kg dózisban), mint erős vazokonstriktort, standard szerként, elsőként bejuttatva alkalmaztuk, ellenőrizve ezzel a kanül és lézer-Doppler szondák helyzetét és funkcionalitását. A kiváltott vérnyomásemelkedés és áramláscsökkenés jelezte, hogy kísérleti elrendezésünk megfelelő, annak minden alkotóeleme jól működik.

Az adrenalin, funkcióját tekintve egy katekolamin típusú hormon és neurotranszmitter. Biokémiailag szimpatomimetikus hatású monoamin, mely aminosavból, fenilalaninból és tirozinból keletkezik és a mellékvese szecernálja.

Központi szerepet játszik a szervezet akut stressz-reakcióiban, ugyanakkor számos más hatása is van a szervezetben: többféle receptorhoz kötődik, emeli a szívfrekvenciát és a perctérfogatot, kitágítja a pupillákat, vazokonstrikciót okoz a bőr és a belek arterioláiban, ugyanakkor tágítja a lábszárizomzat arterioláit.

Hatását az adrenerg receptorokhoz kötődve fejti ki, melynek jellege (vazodilatáció vagy vazokonstrikció) erősen függ a jelenlévő α- ill. β- adrenerg receptorok számarányától. Ugyanakkor az adenil-cikláz mechanizmus gátolja a miozin könnyű láncának kináz enzimét, és ilymódon az érfalak simaizomzatának ellazulását és vazodilatációt is okozhat az izomsejtekben.

CGRP

A CGRP (calcitonin gene-related peptide) egy 37 aminosavból álló neuropeptid, melyet ugyanaz a gén kódol, mint a kalcitonint, és a legerősebb érrelaxáló anyagok közé tartozik (4 mikrogramm/kg dózisban). Vazodilatációs hatását az endotél eltávolítása után is kifejti, amely tény arra utal, hogy közvetlenül a vaszkuláris simaizomsejtekre gyakorol hatást (Lundgaard 1997). Az idegrendszeri szintézise a dorzális spinális ganglionokban történik az mRNS szelektív kötési folyamatai (splicing) révén. Magas koncentrációban mutatható ki a periosztеumban és a csontvelőben is (Ahmed 1994). Más kutatók bizonyították, hogy a CGRP a legnagyobb mennyiségben és folyamatosan előforduló neuropeptid, amely a stimulált idegvégződésekből szabadul fel a trauma és a következményes gyulladásos reakció helyszínén (Hukkanen 1993, Kazuharu Irie 2002, Jian Li 2007). Ebből arra következtettek, hogy a CGRP valószínűleg közvetlen hatást gyakorol a csontra és egyéb környező szövetekre. Gerincvelő-sérüléseket és bénulást követően patológiás törések jöhetnek létre, ám ezek túlzott mennyiségű kallusz képződésével gyógyulnak. Ugyanígy összefüggés feltételezhető a hosszú csöves csontok több alkalommal előforduló törései, álízületei és a neurogén artropátiák között (Hukkanen 1993).

A CGRP-nek két izoformáját ismerjük, az α- és a β-CGRP-t, melyek egymástól mindössze 3 aminosavban különböznek (Hongbao 2004). Mindkét forma génlokusza azonos, a 11. kromoszómán helyezkedik el. 6 exonból állnak, melyekből a szövetspecifikus, szelektív kötések révén az idegrendszerben CGRP, a pajzsmirigyben pedig kalcitonin szintetizálódik.

Biológiai hatásukat a CGRP-1 és a CGRP-2 receptorokhoz kötődve fejtik ki, mely kötődésben főként a 8.-37. aminosavaknak van alapvető szerepük. Az 1.-7. aminosavak diszulfidképződés révén a receptorhoz való kötődésben agonista hatást fejtenek ki a 8.-37. aminosavakkal, azaz elősegítik a neuropeptid-receptor kapcsolat létrejöttét (Hongbao 2004).

A CGRP nagy mennyiségben fordul elő a központi idegrendszerben, különösen a szenzoros ganglionokban, a n. trigeminusban, az agykéregben és a hipofízisben, továbbá kimutatható az epifízis, periosztеum, sőt a csontvelő, az izmok, szalagok és a kötőszövet afferens idegrostjaiból is (Bjurholm 1987, Zaidi 1987). A központi idegrendszerben neurotranszmitterként ill. neuromodulátorként hat, és a perivaszkuláris

idegvégződésekből felszabadulva az arteriolák tónusát modulálja, és motoneuronokból felszabadulva trofikus szerepet játszhat az izom acetilkolin-receptorain (Zaidi 1987). Bjurholm immun-floureszcenciás vizsgálatokkal igazolta, hogy a CGRP nagyobb mennyiségben mutatható ki a csöves csontok epifízisében, mint a diafízisben. Jelen van a véredényekben, elsősorban az artériákban és a szívizomban. Csontszöveti eloszlása igen nagymértékben hasnló a P-anyagéhoz, de a CGRP mennyisége messze meghaladja a P-anyag mennyiségét. A fenti szöveteket beidegző neuronokban noradrenalinnal, VIP-pel (vazoaktív intesztinális peptid), neuropeptid Y-nal, szomatosztatinnal és P-anyaggal együttesen is előfordulhat. Imunhisztokémiai módszerekkel és kromatográfiával kimutatható számos szövetben, többek között a csontvelőben is. -

Gyulladásos mediátorként is fontos szerepet játszik, ugyanakkor igen erős vazodilatátor anyag, mely hatását részben közvetlen simaizom-ellazítással éri el az adenilcikláz-rendszer aktiválása révén, másrészt pedig nitrogénmonoxidot szabadít fel az érfal endotéljéből. Csökkenti a vér kálciumszintjét, gátolja a csontrezorpciót és az oszteoklasztokat, ill. fokozza az oszteoblaszok működését (Ahmed 1994, Konttinen 1996), stimulálja az oszteogenezist. Azt is kimutatták (Imai 2002), hogy az oszteobalsztok endogén módon termelnek CGRP-t, alátámasztva azt a korábbi felismerést, hogy a szenzoros és szimpatikus idegek fontos szerepet játszanak a csont anyagcseréjének szabályozásában (Höcherl 2004/a). Höcherl és mtsai. kísérletsorozataikban a 10. és 15. posztoperatív napon nyert immunhisztokémiai eredményeiket a következőkben foglalták össze:

- az interfragmentáris résben, a 10. napon észlelt változásokat leginkább a preformált csontgerendák megjelenése jellemzi, melyek környezetében az első típusos oszteoblasztok megjelennek. Ugyanebben az időben jelennek meg az oszteoklasztok is, de kizárólag az oszteotómiás rés közelében lévő csontvelőben. Ezekben a többmagvú óriássejtekben az SP már nyomokban kimutatható, de ugyanekkor a CGRP kizárólag az erekhez csatlakozó, „gyöngyfüzérszerű” peptiderg idegekben mutat immunreaktivitást, különösen a nagyobb, szövettanilag nyilvánvalóan artériás szerkezetű erek közelében, az oszteotómiához közel eső csontvelőben. Az ilyen kemospecificitást mutató idegeknek kizárólag a 10. posztoperatív napon észlelhető a granulációs szövetben történő igen intenzív szétterjedése.

Az interfragmentális résben a 15. posztoperatív napot szövettanilag igen intenzív sejtaktivitás jellemzi, amely a de novo keletkezett sejtek óriási mértékű migrációjában nyilvánul meg. A migráló, tehát csontgerendákhoz még nem kötött oszteoblasztok igen erős CGRP-aktivitással rendelkeznek. Ilyen immunoreaktivitás semmilyen körülmények között nem mutatható ki endotélsejtekben, ugyanakkor az oszteoblasztikus sejtsor elemei erős CGRP-raktivitást mutatnak (Höcherl 2004/a).

A fentiek mellett számos fiziológiai hatása ismert, melyek egyrésze vitatott.

SP

Az 1931-ben felfedezett P-anyag (Substance P, SP), melyet kísérleteienk során 10 pikogramm/kg mennyiségben alkalmaztunk, a tahikininek családjába tartozó rövidláncú, 11 aminosavból álló polipeptid, amely neurotranszmitterként és neuromodulátorként fejti ki hatását. Idegsejtekben és a leukocitákban termelődik, és igen változó koncentrációban, de szinte minden szövetben jelen van. A csont kortikálisa is tartalmazza, de csontvelőben ennek 40-szeres koncentrációja mutatható ki (Ahmed 1994) A központi idegrendszerben befolyással van a szorongásra, a hangulat változásaira, a neurogenezisre és a fájdalomérzetre (Makoto Inoue 2000). A tahikinin-receptorok CGRP-alcsaládjához tartozó neurokinin-1 receptorokhoz kötődik, és szerepe van a fájdalomingerület perifériás idegrendszer receptoraiból a központi idegrendszerbe való eljuttatásában a gerincvelői érzőrostokon át (Pelletier 2005, MacPherson 2005). A neurogén gyulladásban játszott szerepét is igazolták. Jelentős érfal-permeabilitást fokozó és vazodilatátor hatása is van, mely utóbbi-szemben a CGRP hatásmechanizmusával-az érfal endotéljéből való nitrogénmonoxid-felszabadítás révén valósul meg. Az ér endotéljének mechanikai eltávolítása után ugyanis vazorelaxációs hatása teljes mértékben elmarad (Lundgaard 1997). Kemotaktikus hatása révén a fehérvérsejtek célirányos vándorlását is szabályozza, továbbá szerepe van a II. típusú alveoláris sejtek funkciójára is (Poelma 2004).

Nitroprusszid nátrium

Ezt a vazoaktív anyagot 8 mikrogramm/ kg mennyiségben alkalmaztuk, melynek vazoaktív ágense a fém-nitrozil komplex, melyben a gyűrű körül 5 cianid és 1 nitrogénoxid ligand helyezkedik el. A szer hatása a **nitrogénmonoxid** felszabadításán

(disszociációján) alapul a vörösvértestekben végbemenő hemoglobin-cianomethemoglobin metabolizáció révén. A NO szintézisét a NOS három izoformája végzi (konstitutív, indukálható, és neuronális izoformák), melyeknek aktivitása a törégyógyulás folyamán, a sérülést követő 4. és 15. nap között rohamosan, 2,5-szeresére megnő (Zhu 2001, Höcherl 2004/a és b). A törésgyógyulás különböző fázisaiban a NOS termelődése változó intenzitású és sejtfüggő, így az enzim gátlásának ill. stimulációjának hatása lehet a törésgyógyulásra is (Zhu 2002). A kutatásokban a szer jól használható az endotéliumtól független vazodilatáció vizsgálatára (lásd az SP hatásmechanizmusát). A nitroprusszid nátriumból felszabaduló nitrogénmonoxid diffúzió útján jut be a simaizomsejtekbe, ahol mind az arteriolákban, mind a vénákban erős mikrovaszkuláris értágulatot okoz.

Ebrantil

Az Ebrantil (uradipil hidroklorid) 0,5 mikrogramm/kg dózisban történő alkalmazásának fő hatása a szisztolés és a diasztolés vérnyomás csökkentése anélkül, hogy reflexes tahikardiát okozna. Perifériás és centrális támadáspontja is van: perifériásan blokkolja a posztszinaptikus α-1 receptorokat, és így gátolja a katekolaminok vazokonstriktív hatását, ill. centrálisan a keringés-centrum aktivitásának módosítása révén kivédi, vagy csökkenti a szimpatikus tónus reflexes fokozódását. Kísérletes körülmények között képes volt statisztikailag szignifikáns mértékben kivédeni az adrenalin vazokonstrikciós hatását (Vendégh 2005/a és b, 2009 közlésre elfogadva). Mivel azonban dózisát úgy választottuk meg, hogy elsősorban lokális hatásai érvényesüljenek a szisztémás hatások lehető legalacsonyabb szinten tartása mellett, az α-1 blokád nem volt teljes, ezért nem jött létre vérnyomásesés (lásd a 4., 5., 7., 8. és 9. táblázatokat)

6.5.3. A lézer-Doppler szondák kalibrálása és behelyezése

A módszer jellemzőinél részletezett okok miatt a szondákat kalibrálnunk kellett a mérések megkezdése előtt. 0%-nak vettük azt az értéket, amikor a szonda előtt semmiféle mozgás nem volt, és 100%-nak a szondák behelyezését követő jelszintet,

amikor még nem adagoltunk semmiféle vazoaktív anyagot és a szonda előtt csak anormál véráramlásból származó mozgás volt észlelhető. Természetesen a szondák behelyezése után néhány percen át műtermékekkel zavart áramlási görbéket kaptunk, melyek pár perces várakozást követően stabilizálódtak, és a tényleges méréseket csak ezt követően kezdtük meg. A csont szilárd kortikálisa és a megfelelő átmérőjű csontfurat ill. a benne szorosan illeszkedő szonda használata igen alkalmassá teszi a rendszert a geometria stabilizálására.

A bal femurt babérlevél alakú metszésből, anterolaterális feltárásból, annak középső harmadában tártuk fel a tapintható csípő-és térdízület közötti távolság felénél. Az intermuszkuláris szeptumon tompán, jelentős vérzés nélkül áthatolva, és a periosztеumot letolva 1,1 mm átmérőjű furatot készítettünk ferdén, kb. 45 fokos szögben proximál felé irányítva. A csontfurat belső átmérője pontosan megegyezett a lézer-Doppler áramlásmérő szonda külső átmérőjével, így az a furatban megbízhatóan rögzült. Továbbá a tompán szétválasztott és a szonda behelyezését követően összefekvő izmok ill. a szonda környező lágyrészekhez történő kiöltése megfelelő mértékben biztosította a szonda stabilitását.

A tibiát szintén anterolaterális metszésből tártuk fel ugyancsak a középső harmadban, a térd- és bokaízületek közötti távolság felénél. A furatot a femurhoz hasonló módon készítettük el és a szondát is ugyanolyan módszerekkel rögzítettük.

Előzetes kísérleteinkben, harántmetszetet készítve a femur és a tibia diafízisének középső harmadáról, meghatároztuk a lézer-Doppler szondák azon hosszúságát, amely garantálta, hogy a szondát a kortikálison kb. 45 fokos szögben átvezetve annak vége a proximális és disztális kortikális közti távolság felénél legyen. Ezt a szondákra felhelyezett jelölés segítségével tudtuk biztosítani, mivel a kísérleti állatok testméretei (femur és tibia átmérője a középső diafizeális szegmentumban) nem mutatattak statisztikailag szignifikáns eltérést, következésképpen a jelölés egységesen használható volt a teljes kísérleti sorozat valamennyi mérése során.

6.6. A rés-oszteotómiás modell

A rés-oszteotomiás modell segítségével az oszteotomizált tibiában képződő kallusz vazoaktív anyagok hatására bekövetkezett mikrovaszkuláris reakcióit vizsgáltuk. Arra is kerestük a választ, hogy a kalluszképződés melyik fázisában jelennek meg érstruktúrák és idegi elemek, és ezek milyen rakciókészséget mutatnak az alkalmazott szerekre a műtéttől eltelt idő függvényében (a 10. és 15. posztoperatív napokon).

6.6.1. Kísérleti elrendezés, a szerek alkalmazása

A szerek bevitelének módja, sorrendje és az adatok feldolgozása az összehasonlíthatóság érdekében az alapkísérletben alkalmazott eljárásokkal mindenben megegyező módon történt. Referenciapontként itt is az azonos oldali, intakt femur csontvelőjének véráramlásváltozását tekintettük.

Természetesen különbség, hogy a kísérletsorozat jelen fázisában a tibiális lézer-Doppler szondát nem csontfuratba, hanem a rekonstrukciós lemez középső lyukába behajtott speciális csavarjába helyeztük és a képződő kallusz mikrocirkulációjának változásait detektáltuk.

6.6.2. Az oszteotómia elkészítése

A bal tibiát a sebészi aszepszis és antiszepszis szabályainak betartása mellett, műtői körülmények között tártuk fel anterolaterális behatolásból. A csontra jutva, a tibia középső harmadában a csont jól látható szinosztózist képez a fibulával. Ezen a jól definiált helyen végeztük el az oszteotómiát oszcillációs fűrésszel, ügyelve arra, hogy ezután a csontból pontosan 3 mm széles gyűrűt távolítsunk el. A csontot ezután 7-lyukas rekonstrukciós lemezzel és kortikális csavarokkal rögzítettük. A lemez hossza ideálisan egybeesik a nyúl tibia hosszával és minimális modellálás után pontosan a csontra fektethető úgy, hogy középső, általunk menettel ellátott furata az oszteotómiás rés fölé kerül. Ezen menetes lyukba egy speciálisan kialakított, a külső felszínén menetes, közepén furattal ellátott csavart hajtottunk be, mely a 10. ill. 15. posztoperatív napon végzett kallusz-véráramlási mérések során alkalmas a lézer-Doppler szonda befogadására és stabil rögzítésére olyan helyzetben, hogy annak vége pontosan a képződő kallusz közepében helyezkedjen el.

6.6.3. Áramlásmérés a képződő kalluszban, mért és számított paraméterek

A femorális szondát az alapkísérletnél leírttal megegyező módon helyeztük el és rögzítettük.

A tibia anterolaterális felszínén jól tapintható volt a lemezbe helyezett speciális csavar, melynek nyílását kb. 1 cm-es metszésből feltárva a tibiális szondát a képződő kallusz közepébe tudtuk vezetni és megbízhatóan rögzíteni. A speciális csavar hosszát (magasságát) ugyanis úgy terveztük meg, hogy a belehelyezett, gyárilag 120 fokos szögben meghajlított szonda pontosan a képződő kallusz középpontjába kerüljön, azaz egyenlő távolságra a proximális és disztális kortikálisoktól. Mivel anatómilailag-morfológiailag azonos méretű nyulakat használtunk (2200-2500 gr), az előzetes méréseinkkel igazolni tudtuk, hogy femurjuk és tibiájuk átmérője a viszgált középső diafizeális szakaszon azonos (ill. nem mutat statisztikailag szignifikáns eltérést). Tehát, ha a 120 fokos szögben meghajlított szondát a speciális csavar furatába helyeztük a szonda hajlítási pontjáig, akkor annak vége „automatikusan" a képző kallusz közepébe kellett, hogy kerüljön.

Az **artériás középnyomást** a hasi aortába vezetett polietilén katéterhez illesztett háromállású csapon keresztül folyamatosan regisztráltuk, amely modellünkben a perfúziós nyomást biztosította. Számítógépes programunk az artériás középnyomás relatív változásait is kiszámította olymódon, hogy 100%-nak tekintette az egyes szerek beadása előtti értéket és 0%-nak a 0 Hgmm-es nyomást.

Az **áramlásmérésre** szolgáló, a femurba és a tibiába vezetett lézer-Doppler szondákat kalibráltuk, majd a nyert jeleket a program mV értékekké konvertálta. Az egyes szerek hatásmaximumakor mért mV-értékből kivontuk a nulla-szinthez tartozó értéket, és kiszámítottuk a véráramlás relatív, százalékos változását a szer beadása előtti értékhez képest.

Az adatok alapján számítógéppel megrajzolt grafikon segítségével számítottuk ki az egyes szerek hatását követő **50%-os visszatérési időt**. Ez az a másodpercben kifejezett idő, amely szükséges volt ahhoz, hogy a lézer-Doppler szondákról nyert, mV-ban kifejezett jelek nagysága a szer beadása előtti előtti érték 50%-ára visszatérjen. Ez az érték az egyes szerek farmakodinamikáját jellemzi: a hatásmaximum eléréséhez szükséges időt, a hatás tartamát és annak megszűnéséhez szükséges időt. Mértük a hatásmaximum kialakulásához szükséges időt is, de hatás maximumának egyértelmű

azonosítása a görbén nehézségekbe ütközött, mivel nem egyetlen, jól definiált, spike-értékről volt szó, hanem a görbe enyhe fluktuációja volt megfigyelheteő ezen a szakaszon (lásd a 7. ábrát). Következtethetünk a receptorokhoz való kötődés gyorsaságára, a kötődés ill. hatás tartósságára és a hatás megszűnéséért felelős elimináló, re-uptake mechanizmusok működési sebességére.

Az adott érterület vazoaktív szerek hatására bekövetekezett reakcióinak dinamikáját a **regionális mikrovaszkuláris érellenállással** jellemeztük. Kiszámításához az artériás középnyomás (perfúziós nyomás) százalékos változását osztottuk a véráramlás sebességének százalékos változásaival. Ennek alapján nyomon követhető, hogy az adott érterület vérátáramlása milyen mértékben függ a benne uralkodó nyomástól, ill. milyen arányú változással ragál a vazokonstriktor és vazodilatátor anyagok bevitelére.

6.7. A képződő kallusz hisztológiai jellemzői

Munkacsoportunk korábbi kísérletsorozatokban szövettani és immunhisztokémiai módszerekkel vizsgálta a résoszteotómiás modellben képződő kallusz granulációs szövetének szerkezetét (Höcherl 2004/a). A rés-oszteotómiás modell kidolgozásakor nagy gondot fordítottunk a rés szélességének helyes meghatározására, vagyis hogy kellően nagy távolság legyen a csontvégek között ahhoz, hogy jól értékelhető mennyiségű szövettani mintát nyerhessünk, de a túlzott távolságot elkerülve ne zavarjuk meg a törésgyógyulás közel normális menetét (Wolf 2001). A granulációs szövetből és az oszteotómiás réshez közel eső csontvelőből vett mintákban már az 5. posztoperatív napon sikerült **CGRP**-t és citoplazmatikus **SP-aktivitást** kimutatni (Hedberg 1995, Pelletier 2002, Herskovits 2005). Amint a granulációs szövet belép az oszteotómiás résbe, az ott jelenlévő sejtek igen intenzív SP-immunreaktivitást mutatnak és olyan struktúrák kialakulása kezdődik meg, amelyek a dezmális csontosodás angiogén formájára jellemző képnek felelnek meg: a preoszteoblasztok külön válnak a képződő erek lumenét behatároló preendotél sejtektől. A csontsebben az oszteo- és vaszkulogenezis a csontvelőben jelen lévő egységes prekurzorsejt-készletből indul ki.

Ezt a folyamatot számos tényező befolyásolja, többek között szisztémás, lokális/parakrin faktorok, továbbá a **beidegzés** és az idegrendszer csontra kifejtett hatása, ill. a neuropeptid tartalmú rostok jelenléte a képződő kalluszban (Konttinen

1996). Valamannyi csontsejt működését különféle szisztémás szabályozó faktor irányítja (pl. a mellékpajzsmirigy hormonja, szexuálszetroidok, glukokortikoidok, D3 vitamin, kalcitonin, inzulin, a növekedési hormon, pajzsmirigyhormon, stb.), és ezeken túl még a kálcium-, foszfor- és fluorid-anaygcsere. Ezen szisztémás faktorok bárminemű rendellenessége akár oszteoporotikus csonttörésekhez is vezethet. A lokális faktorok közül a csontmátrixban jelen lévő növekedési faktorokat és és citokineket kell megemlítenünk. Ezek meghatározó szerepet játszanak az aktiváció- rezorpció-formáció folyamatban az oszteoblasztok és oszteoklasztok serkentése ill.gátlása révén.

Csöves csontok esetében az epifízisek közelében sokkal gazdagabb az a csontfelszíni periosztеális idegfonat, amely peptiderg idegek hálózatos rendszeréből épül fel (Glowaczki 1988). A hálózatot körülvevő négyrétegű periosztеális rétegben CGRP-tartalmú sejtek tömege fedezhető fel. Ezek a periosztеális rostok javarészt elágazódnak és a csont-periosztеum határon végződnek. Kisebb részük belép a csontba (a Volkmann- és Havers-csatornákon át, erek kíséretében). Ezeknél lényegesen vastagabb idegek lépnek be a csontvelőbe az a. nutritivat kísérve, mnelyekből egy kevés rost a csont kortikálisa felé tart, nagyobb részük a csontvelőt idegzi be.

A neurogén szabályozó faktorok valószínűleg neuropeptidek, melyek közvetlenül soha nem vesznek részt enzimekként vagy építőelemekként az adott reakciókban, de alacsony koncentrációban képesek befolyásolni a csont remodellációját. Így tehát a „mozaik-hipotézisnek” megfelelően a neuropeptiderg idegvégződések egyrészt érzékelik a mechanikai igényt (szenzoros funkció), másrészt pedig ragálnak azokra a szenzoros és vegetatív idegek végrehajtó funkciója); mindezek eredménye az, hogy a törési rés „kitöltődik” és létrejön a csontgyógyulás.

A csont neuropeptid tartalmú szenzoros és vegetetív idegrostjait (szemben a szisztémás és lokális faktorokkal) a dorzális gyökök vagy a lokális szimpatikus/paraszimpatikus ganglionok szintetizálják, ahonnan védett környezetben kerülnek az intraaxonális, extravaszkuláris tárolóhelyükre. Ezen túlmenően neuropeptidek termelődhetnek és fel is szabadulhatnak még sokféle nem-idegi jellegű sejtből, pl. masztocitákból vagy megakariocitákból is.

Már a 10. posztoperatív napon egyértelműen kimutathatók a képződő ereket kísérő, CGRP-erg rostok. A 15. napon már a CGRP-aktivitás nemcsak ezekben az idegekben, hanem a migráló oszteoblasztokban is minden kétséget kizáróan igazolható.

Ezen felismerések alapján választottuk tehát a vazokatív hatású neuropeptidek közül a CGRP-t és az SP-t az érreakciók vizsgálatához. A csont sérülését követő gyulladásos reakcióban részt vesznek, a törési résbe benövő idegrostokban és a környező struktúrákban természetes körülmények között is kimutathatók, azaz a törésgyógyulás normál menetének szabályozásában is fontos szerepet játszhatnak.

Wolf és mtsai. (Wolf 2001) szintén vizsgálta peptiderg (CGRP, SP) idegrostok megjelenésének dinamikáját a csontsebet kitöltő granulációs szövetben. Immunhisztokémiai módszerekkel megállapították, hogy az oszeto- és neurogenezis túlnyomóan a proximális tibiacsonk felől indul meg. Igazolták az is, hogy a neurogén és csontképző elemek egymással szoros összefüggést mutatva jelennek meg és belőlük CGRP és SP egyértelműen kimutatható. Immunreaktivitást kizárólag az idegrostok mutattak, és ezek gyöngyfüzérszerűen helyezkedtek el az erek körül. A CGRP-tartalmú idegrostok növekedése rendkívül gyors. A kontrollcsoporthoz képest, melyben az ép csontvelőben található CGRP-pozitív idegrostok számát határozták meg, a CGRP-tartalmú rostok száma 10. posztoperatív napon már statisztikailag szignifikánsan magasabb volt, mint az ép csontvelőben, sőt ehhez képest ugyancsak szignifikánsan magasabb értéket találtak a 15. posztoperatív napon. Ezzel megerősítették Hukkanen korábban (1993) megfogalmazott következtetését, miszerint: *„A CGRP minden valószínűség szerint folyamatosan és egyre növekvő mértékben termelődik a trauma és a következményes gyulladásos reakció helyszínén, az ingerelt idegvégződésekben. Ezért ennek a peptidnek közvetlen hatása lehet a csontból és az egyéb környező szövetekből származó sejtekre.”* Ugyanakkor a szövettani (immuncitokémiai) vizsgálatok alapján egyértelműen bizonyították, hogy – szemben Hukkanen véleményével – reaktív perifériás idegek nemcsak a perioszteumban találhatók, hanem a csontvelőben és a képződő kalluszban is. Sőt azt is sikerült bizonyítani, hogy a vizsgált neuropeptidek a csonvelőből terjednek szét a környező szövetekbe, így a kalluszba is. Továbbá, hogy a CGRP az egyik legerősebb értágító anyag, serkenti az endotélsejtek proliferációját, oszteogenetikus hatású és fokozza a csont mineralizációját, növeli a kapillárisok permeabilitását a bradikinin rendszeren és a trombocitaaktiváló faktorokon keresztül és fokozza az oszteoblasztok termelődését, melyek újabb endogén CGRP szintézisre képesek. Az SP hatásai is hasonló irányúak, de gyengébbek. Mindezek alapján arra

következtettek, hogy a törésgyógyulás/oszteogenezis korai fázisában az erek szerepe nem elképzelhető peptiderg idegi szabályozás nélkül.

Hisztomorfometriás módszerek alapján a rostok szövetben mért hossza a 15. posztoperatív napon 30-szoros volt a kontrollcsoporthoz képest (4 mm/mm^2 ill. 124 mm/mm^2). A kezdetben igen rövid SP-tartalmú rostok hossza (a csontvelő szövetében 1mm/mm^2) a 15. napra 80-szorosára emelkedett (82 mm/mm^2). A legdinamikusabb fejlődést a 10. és a 15. nap közötti időszakban figyelték meg, ezért választottuk jelen kísérleteink esetében is ezt az intervallumot.

A rostok sűrűségével kapcsolatban is hasonló megfigyelést tettek (Wolf 2004). A CGRP-tartalmú rostok denzitása a 15. posztoperatív napon 54 mm/mm^3 volt a granulációs szövetben, míg a csontvelőben 124 mm/mm^3. Az SP-tartalmú rostok is hasonló denzitást mutattak (48 ill 82 mm/mm^3).

Másik kísérletsorozatuk célja (Höcherl 2004/b) a **NOS izoformáinak** (konstitutív, indukálható és idegrendszeri) kimutatása volt a granulációs szövetben. Immunhisztokémiai módszerekkel azonban csak a NOS II. (indukálható forma) jelenlétét sikerült igazolni. A preoszteoblasztok és preendotél sejtek azonos mértékű reaktivitást mutattak a 10. napon, de az endotél sejtek csak a 15. naptól kezdődően mutattak ativitást.

6.7.1. Az egyes szerek hatásai a képződő kallusz mikrocirkulációjára

Adrenalin

Alapkísérleteinkben az adrenalin mind a tibiában, mind a femurban jelentősen megnövelte az érellenállást. A rekaciók jellege a két csontban azonos volt, tehát a mikrocirkuláció szabályozása is vélhetően megegyező módon megy végbe.

Az oszteotómiás modellben a **10. napon** már jelenlévő érstruktúrákban volt detektálható véráramlás, de ennek CGRP és SP hatására bekövetkezett változása passzívan követte a vérnyomásváltozást. Azonban adrenalin vs. Ebrantil + adrenalin esetében statisztikailag szignifikáns különbséget észleltünk már a 10 napos kalluszban is, melyből következtethető, hogy a benövő erekben már megjelenésükkor jelen vannak a

reakcióképes α-1 receptorok és vazokonstrikciót hoznak létre, mely hatás Ebrantillal részlegesen blokkolható.

A 15. napon szintén statisztikailag szignifikáns mértékben csökkentette a véráramlást és fokozta az érellenállást, erős vazokonstrikciót okozva. A tibiális áramlás 50%-os visszatérési ideje a 15. napon statisztikailag szignifikáns mértékben ($p = 0,042$) hosszabb volt a femorális visszatérési időnél. Ebből következtethető, hogy a 15. posztoperatív napon már jelen vannak reakcióképes α-receptorok az újonnan benőtt erek falában, azonban a szer neutralizálását ill. a re-uptaket végző mechanizmusok kevésbé fejlettek, mint az ép femorális struktúrákban. Jóllehet, a 15. napon mért véráramlási sebesség a kalluszban magasabb volt, mint az intakt tibiában.

CGRP és SP

Alapkísérleteinkben ezek a neuropeptidek csökkentették mind a vérátáramlást, mind a perfúziós nyomást, ugyanakkor az érellenállásban nem volt tapasztalható statisztikailag szignifikáns eltérés. Ennek egyik lehetséges oka az, hogy a csont vérperfúziója igen erősen függ a perfúziós nyomástól. A másik elképzelés szerint az aktív vazodilatáció hiányáért a „steal”-effektus lehet felelős. Eszerint a végtagban az izmok, a zsírszövet, a bőr és a csont vérkeringése egymással párhuzamosan kapcsolt. Ha ezen kompartmentek közül valamelyikben (főként az izomban) erős vazodilatáció lép fel, akkor a többi érterülettől ez elvonja a vérvolument (Sonntag 1995).

Az 50%-os visszatérési idő a CGRP esetében hosszabb volt, mint az SP alkalmazása után, mivel – valószínűleg – a CGRP receptor-kötődése erősebb és a CGRP-tartalmú idegrostok száma lényegesen nagyobb, mint az SP-tartalmúaké (Melly 2002/a és b; Tóth 2000/a és b).

Oszteotómiás kísérletünkben a szer beadását követően a tibia mikrovaszkuláris érellenállása a 15. posztoperatív napon statisztikailag szignifikáns mértékben magasabb volt, mint a femorális, de egyértelműen alacsonyabb, mint a 10. napon mért bármely mikrovaszkuláris rezisztencia-érték. Jóllehet, mint korábban olvasható, a 10. posztoperatív nap eredményei önmagukban statisztikai elemzésre nem voltak alkalmasak, de a trend bizonyos következtetések levonására mégis lehetőséget ad. Az érellenállás 5 nap alatt végbement lecsökkenésének magyarázata vélhetőleg az újonnan megjelent reakcióképes struktúrákban keresendő.

Nitroprusszid nátrium

Alapkísérleteinkben a nitroprusszid nátrium enyhén csökkentette az áramlást és erősebben a perfúziós nyomást, továbbá alacsonyabb érellenállást eredményezett, amely jelenség az erek aktív dilatációjára utal.

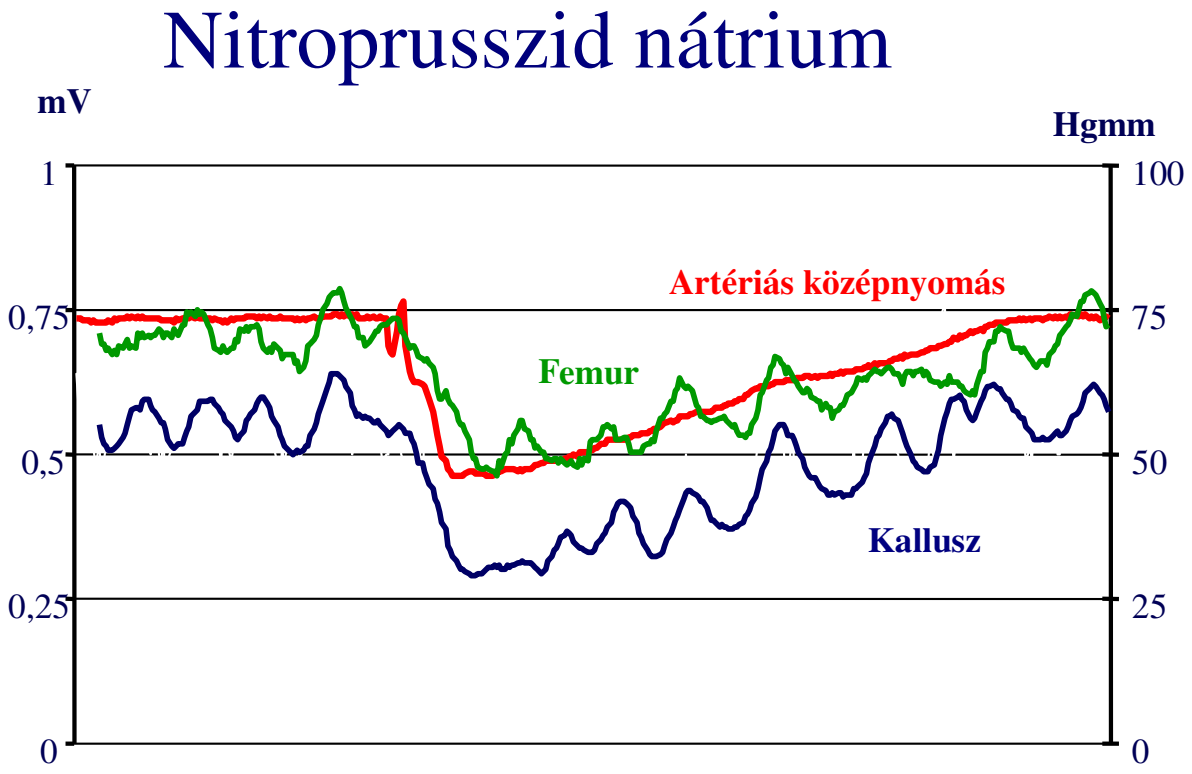
A szer bevitele után a kallusz véráramlásának 50%-os visszatérési ideje a 10. posztoperatív napon statisztikailag szignifikáns mértékben volt rövidebb volt, mint a femorális, valószínűleg azért, mert a kalluszképződés korai fázisában még kevesebb simaizom van jelen.

A nitroprusszid nátrium NO disszociálása révén és nem receptorokon keresztül hat. A nitroprusszid nátriumról disszociált NO ugyanis intracelluláris ciklikus nukleotidok (cGMP) termelését indukálja a simaizomsejtekben, amelyek közvetlen módon csökkentik az intracelluláris Ca-ion szintet és ez vazorelaxációt eredményez.

A kallusz 50%-os visszatérési ideje a femurhoz képest még 15. napon is hosszabb volt, de a különbség jelentősen lecsökkent a 10. naphoz viszonyítva. Ez a jelenség az eltelt 5 nap alatt megjelent reaktív struktúrákkal magyarázható, melyek már jelentősebb vazorelaxációt képesek előidézni. A 23. ábra a nitroprusszid nátrium, mint vazodilatátor anyag hatásgörbéjét demonstrálja. Ehhez hasonló görbéket kaptunk a másik két vazodilatátor anyag, a CGRP és az SP intraarteriális bejuttatását követően is. Lásd a 25. ábrát.

25. ábra

Vazodilatátor anyagokra (jelen esetben a nitroprusszid nátriumra) adott jellegzetes véráramlási reakció és az artériás középnyomás változása az idő függvényében (mV ill. Hg mm mértékegységekben kifejezve), a 15. posztoperatív napon



Erősebb és tartósabb vazodilatátor hatás a 15 napos kallusz mikrovaszkuláris struktúráiban a femurhoz képest. A kallusz áramlásának hosszabb visszatérési ideje vélhetőleg a még fejletlenebb ellenregulációs mechanizmusok következménye.

Ebrantil + adrenalin

Alapkísérleteinkben az α-1 receptorokat gátló Ebrantil (0,5 mikrogramm/kg dózisban) statisztikailag szignifikáns mértékben csökkentette a 60 másodperccel később beadott adrenalin vazokonstriktor hatását mind a femurban, mind a tibiában. Jóllehet, az alkalmazott dózisban a blokkoló hatás egyik érterületen sem volt teljes, hiszen előzetes kísérletsorozatunk alapján az Ebrantil dózisát úgy választottuk meg, hogy annak szisztémás, vérnyomáscsökkentő hatása a lehető legkisebb mértékben érvényesüljön, azonban lokális hatása az adott körülmények között maximális legyen.

Ebrantil előzetes adagolásával oszteotómiás modellünkben az adrenalin véráramlást csökkentő hatása szignifikáns mértékben csökkenthető volt a 15. posztoperatív napon az adrenalin egyedüli beviteléhez képest. Az eredmények ugyanígy alakultak az érellenállás és az 50%-os visszatérési idő vonatkozásában is. Mindez arra enged következtetni, hogy az Ebrantillal blokkolható, vazoaktív szerekre reagáló α-1 receptorok az erekben már a kalluszképződés igen korai fázisában megjelennek, és a csontseb gyógyulása során számuk egyre nő.

7. Következtetések

Kísérletsorozatunk alapján az alábbi következtetéseket vontuk le a kísérleti módszerre, elrendezésre és az eredményekre vonatkozóan:

1. Korábbi kísérleteinkkel immunhisztokémiai módszerrel igazoltuk a CGRP-t és az SP-t tartalmazó idegrostok jelenlétét a képződő kalluszban és annak közevtlen környezetében (a csontvelőben), ezért a mikrovaszkuláris véráramlásváltozások vizsgálatához ezt a két neuropeptidet választottuk (három egyéb vazoaktív anyag mellett).
2. Kidolgoztunk, továbbfejlesztettünk és sikerrel alkalmaztunk egy olyan kísérleti elrendezést, amely alkalmas az intakt csontvelő (femur) és a képződő kallusz (tibia) lokális mikrocirkulációs paramétereinekfoyamatos követésére

3. Ugyancsak kidolgoztuk a szerek intraarteriális kanülön keresztül történő bejuttatását olymódon, hogy a szisztémás hatásokat a lehető legkisebbre csökkentsük, ugyanakkor lokális hatásuk maximumát a bal alsó végtagban fejtsék ki. Ez az elrendezés lehetőséget biztosít az artériás vérnyomás folyamatos regisztrálására és vérminták vételére is.
4. Számítógépes mérési elrendezést állítottunk össze, mely lehetővé tette a fenti három paraméter (femur és tibia csontvelői véráramlásváltozása és az artériás középnyomás) ugyanazon monitoron történő, szinkron megjelenítését, az adatok rögzítését és feldolgozását.
5. A lézer-Doppler elven történő áramlásmérés – ismert hátrányai mellett – jól megfelelt és viszonylag könnyen használható volt az adott érterületen lokálisan bekövetkezett véráramlás-változások detektálására, alátámasztva ezzel számos szerző megfigyelését.
6. A munkacsoportunk által kidolgozott, majd modifikált rés-oszteotomiás modellt alkalmasnak találtuk a képződő kallusz mikrovaszkuláris reakcióinak követésére mind a 10., mind a 15. posztoperatív napon, ***és ezt a világon elsőként sikerrel alkalmaztuk.***
7. Az erek és az idegek már a kalluszképződés igen korai fázisában megjelennek, egymással párhuzamosan fejlődve. Véráramlásméréseinkkel alátámasztottuk kutatócsoportunk szövetteni megfigyelését, miszerint az erek és az idegek egymással párhuzamosan, már a törésgyógyulás igen korai szakaszában benőnek a granulációs szövetbe.
8. CGRP és SP hatására a vizsgált érterületek perfúziója a 10. posztoperatív napon még igen érzékenyen függ a nyomás változásaitól, áramlásuk gyakorlatilag passzívan követi a nyomásváltozásokat, azonban adrenailnra aktív vazokonstrikció jön létre, mely Ebrantillal részlegesen blokkolható. Az intakt tibia véráramlási sebességének már 2/3-a volt detektálható a 10. posztoperatív napon.
9. Igazoltuk, hogy a neurovaszkuláris struktúrák igen gyorsan nőnek be a granulációs szövetbe, sőt a 15. posztoperatív napon mért alap véráramlási értékek átlaga magasabb volt, mint az intakt tibia csontvelőjében mért alap

véráramlási értékek átlaga. A 10. és a 15. nap között rapid érproliferáció zajlik, és a két időpont eredményei egymástól szignifikáns mértékben eltérnek.

10. α-1 receptor blokkoló ágens előzetes adásával az adrenalin vazokonstriktor hatása már a kalluszképződés igen korai szakaszában (10. nap) is statisztikailag szingnifikáns mértékben csökkenthető, vagyis ezzel bizonyítottuk a reakcióképes α-1 receptorok korai megjelenését.

8. Összefoglalás

Alapkísérletek

A csontvelő véráramlás-szabályozási mechanizmusainak ismerete nagy klinikai jelentőséggel bír. Ugyanakkor igen keveset tudunk a csontvelő és a képződő kallusz mikrocirkulációjának szabályozásáról. Jelen kísérletsorozatunkban a csontvelő mikrocirkulációjának változásait mértük a nyúl azonos oldali femurjában és tibiájában lézer-Doppler módszerrel. Neuropeptideket és vazoaktív anyagokat vittünk be intraarteriálisan a mikrocirkuláció változásainak előidézése céljából. Mértük ill. számítottuk a véráramlás, a perifériás érellenállás változásait valamint a szerek hatásának időtartamát (az 50%-os visszatérési időt). A két csont alapértékei lényegesen eltértek ugyan (a femur alap véráramlása ötszöröse volt a tibiáénak), de nem volt statisztikailag kimutatható különbség az azonos oldali femur és tibia vaszkuláris reakciói között, így tehát a femurt referenciapontként használhatjuk a tibia képződő kalluszának rés-oszteotómiában végzett mikrocirkulációs vizsgálataihoz.

Rés-oszteotomiás modell

A csontgyógyulás szabályozásában számos humorális faktor, gyulladásos mediátor, növekedési faktor és több, más biológiailag aktív anyag vesz részt, mint például hormonok és neuropeptidek. Ezt a folyamatot érújdonképződés és a neurális elemek benövése kíséri, melyhez megfelelő mennyiségű szubsztrát- és oxigén-ellátásra van szükség. A kalluszképződés folyamata során a szöveti vérellátás szabályozásának lehetőségei igen korlátozottak. Nyúl-tibián létrehozott rés-oszteotómiás modellen vizsgáltuk az intraarteriálisan beadott neuropeptidek és vazoaktív anyagok hatását a képződő kallusz mikrocirkulációjára a 10. ill. a 15 posztoperatív napon. Lézer-Doppler áramlásmérési módszerrel detektáltuk a képződő kallusz mikrocirkulációjában bekövetkezett változásokat, referenciapontként használva az azonos oldali femur csontvelőjét. A vazoaktív anyagok a csont sérülését követően igen korán képesek érreakciókat kiváltani, vélhetőleg azért, mert a reakcióképes idegi struktúrák az erekkel párhuzamosan nőnek be a képződő kalluszba, a biológiai folyamat igen korai fázisában. A visszatérési időkben tapasztalt eltérésekért valószínűleg a neutralizáló ill. re-uptake mechanizmusok különbözősége felelős.

Summary

Basic experiments

The knowledge of the regulation of bone marrow blood flow is of high clinical importance. However, relatively little is known about the regulation of the microcirculation in the bone marrow and developing callus. In our present study we have measured the changes of bone marrow microcirculation at two different ipsilateral sites (femur and tibia) of the rabbit with laser-Doppler flowmetry. Intra-arterial bolus injections of neuropeptides and vasoactive substances were given to elicit reactions of the microcirculation. Changes in flow, vascular resistance, and duration of action of the substances were measured and calculated. However, the basal blood flow velocities of the both bones were considerably different, but no statistically significant difference could be revealed between the local microvascular reactions of the femur and the ipsilateral tibia, thus the femur can be used as a reference site in our future investigations of the microcirculation of the developing callus in the gap osteotomy of the tibia.

Gap osteotomy model

Bone healing is regulated by a number of humoral factors, inflammatory mediators, growth factors and by other biologically active substances, such as hormones and neuropeptides. This process is accompanied by angiogenesis and neural ingrowth requiring satisfactory substrate- and oxygen-supply. The regulation of tissue blood flow during the course of callus development is extremely limited. We investigated the effects of intraarterially applied neuropeptides and vasoactive substances on the microcirculation of the developing callus in rabbit tibiae 10 and 15 days after osteoetomy. The changes of blood flow reactions of the developing callus and the ipsilateral femoral bone marrow were detected by laser-Doppler flowmetry. Active substances can elicit vasoactive reactions early following bone injury, possibly because reactive neural structures grow into the developing callus parallel with blood vessels and at a very early stage of callus formation. Differences in the neutralizing or re-uptake mechanisms could be responsible for the observed variations in the recovery times.

9. Irodalomjegyzék

AHMED, M., SRINIVASAN, GR., THEODORSSON, E., BJURHOLM, A., KREICBERGS, A. (1994): Extraction and quantitation of neuropeptides in bone by radioimmunoassay
Regul. Pept. **(51)** p.:179-188.

ANETZBERGER H., THEIN E., WALLI A. K., MESSMER K. (2003): Determination of regional bone blood flow by means of fluorescent microspheres using an automated sample-processing procedure
European Surgical Research **(35)** No. 4.

ANETZBERGER H., THEIN E., BECKER M., ZWISSLER B., MESSMER K. (2004): Microspheres accurately predict regional blood flow
Clinical Orthopaedics and Related Research (**Nr. 424)** p.: 253-265.

AUSTIN R. E., HAUCK W. W., ALDEA G. S., FLYNN A. E., COGGIS D. L. (1989): Quantitating error in blood flow measurements with radioactive microspheres
Am J Physiol Heart and Circulatory Physiology **(257)** Issue 1., p.: 280-288.

BANIC A., SIGURDSSON G., WHEATLEY A. (2005): Continuous perioperative monitoring of microcirculatory blood flow in pectoralis musculocutaneous flaps
Microsurgery **(16)** Issue 7., p.: 469-475.

BANIS J. C., SCHWARTZ K. S., ACLAND R. D. (2005): Electromagnetic flowmetry – an experimental method for continuous blood flow measurement using a new island flap model
Microsurgery **(3)** Issue 2., p.: 92-102.

BJERRE-JEPSEN K., FARIS I., HENRIKSEN O., LASSEN N.A. (2008): Subcutaneous blood flow over 24-hours periods in patients with severe leg ischaemia
Clinical Physiology and Functional Imaging **(2)** Issue 5., p: 357-362.

BJURHOLM, A., KREICBERGS, A., BRODIN, E., SCHULTZBERG, M. (1988): Substance P- and CGRP-immunoreactive nerves in bone
Peptides **(9)** 65-171.

BODZAY T., ASBÓTH L., SZITA J., VÁRADI K. (2008): Medencegyűrű sérülések műtéti rögzítésének végeselemes modellezése
Biomechanica Hungarica, **1. évf., 1. szám**

BRINKER, R., HOWARD L., LIPPTON L., STEPHEN D., ALBERT L. (1990): Pharmacological regulation of the circulation of bone
The Journal of Bone and Joint Surgery **(72/a)** p.: 964-975.

BROOKES, M. (1965): Red cell volumes and vascular patterns in long bones.
Acta Anat. (Basel) **(62)** p.:5-52.

BROOKES, M. (1967): Blood flow rates in compact and cancellous bone, and bone marrow
J Anat **(101/3)** p.: 533-541.

BROOKES, M. (1968): A measurement of the rates of blood flow, circulation red cell volume and velocity in bone marrow and cortex
Acta Anatomica **(69)** p.: 201-209.

CHAMBERS I. R., CHOKSEY M.S., CLARK A., GREEN A., JENKINS A., MENDELOW A. D. (1992): A thermal clearance probe for continuous monitoring of cerebral blood flow
Clin. Phys. Physiol. Meas. **(13)** p.:311-321.

CHAN, RC., FORRESTER, K., MCDOUGALL, JJ., BRAY, R.C., ZERNICKE, RF. (1999): Dynamic measurement of bone blood perfusion with modified laser Doppler imaging

Journal of Orthopaedic research **(17)** p.: 578-581.

CLAES L., ECKERT-HEUBNER K , AUGAT P. (2002): The effect of mechanical stability on local vascularization and tissue differentiation in callus healing
Journal of Orthopaedic Research **(20)** p.: 1099–1105

CSERHÁTI P., VENDÉGH ZS., BODZAY T., KAZÁR GY., LACZKÓ T., MANNINGER J. (1992): A combnyaktáji törés utáni rehabilitáció hazai problémái és a fejlesztés lehetőségei
Magyar Traumatológia, Orthopédia **(35)** pp.:149-154.

CUMMING J. D. (1962): A study of blood flow through bone marrow by a method of venous effluent collection
J. Physiol **(162)** p.: 13-20

DAHLQVIST M., ALEXANDERSSON R., NIELSEN J., HEDENSTIERNA G. (2008): Single and multiple breath nitrogen wash out – closing volume and volume of trapped gas for detection of early airway obstruction
Clinical Physiology and Functional Imaging **(9)** p.: 389-398.

DUNLAP, JN., BRINKER, MR., COOK, SD. (1997): A new in vivo method for the direct measurement of nutrient artery blood flow
Orthopedics **(20)** p.: 613-619.

ElMARAGHY A. W., SCHEMITSCH E. H., RICHARDS R. R. (1998): Femoral and cruciate blood flow after retrograde femoral reaming: a canine study using laser Doppler flowmetry
Journal of Orthopaedic Trauma **(12.4)** p.: 253-258.

FISCHER J. C., PARKER P. M., SHAW W. W. (2005/a): Laser Doppler flowmeter measurements of skin perfusion changes associated with arterial and venous compromise in the cutaneous island flap
Microsurgery **(6)** Issue 4., p.: 238-243.

FISCHER J. C., PARKER P. M., SHAW W. W. (2005/b): Waveform analysis applied to laser Doppler flowmetry
Microsurgery **(7)** Issue 2., p.: 67-71.

FLEMING T. J., BARATI M. T., BECK D. J., DODDS J. C., MALKANI A. L., PARAMESWARAN D., SOUKHOVA G. K., VOOR M. J. FEITELSON J. B. A. (2001): Bone blood flow and vascular reactivity
Cells, Tissues, Organs **(169)** No. 3., p.: 279-284

FLÓRIS I., MARTSA B., SZITA J., KECSKEMÉTI Á., VENDÉGH ZS. (2005): Tomportáji törések összehasonlító klinikai vizsgálata: extra- vagy intramedullaris rögzítés?
Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet **2005/4**

GILSON W., ORPHANOUDAKIS S. (1988): Error bounds for wide-band high resolution Doppler ultrasound blood flow measurement
Engineering in Medicine and Biology Society **(issue 4-7),** p.:473-474.

GLOWACKI, J. (1998): Angiogenesis in fracture repair
Clin. Orthop and Related Research **(355)** p.: 82-89.

GOSSELIN R. E., AUDINO L. F. (1971): Muscle blood flow and functional capillary density evaluated by isotope clearance
Pflügers Archiv European Journal of Physiology **(322)** Number 3/September

GREENHALGH P.M., JONES J.R., YUTKIN J. S. (1989): The 57 mm thermal clearance probe: a non-invasive tool for measuring subcutaneous blood flow

Clin Sci **(77/1)** p.: 121-127.

GROSS P. M., MARCUS M. L., HEISTAD D. D. (1981): Measurements of blood flow to bone and marrow in experimental animals by means of the microsphere technique
The Journal of Bone and Joint Surgery Am. **(63)** p.: 1028-1031.

GRUNDNES O., REIKARAS O. (1992): Blood flow and mechanical properties of healing bone
Acta Orthop Scand **(63)** (5): p.:487-491

HONGBAO MA (2004): Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)
Nature and Science, **(2/3),** 2004

HANSEN-ALGENSTAEDT N., JOSCHECK C., WOLFRAM L., SCHAEFER C., MÜLLER I., BÖTTCHER A., DEURETZBACHER G., WIESNER L., LEUNIG M., ALGENSTAEDT P., RÜTHER W. (2006/a): Sequential changes in vessel formation and microvascular function during bone repair
Acta Orthopaedica **(77/3)** p.: 429-439.

HANSEN-ALGENSTAEDT N., ALGENSTAEDT P., SCHAEFER C., HAMANN A., WOLFRAM L., CINGÖZ G., KILIC N., SCHROEDER M., JOSCHEK C., WIESNER L., RÜTHER W., ERGÜN S. (2006/b): Neural driven angiogenesis by overexpression of nerve growth factor
Histochemistry and Cell Biology **(125)** p.: 637-649

HEDBERG A., MESSNER K., PERSLIDEN J., HILDEBRAND C. (1995): Transient local presence of nerve fibers at onset of secondary ossification in the rat knee joint
Anatomy and Embriology **(192)** Nr. 3, p.: 247-255.

HELLEM, S., JACOBSSON, LS., NILSSON, GE., LEWIS, DH. (1988): Measurement of microvascular blood flow in cancellous bone using laser Doppler flowmetry and ^{133}Xe-clearance
Int. J. Oral Surg. **(12**) p.: 165-177.

HERSKOVITS M., SANDHU H. S., SINGH I. J (2005): Modulation of bone growth and remodeling by sympathetic nervous system: review of experimental and clinical studies
Clinical Anatomy **(4),** Issue 2., p.: 129-137.

HOBBS C. M., WATKINS P. E. (2000): Evaluation of the viability of bone fragments. An experimental study using laser Doppler flowmetry
The Journal of Bone and Joint Sugery (Br) **(82-B)** p.:130-133.

HÖCHERL, EFJ., WOLF, K., HAMAR, J., PFISTER, C. (2004/a): Zur Immunohistochemie des Granulationsgewebes nach Distanzosteosynthese der Kaninchentibia I. Die Neuropeptide CGRP und SP als Marker osteogen differenzierender Stammzellen und/oder Progenitorzellen aus dem Knochenmark (in German)
Osteologie **(13)** p.:3-12.

HÖCHERL, EFJ., WOLF, K., HAMAR, J., PFISTER, C. (2004/b): Zur Immunohistochemie des Granulationsgewebes nach Distanzosteosynthese der Kaninchentibia II. NOS II und beta-Aktin markieren zelluläre Differenzierungsschritte der Osteogenese
Osteologie **(13)** p.:13-23.

HUKKANEN, M., KONTTINEN, YT., SANTAVIRTA, S., PAAVOLAINEN, P., GU, XH., TERENGHI, G., POLAK, JM. (1993): Rapid proliferation of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves during healing of rat tibial fracture suggests neural involvement in bone growth and remodelling
Neuroscience **(54)** p.: 969-979.

HUSSAIN S.T. (1997): Blood flow measurements in lower limb arteries using duplex ultrasound
Ann R Coll Surg Engl. **(79/5)** p.:323-330.

IMAI, S., MATSUSUE, Y. (2002): Neuronal regulation of bone metabolism and anabolism: calcitonin gene-related peptide-, substance P-, and tyrosine hydroxylase-containing nerves and the bone
Microsc. Res. Tech. **(58)** p.:61-69.

IVERSEN, PO. (1997): Blood flow to the haemopoietic bone marrow
Acta Physiol. Scand. **(159)** p.: 269-276.

IWASAKI A., INOUE K., HUKUDA S. (1995): Distribution of neuropeptide-containing nerve fibers in the synovium and adjacent bone of the rat knee joint
Clin Exp Rheumatol **(13/2)** p.: 173-178.

JIAN LI, KREICBERGS A., BERGSTRÖM J., STARK A., AHMED M. (2007): Site-specific CGRP innervation coincides with bone formation during fracture healing and modeling: a study in rat angulated tibia
Journal of Orthopaedic Research **(25)** Issue 9., p.: 1204-1212.

KANA Mukai-Higashihori, DDS,* YOSHIYOUKI Baba, DDS, PhD,†
AKEMI Tetsumura, DDS, PhD,‡ MICHIKO Tsuji, DDS, PhD,§
TAKASHI Ishizaki, DDS, NORIHISHA Higashihori, DDS, PhD,¶
NAOTO Ohbayashi, DDS, PhD,# TOHRU Kurabayashi, DDS, PhD,**
SHOICHI Suzuki, DDS, PhD,†† and KIMIE Ohyama, DDS, PhD‡‡
(2008):Ultrasonographic Assessment of New Bone Formation in Maxillary Distraction Osteogenesis
J Oral Maxillofac Surg **(66):** p.:1750-1753

KASTRUP J., BÜLOW J., LASSEN N.A. (2008): A comparison between 133 Xe washout technique and laser Doppler flowmetry in the measurement of local vasoconstrictor effects on the microcirculation in subcutaneous tissue and skin
Clinical Pharmacology and Functional Imaging **(7)** Issue 5., p.: 403-409.

KAZUHARU IRIE, FUMIKO HARA-IRIE, HIDEHIRO OZAWA, TOSHIHIKO YAJIMA (2002): Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-containing nerve fibers in bone tissue and their involvement in bone remodeling

Microscopy Research and Technique **(58)** Issue 2., p.: 85-90.

KÁDAS I., MAGYARI Z., VENDÉGH ZS., GLOVICZKI B. (2008): Changing the treatment to reduce complication rate in open tibial fractures
International Orthopaedics, DOI 10.1007/s00264-008-0670-4, Original paper

KIAER T., DAHL B., SCHWARZ LAUSTEN G. (2005): The relationship between inert gas wash-out and radioactive tracer microspheres in measurement of bone blood flow: Effect of decreased arterial supply and venous congestion on bone blood flow in an animal model
Journal of Orthopaedic Research **(11)** Issue 1., p.: 28-35.

KIRKEBY O.J., NORDSLETTEN L., SKJEDAL S., LARSEN T. B. (1994): Circulation in corticocancellous bone grafts measured with laser doppler flowmetry
Scand J plast reconstr hand surg **28**: p.: 249-254

KIYOYUKI SHICHINO, TOKIHITO YUKIMURA, KATSUYUKI MIURA, KEJIRO YAMAMOTO, MAMORU OKUBO AKIRA SHIMAZU (2006): Regional blood flow in skeletal muscle measured by the heated thermocouple method during electrical nerve stimulation of the canine gracilis muscle
The Tohoku Journal of Experimental Medicine **(164)** No 2., 145-146.

KLUG von W (1986): Angiographische Darstellung der Markraum- und Kallusgefässe während der sekundären Knochenbruchheilung – tierexperimentelle untersuchungen
Z. exp. Chir. Transplant künstl. Organe (19) Heft 1

KONTTINEN, Y., IMAI, S., SUDA, A. (1996): Neuropeptides and the puzzle of bone remodeling State of the art
Acta Orthop. Scand. **(67)** p.: 632-639.

LADÁNYI J., FÖLDES I., TASNÁDY L. (1965): Blood supply of the callus after intramedullary nailing
Acta chir. hung. tomus VI.

LADEFOGED J., PEDERSEN F., DOUTHEIL U., DEETJEN P., SELKURT E. E. (1965): Renal blood flow measured with xenon-133 wash-out technique and with an electromagnetic flowmeter
Pflügers Archiv European Journal of Phsiology **(284)** p.: 195-200.

LARSEN M., PELZER M., FRIEDRICH P. F., BISHOP A. T. (2008): Measurement of blood flow using hydrogen washout technique – part II: Validation by comparison to microshere entrapment
Journal of Orthopaedic Research **(26)** Issue 6., p.: 746-752.

LAUSTEN, GS., KIAER, T., DAHL, B. (1993): Laser Doppler flowmetry for estimation of bone blood flow: studies of reproducibility and correlation with microsphere technique
J. Orthop. Res. **(11)** p.: 573-580.

LEIDIG E. (1987): Pulsed Doppler ultrasound blood flow measurements in the superior mesenteric artery of the newborn
Pediatric Radiology **(19)** number 3., p.: 169-172.

LOUPAS T., POWERS J.T., GILL R.W. (1995): An axial velocity estimator for ultrasound blood flow imaginig, based on a full evaluation of the Doppler equation by means of a two-dimensional autocorrelation approach
Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions **(42)** Issue 4. p.: 672-688.

LUNDGAARD, A., AALKJAER, C., BJURHOLM, A., MULVANY, MJ., HANSEN, ES. (1997): Vasorelaxation in isolated bone arteries. Vasoactive intestinal peptide, substance P, calcitonin gene-related peptide, and bradykinin studied in pigs
Acta Orthop. Scand. **(68)** p.:481-489.

MACHENS H. G., MAILAENDER P., RIECK B., BERGER A. (2005): Techniques of postoperative blood flow monitoring after free tissue transfer: an overview
Microsurgery **(15)** Issue 11., 778-786.

MACPHERSON H., KEIR P., WEBB S., SAMUEL K., BOYLE S., BICKMORE W., FORRESTER L., DORIN J. (2005): Bone marrow-derived SP cells can contribute to the respiratory tract of mice in vivo
Journal of Cell Science **(118)** p.: 2441-2450.

MAKI Y., FIRRELL J. C., WARREN C. (1997): Blood flow in mobilized nerves: Results in a rabbit sciatic nerve model
Plastic and Reconstructive Surgery **(100/3)** p.: 627-633.

MAKOTO INOUE, MASAYOSHI MISHINA, HIROSHI UEDA (2000): Enhanced nociception by exogenous and endogenous substance P given into the spinal cord in mice lacking NR_2A $/_1$, an NMDA receptor subunit
British Journal of Pharmacology **(129)** p.: 239-241.

McDONALD, F., PITT FORD, TR. (1994): The effect of blood flow on the material properties of bone
Ann. Biomed. Eng. **(22)** p.: 194-201.

MELLY A., VENDÉGH ZS., TÓTH B., FARKAS T., WOLF K., HAMAR J. (2002/a): Role of neuropeptides in the regulation of bone healing under normal conditions and in bone replacement
Osteo Trauma Care **(10)** p.: 51-52.

MELLY A., HAMAR J., FARKAS T. (2002/b): Role of innervation in the regulation of bone healing under normal conditions and in bone replacement
Eur J Trauma **(28. Suppl.)** 1. 176.

MUNCHI S. CHOKSEY, IAIN R. CHAMBERS, YENKINS A., MENDELOW A. D., SENGUPTA R. P. (1993): Cortical thermal clearance monitoring in surgery for a giant middle cerebral artery aneurysm
British Journal of Neurosurgery **(7)** Issue 6., 673-676.

NÖTZLI H. P., SWIONTKOWSKI M. F., THAXTER S. T., CARPENTER G. K., WYATT R. (2005): Laser Doppler flowmetry for bone blood flow measurements: helium-neon laser light attenuation and depth of perfusion assessment
Journal of Orthopaedic Research **(7)** Issue 3., p.: 413-424.

ONI O. O. A., PRINGLE S. (1993): Vessel-like structures in the callus acrtilage
Injury, 24 **(8),** p.:555-556

OVERBECK H. W., WOLTHUIS R. A. (1970): Continuous infusion indicator-dilution measurement of blood flow in the dog forelimb
Journal of Applied Physiology **(29)** p.: 67-70.

PELLETIER L., ANGONIN R., REGNARD J., FELLMANN D., CHARBORD P. (2002): Human bone marrow angiogenesis: in vitro modulation by substance P and neurokinin
A *British Journal of Haematology* **(119)** Issue 4., p.: 1083-1089.

POELMA D. L. H., ZIMMERMANN L. J., VAN CAPPELLEN W. A., HAITSMA J. J., LACHMANN B., VAN IWAARDEN J. F. (2004): Distinct effects of SP-B and SP-C on the uptake of surfactant-like liposomes by alveolar cells in vivo and in vitro
Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **(287)** p.: 1056-1065.

ROBERTSON W. W., JANSSEN H. F., WALKER N. R. (2005): Passive movement of radioactive microspheres from bone and soft tissue in an extremity
Journal of Orthopaedic Research **(3)** Issue 4., p.: 405-411.

SHYMKIW R. C., ZERNICKE R. F., FORRESTER K. R., BRAY R. C. (2001): Evaluation of laser Doppler perfusion imaging for measurement of blood flow in cortical bone
Journal of Applied Physiology **(90)** Issue 4., p.: 1314-1318.

SONNTAG B. V., MURPHY R. X., CHERNOFSKY M. A., CHOWDARY R. P., KASABIAN A. K., PRIBAZ J. J. (1995): Microvascular steal phenomenon in lower extremity reconstruction
Annals of Plastic Surgery **(34)** Nr. 3, p.: 336-340.

SUN SHIK SHIM, COPP H., PATTERSON F. P. (1967): An indirect method of blood-flow measurement based on the bone clearance of a circulating bone-seeking radioisotope
Journal of Bone and Joint Surgery **(49)** p.: 693-702.

SWIONTKOWSKI, M. F., TEPIC, S., PERREN, SM., MOOR, R., GANZ, R., RAHN, BA. (1986): Laser Doppler flowmetry for bone blood flow measurement: correlation with microsphere estimates and evaluation of the effect of intracapsular pressure on femoral head blood flow
J. Orthop. Res. **(4)** p.: 362-371.

SWIONTKOWSKI, MF., SCHLEHR, F., COLLINS, JC., SANDERS, R., POU, A. (1988): Comparison of two laser Doppler flowmetry systems for bone blood flow analysis
Calcif. Tissue Int. **(43)** p.:103-107.

SWIONTKOWSKI M.F.(1991): Laser Doppler flowmetry – Development and clinical application
Iowa Orthop J **(11)** p.: 119-126.

THURSTON T. J. (1982): Distribution of nerves in long bones as shown by silver impregnation

J Anat **(134-Pt 4)** p.: 719-728

TONDEVOLD, E. (1983): Haemodynamics of long bones. An experimental study on dogs.
Acta Orthop. Scand. Suppl. **(205)** p.: 9-48.

TONNESEN J., PRYDS A., LARSEN. E. H., PAULSON O.B., HAUERBERG J., KNUTSEN G. M. (2005): Laser Doppler flowmetry is valid for measurement of cerebral blood flow autoregulation lower limit in rats
Experimental Physiology **(90.3)** p.:349-355.

TOTHILL P., MacPHERSON J. M. (1980): Limitations of radioactive microspheres as tracers for bone blood flow and extraction ratio studies
Calcified Tissue InternationalI **(31):** Number 1, 1980 December

TÓTH B., WOLF K., VENDÉGH ZS., FARKAS T., HAMAR J. (2000/a): Effects of neuropeptides and bone grafting on the microcirculation of the callus in rabbits
Joint Meeting Hungarian Physiological Society, Budapest, 2000

TÓTH B., WOLF K., VENDÉGH ZS., FARKAS T., HAMAR J. (2000/b): Effects of neuropeptides and bone grafting on the microcirculation of the callus in rabbits
J. Physiol. **(526)** p: 125.

TURCHÁNYI B., B.TÓTH, I. RÁCZ, Z. VENDÉGH**,** J. FŰRÉSZ, J. HAMAR (2005): Ischemia-Reperfusion Injury of the Skeletal Muscle after Selective Deafferentation
Physiol. Res. (**54**) 25-31. 2005.

B TURCHÁNYI, B TÓTH, Z VENDÉGH**,** J HAMAR (2002): Capsaicine pretreatment beneficially influences reperfusion injury of the skeletal muscle.
Acta Physiol Hung **(89)** 70. 2002.

VAN DIL LA M. A., SPALDING J. F. (1967): Erythrocyte volume distribution during recovery from bone marrow arrest
Nature **(213)** p.: 708-709.

VENDÉGH Zs., WOLF K., PETHES Á., FARKAS T., HAMAR J. (1999/a): Vazoaktív anyagok és neuropeptidek hatása a képződő kallusz mikrocirkulációjára
Magyar Traumatológia, Ortopédia XLII. Suppl. **1:157**, 1999

VENDÉGH Zs., PETHES Á., WOLF K., JÓZAN J., HAMAR J. (1999/b): A csontvelő véráramlásának detektálása és értékelése lézer-Doppler mérőműszerrel nyúl femuron és tibián vazokatív szerek hatására
Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet **(42.5)** 1999

VENDÉGH, Zs., HAMAR, J., WOLF, K., MELLY, A. (2005/a): Reaktionen diaphysärer Kallusgefäße des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen nach Spaltosteotomie der Tibia: eine Laser-Doppler-Flowmetrie-Studie
European Surgery Acta Chirurgica Austriaca **(2005, vol. 37.)** Supplement 203. p: 109.

VENDÉGH, Zs., HAMAR, J., WOLF, K., MELLY, A. (2005/b).: Reaktionen diaphysärer Kallusgefäße des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen
European Surgery Acta Chirurgica Austriaca **(2005, vol. 37.)** Supplement 203. p: 131.

VENDÉGH Zs. MD, A. MELLY MD, B. TÓTH MD PhD, K. WOLF MD [1],T. FARKAS MD PhD, KÁDAS I., MD, HAMAR J. MD PhD (2009)**:** Effects of neuropeptides and vasoactive substances on the microcirculation of the callus after tibia-osteotomy in rabbits
Acta Veterinaria Hungarica (**2009, vol. 57**, közlésre elfogadva, megjelenés alatt)

WILKES CH., VISSCHER M. B. (1975): Some physiological aspects of bone marrow pressure
The Journal of Bone and Joint Surgery Am **(57)** p.: 49-57.

WOLF, K., HÖCHERL, EFJ. (1997): Vorkommen und Dynamik peptiderger Nervenfasern im Granulationsgewebe nach Distanzosteosynthese der Kaninchentibia (in German)
Osteologie **(6)** p.: 161-169.

WOLF, K., HÖCHERL, EFJ., FARKAS, T., PFISTER, C. (2001): Expression and dynamics of peptidergic nerve fibres in granulation tissue after distance osteosynthesis
Unfallchirurg p.: 948-954.

WOLF, K., HAMAR, J., HÖCHERL, E., PFISTER, C. (2004): Morphometric analyses of the kinetics of vascular and neural ingrowth into the interfragmental gap following osteotomy
Applied Cardiopulmonary Pathophysiology **(12)** 1-9.

YASUHIRO SHIBATA, BUNZO KASHIWAGI, YOSHIHIRO ONO, YOSHITATSU FUKABORI, KAZUHIRO SUZUKI, SEIJIRO HONMA, HIDETOSHI YAMANAKA (2004): The evaluation of rat prostate blood flow using a laser speckle flowmetry: a comparative study using the microsphere method in castrated and androgen-replenished rats
Urological Research **(32)** number 1, p.: 44-48.

YOSHIO MISHIMA, HIROSHI SHIGEMATSU, YOSHIAKI HORIE, MASHANORI SATOH (1979): Measurement of local blood flow of the intestine by hydrogen clearance method; experimental study
Japanese Journal of Surgery **(9)** No. 1., p.: 63-70.

ZAIDI M., BREIMER L. H., MacINTYRE I. (1987): Biology of peptides from the calcitonin genes
Q J Exp Physiol **(72)** p.: 371-408

ZHU, W., DIWAN, AD., LIN, JH., MURRELL, GA. (2001): Nitric oxide synthase isoforms during fracture healing

J. Bone Miner. Res. p.: 535-540.

ZHU, W., MURRELL, GA., LIN, J., GARDINER, EM., DIWAN, AD. (2002): Localization of nitric oxide synthases during fracture healing
J. Bone Miner. Res. p.: 1470-1477.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1. A témával összefüggő közlemények:

1. **Zs. VENDÉGH MD**, A. MELLY MD, B. TÓTH MD PhD, K. WOLF MD [1],T. FARKAS MD PhD, I. KÁDAS MD, J. HAMAR MD PhD**:** Effects of neuropeptides and vasoactive substances on the microcirculation of the callus after tibia-osteotomy in rabbits

Acta Veterinaria Hungarica (2009, vol. 57, közlésre elfogadva, megjelenés alatt)

2. **VENDÉGH Zs**., WOLF K., PETHES Á., FARKAS T., HAMAR J. (1999/a): Vazoaktív anyagok és neuropeptidek hatása a képződő kallusz mikrocirkulációjára
Magyar Traumatológia, Ortopédia XLII. **Suppl**. **1:157**

3. **VENDÉGH Zs.,** PETHES Á., WOLF K., JÓZAN J., HAMAR J. (1999/b): A csontvelő véráramlásának detektálása és értékelése lézer-Doppler mérőműszerrel nyúl femuron és tibián vazokatív szerek hatására
Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet **(vol.: 42.5)**

4. **VENDÉGH Zs**.: HAMAR J., WOLF K., MELLY A. (2005): Reaktionen diaphysärer Kallusgefäße des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen nach Spaltosteotomie der Tibia: eine Laser-Doppler-Flowmetrie-Studie
European Surgery Acta Chirurgica Austriaca **Vol. 37**. Supplement 203.
p.: 109.

5. **VENDÉGH Zs.,** HAMAR J., WOLF K., MELLY A. (2005): Reaktionen diaphysärer Kallusgefäße des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen
European Surgery Acta Chirurgica Austriaca **Vol. 37.** Supplement 203.
p.: 131. 2005.

6. A MELLY, **Zs VENDÉGH**, B TÓTH, T FARKAS, K WOLF, J HAMAR (2002): Role of neuropeptides in the regulation of bone healing under normal conditions and in bone replacement
Osteo Trauma Care **10:** p**.:** 51-52

7. A. MELLY, **Zs. VENDÉGH,** I. BAGI, J. HAMAR, T. FARKAS (2005): Effect of bone replacement on the vascular reactions and biomechanics following gap osteotomy: an experimental study
European Surgery Acta Chirurgica Austriaca **Vol. 37**. Supplement 203. p.:110.

8. TÓTH B., WOLF K., **VENDÉGH Zs**., FARKAS T., HAMAR J. (2000): Effects of neuropeptides and bone grafting on the microcirculation of the callus in rabbits
J. Physiol. **(vol.: 526)** p.: 125.

9. TURCHÁNYI B., B.TÓTH, I. RÁCZ, **Z. VENDÉGH,** J. FŰRÉSZ, J. JAMAR (2005): Ischemia-Reperfusion Injury of the Skeletal Muscle after Selective Deafferentation
Physiol. Res. **54**. p.: 25-31.

10. B TURCHÁNYI, B TÓTH, **Z VENDÉGH,** J HAMAR (2002): Capsaicine pretreatment beneficially influences reperfusion injury of the skeletal muscle.
Acta Physiol Hung. **89.** 70.

10.2. A témával összefüggő előadások:

1. **Zs. VENDÉGH**, A. MELLY, K. WOLF, Á. PETHES, B. TÓTH, J. JÓZAN, T. FARKAS, J. HAMAR (2003):
Effects of neuropeptides and vasoactive substances on the microcirculation of the developing callus in rabbit tibiae
GKK, Budapest

2. **VENDÉGH Zs**., HAMAR J., WOLF K., MELLY A. (2005) : Reaktionen diaphysärer Knochenmarks-gefäße in Femur und Tibia des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen und Neuropeptide: eine Laser-Doppler-Flowmetrie-Studie
Österreichischer Chirurgenkongress, Wien, 2005. 05. 26.-28.

3. **VENDÉGH Zs.,** HAMAR J., WOLF K., MELLY A. (2005): Reaktionen diaphysärer Kallusgefäße des Kaninchens auf vasoaktive Substanzen nach Spaltosteotomie der Tibia: eine Laser-Doppler-Flowmetrie-Studie
Österreichischer Chirurgenkongress, Wien, 2005. 05. 26.-28.

4. Pethes Á., Wolf K., Józan J., **Vendégh Zs.,** Hamar J. (1998): Lézer doppler alkalmazása a csontvelőüreg mikrocirkulációjának mérésére
MÉT Vándorgyűlés, Debrecen, 1998.

5. MELLY A., **VENDÉGH Zs.,** TÓTH B., FARKAS T., WOLFK., HAMAR J.(2004): Role of neuropeptides in the Regulation of Bone Healing under Normal conditions and Bone replacement.
6th European Trauma Congress, Prága, 2004. május 16-19.

6. FARKAS T., *WOLF K., MELLY A., **VENDÉGH Zs**., Hamar J. (2004): A

csonttörések gyógyulásának élettana
Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, *Krankenhaus München-Schwabing, Germany
MTT Kongresszusa, Balatonfüred, 2004. szeptember 23-25.

7. FARKAS T., WOLF K., MELLY A., **VENDÉGH Zs.** (2004): A kalluszképződés dinamikája kísérletes modellben
Magyar Traumatológus Társaság Kongr., 2004. szeptember 23-25., Balatonfüred

8. MELLY A., J.HAMAR, I.BAGI, **Zs. VENDÉGH,** T. FARKAS (2004): Effect of bone replacement on the vascular reactions and biomechanics following gap osteotomy. An experimental study
6th European Trauma Congress, Prága, 2004. május 16-19.

9. MELLY A., **Zs.VENDÉGH**, I.BAGI, J.HAMAR, T. FARKAS (2005): Effect of bone replacement on the vascular reactions and biomechanics following gap osteotomy: an experimental study
Österreichischer Chirurgenkongress, Wien, 2005. 05. 26.-28.

10. B. TÓTH, K. WOLF, **Zs. VENDÉGH,** T. FARKAS, J. HAMAR (2000): Effect of neuropeptides and bone grafting on the microcirculation of the callus in rabbits.
Joint Meeting Hungarian Physiological Society

11. TÓTH B., WOLF K., **VENDÉGH Zs.,** FARKAS T., HAMAR J. (2000): Effects of neuropeptides and bone grafting on the microcirculation of the callus in rabbits
Joint Meeting Hungarian Physiological Society, Budapest

10.3. A tudományos munkásságot megalapozó közlemények

1. MANNINGER J., KAZÁR Gy., FEKETE K., LACZKÓ T., **VENDÉGH Zs.** (1992): Sürgősséggel végzett stabilabb osteosynthesis jelentősége a combnyaktörés szövődményeinek megelőzésében
   Magyar Traumatológia, Orthopédia **4**. p.:81-84.
2. LACZKÓ T., CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs**., KAZÁR Gy., MANNINGER J. (1992): Combnyaktáji törés – a kezelés megválasztása
   Magyar Traumatológia, Orthopédia 35. p.: 93-101.
3. FEKETE K., SALACZ T., MANNINGER J., KAZÁR Gy., GYÁRFÁS F., LACZKÓ T., CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs**. (1992): A combnyaktörés osteosynthesise két cannulált (furatos) csavarral
   Magyar Traumatológia, Orthopédia 35. 141-148.
4. CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs**., BODZAY T., KAZÁR Gy., LACZKÓ T., MANNINGER J. (1992): A combnyaktáji törés utáni rehabilitáció hazai problémái és a fejlesztés lehetőségei
   Magyar Traumatológia, Orthopédia 35. 149-154.
5. MANNINGER J., KAZÁR Gy., FEKETE K., **VENDÉGH Zs.** (1993): Weitere Ergebnisse der dringlichen Osteosynthesen bei Schenkelhalsfrakturen, Senkung des prozentuellen Anteils der Knopfnekrosen – Bedeutung der 6 Stunden-Grenze
   Hefte zur Unfallchirurgie 230. 365-369.
6. KAZÁR Gy., LACZKÓ T., **VENDÉGH Zs.** (1993): A combnyaktáji töröttek sorsa – a betegek követésének jelentősége és problémája
   Orvosképzés **68.** 289-293.
7. LACZKÓ T., CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs.,** KAZÁR Gy., MANNINGER J. (1993): Combnyaktáji töröttek rehabilitációjának egyéves tapasztalata
   Magyar Traumatológia, Orthopédia **36.** 365-371.
8. FRENYÓ S., RENNER A., TÓTH E., **VENDÉGH Zs.** (1997)**:** Primaere operative Stabilisierung der Frakturen der langen Röhrenknochen als Teil des Polytrauma – Management; kann es in jedem Spital gewaehrleistet werden?
   Acta Chirurgica Austriaca 1997. **29. Suppl.** 130:95.

9. HARGITAI E., VÁNKOS Z., **VENDÉGH Zs.,** RENNER A. (1997): Besondere Epiphysenverletzungen
Unfallchurgie **23.** 193-199. (Nr.5)

10. FRENYÓ S., SZITA J., RENNER A., **VENDÉGH Zs**., BODZAY T. (1997): Satisfactory results with uncemented hip replacement using a new generation of threaded cups: A clinical and radiological survey of 130 cases.
Inernational J. Artificial Organs, Budapest, 1997. 20:512.

11. HARGITAI E., FEKETE K., **VENDÉGH Zs.** (1998): Osteotomien Wegen inveterierter Monteggiaverletzungen im Kindesalter
Acta Chirurgica Austriaca, Supplement Nr.140.7.

12. J HAMAR, B TURCHÁNYI B TÓTH, **Z VENDÉGH** (2002): Reperfusion injury of the skeletal muscle is beneficially influenced by selective deafferenetation.
Shock **18. Suppl. 10**.

13. J HAMAR, B TURCHÁNYI, B TÓTH, **Z VENDÉGH** (2002): Selective deafferenetation with capsaicin beneficially influences reperfusion injury of the skeletal muscle.
Physiological Research **51:** 75.

14. FLÓRIS I., MARTSA B., SZITA J., KECSKEMÉTI Á., **VENDÉGH Zs:** Tomportáji törések összehasonlító klinikai vizsgálata: extra- vagy intramedullaris rögzítés?
Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet (megjelenés alatt)

15. I. KÁDAS, Z. MAGYARI, **Z. VENDÉGH**, B. GLOVICZKI (2008): Changing the treatment to reduce complication rate in open tibial fractures
International Orthopaedics, **DOI 10.1007/s00264-008-0670-4,** Original paper

16. SZITA J., KÁDAS I., **VENDÉGH Zs**. (2008): Application of nanocrystalline titanium in the bone surgery.
Eur. J. Trauma Emerg. Surg. **34. Suppl. 1.**

17. KÁDAS I., SZITA J., HANGODY L., **VENDÉGH Zs.,** KÁDAS D. (2008): Potential applications of the HLS-family in bone surgery.
Eur. J. Trauma Emerg. Surg. **34. Suppl. 1.**

18. FLÓRIS I., MARTSA B., SZITA J., KECSKEMÉTI Á, **VENDÉGH Zs. (1999)**: Tomportáji törések összehasonlító klinikai vizsgálata: extra- vagy intramedullaris rögzítés?
Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai sebészet 2005/4

19. TÓTH B., **VENDÉGH Zs**., HAMAR J. (1999): A perifériás és csontvelői vérből származó granulocita (PMNL) funkciók összehasonlítása.
Magyar Traum. **Suppl.**

10.4. A tudományos munkásságot megalapozó előadások

1. **VENDÉGH Zs**., TASNÁDI L., FRENYÓ S. (1997): Kétoldali pilontörés ellátási taktikája
   Fiatal Traumatológusok Fóruma, **1997, Győr, első díj**
2. MANNINGER J., KAZÁR Gy., FEKETE K., LACZKÓ T., **VENDÉGH Zs.** (1991): Sürgősséggel végzett stabilabb osteosynthesis jelentősége a combnyaktörés szövődményeinek megelőzésében
   V. Nemzetközi Traumatológus Kongresszus Debrecen, 1991. augusztus 29-31.
3. MANNINGER J., KAZÁR Gy., FEKETE K., **VENDÉGH Zs.** (1991): Weitere Ergebnisse der dringlichen Osteosynthesen bei Schenkelhalsfrakturen, Senkung des prozentuellen Anteils der Knopfnekrosen – Bedeutung der 6 Stunden-Grenze
   VI. Deutsch-Österreichisch-Schweizerische Unfalltagung, Wien, 1991. május 21-25.

4. CSERHÁTI P., FEKETE K., **VENDÉGH Zs**. (1992): Ambulánsan kezelhető könyöktáji törések
Magyar Traumatológus Társaság Vándorgyűlése Veszprém, 1992. május 7-9.

5. CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs.** (1992): A beékelt combnyaktörés osteosynthesise
Fiatal Traumatológusok Fóruma Bükfürdő, 1992. szeptember 24-26.

6. LACZKÓ T., CSERHÁTI P., **VENDÉGH Zs.** (1992): Posthospitalis rehabilitáció jelentősége a femur proximális vég törései után
Fiatal Traumatológusok Fóruma Bükfürdő, 1992. szeptember 24-26.

7. KURUCZ L., SZITA J., **VENDÉGH Zs**. (1994): Retrospektive Analyse polytraumatisierter Beckenverletzen an Hand von 66 Patienten
Zentraleuropaeischer Unfallkongress, Budapest 1994. május 4-7.

8. HANKISS J., SALACZ T., **VENDÉGH Zs.,** STOCK W. (1995): Revaskularisation und Knochenersatz bei Hüftkopfnekrosen mit gefäßgestielter Knochentransplantation
10. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Osteologie
Knochenfraktur, Defekt, Infekt, München, 16-18. März 1995.

9. KURUCZ L., SALACZ T., BAKTAI J., **VENDÉGH Zs**. (1995): Diagnostik der Rupturen des vorderen Kreuzbandes (Klinische Untersuchung, Arthroskopie)
Brno 1995. június 17.

10. FRENYÓ S., VARGA I., **VENDÉGH Zs.** (1996): Hosszú csöves csontok töréseinek *primaer műtéti ellátása*
Magyar Traumatológus Társaság Kongresszusa, Szeged, 1996. 09.19-21.

11. MANNINGER J., KAZÁR Gy., FEKETE K., LACZKÓ T., **VENDÉGH Zs.** (1995): Sürgősséggel végzett stabilabb osteosynthesis jelentősége a combnyaktörés szövődményeinek megelőzésében
Aktuális kérdések Gyermektrauma, Piremon 1995.

12. HANKISS J., SALACZ T., **VENDÉGH Zs.,** STOCK W. (1995): Revaskularisation und Knochenersatz bei hüftkopfnekrosen mit gefäßgestielter Knochentransplantation
Osteologie, Band 4. 1995. **Supplement 1**.p.: 80.

13. TASNÁDI L., DETRE Z., HANKISS J., **VENDÉGH Zs.** (1997): Súlyos lágyrészkárosodással járó nyílt pilontörés ellátási taktikája
Magyar Traumat. Társaság VI. Nemzetközi Kongresszusa, Budapest, 1997. 05.8-10.

14. FRENYÓ S., RENNER A., TÓTH E., **VRNDÉGH Zs. (1997):** Primaere operative Stabilisierung der Frakturen der langen Röhrenknochen als Teil des Polytrauma – Management; kann es in jedem Spital gewaehrleistet werden?
38. Tagung der Österreichischen Gesellschaft für Unfallchirurgie und Assoziierten Fachgesellschaften, Innsbruck Congress, 1997. május 29-31.

15. FRENYÓ S., SZITA J., RENNER A., **VENDÉGH Zs**., Bodzay T. (1997): Satisfactory results with uncemented hip replacement using a new generation of threaded cups.
Congress of the Inernational Society of Artificial Organs, Budapest, 1997. október 16-18.

16. FEKETE K., MANNINGER J., SALACZ T., **VENDÉGH Zs**. (1997): Osteosynthesis with cannulated femoral neck screws in femoral neck fractures. Surgical technique- the Budapest technique.
V. Osteosynthesis Symposium, Krynica (Lengyelország) 1997. május 22-24.

17. KECSKEMÉTI Á., SZITA J., VÁNKOS Z., **VENDÉGH Zs.** (1998): Osteotomy of the tibia in the tratment of severely comminuted fracture of the talus
3rd European Traumatology Congress Amsterdam, 17-20.06. 1998.

18. TASNÁDI L., SASHEGYI M., **VENDÉGH Zs**., ÁRVA G.(1998): Szemléletváltozás a pilontörések kezelésében
Szlovák Traumat. Társaság Nemzetközi Kongresszusa 1998.

19. J HAMAR, B TURCHÁNYI, B TÓTH, **Z VENDÉGH** (2002): Deafferentation of the skeletal muscle beneficially influences the reperfusion injury.
3d International workshop on oxidative stress in ischemia-reperfusion injury. Barcelona May 10-11. 2002.

20. FLÓRIS I., FARKAS T., MARTSA B., KECSKEMÉTI Á., **VENDÉGH Z**. (2004): Behandlung der pertrochantären Frakturen bei älteren Patienten: extra- oder intramedulläre Stabilisierung?
Treatment of trochanteric fractures in elderly patients: extra- or intramedullary stabilisation?
ÖGU 40. Jahrestagung, 7-9. Oktober 2004., Salzburg (Abstrakt)

21. FLÓRIS István, MARTSA Balázs, **VENDÉGH Zsolt,** BODZAY Tamás (2004): Tomportáji törések összahasonlító biomechanikai vizsgálata: extra- vagy intramedullaris rögzítés?
Magyar Traumatológus Társaság Kongresszusa, Balatonfüred, 2004. 09. 23-25.

22. FLÓRIS I., BAKTAI J., LACZKÓ T., **VENDÉGH Zs.** (2005): Friss, Garden III-IV-es típusú combnyaktörés ellátása: synthesis vagy prothesis?
Magyar Traumatológus Társaság Kongresszusa, Pécs, 2005.09.8-10.

23. KECSKEMÉTI Á., SZITA J., FÉNYES L., MELLY A., **VENDÉGH Zs.** (2005): Distalis tibia osteotomia és calcaneocruralis desis a posttraumás talusnecrosis kezelésében
Magyar Ortopéd Társaság Kongresszusa 2005. június 9-12. Salgótarján-Galyatető

24. MELLY A., T. FARKAS, C. SZÁNTAY, J. HAMAR, Zs., I. BAGI, **Zs. VENDÉGH** (2005): Versorgung von Impressionsfrakturen des Tibiacondyls mit minimal invasiven chirurgischen Methoden
Österreichischer Chirurgenkongress Wien 2005. 05.26-28.

25. FLÓRIS István, KÁDAS István, **VENDÉGH Zsolt**, RENNER Antal (2005): Behandlung osteoporotischer Frakturen des distalen Radius mit winkelstabiler Platte

46. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Handchirurgie, 12-15, 10. 2005, Jena

26. KÁDAS István, FLÓRIS István, **VENDÉGH Zsolt,** RENNER Antal (2005): Prinzipien und Ergebnisse des Radius-Fixateurs
46. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Handchirurgie, 12-15, 10. 2005, Jena

27. J. SZITA, I. KÁDAS, **Zs. VENDÉGH** (2007): Application of nanocrystalline titanium in the bone surgery
9th European Congress of Trauma and Emergeny Surgery May 24-27, 2007, Budapest

28. KÁDAS I. - Prof. A. RENNER– I. FLÓRIS – A. SZENTIRMAI – **Zs. VENDÉGH** (2005):
Prinzipien und Ergebnisse des Radius-Fixateurs, Jéna DGH 2005

29. I. FLÓRIS, J. BAKTAI, **Zs. VENDÉGH,** T. BODZAY, P. CSERHÁTI (2008): Treatment of the Intracapsular Femoral Neck Fracture: Osteosynthesis or Arthroplasty?
Estes Congress 2008. május, Budapest

30. FLÓRIS István, MARTSA Balázs, **VENDÉGH Zsolt**, BODZAY Tamás (2004): Tomportáji törések összahasonlító biomechanikai vizsgálata: extra- vagy intramedullaris rögzítés?
Magyar Traumatológus Társaság 2004. évi kongresszusa, Balatonfüred, 2004. 09. 23-25.

31. FLÓRIS I., FARFKAS T., MARTSA B., KECSKEMÉTI Á., **VENDÉGH Z.** (2004):
Behandlung der pertrochantären Frakturen bei älteren Patienten: extra- oder intramedullären Stabilisation?
Österreichische Gesellschaft für Unfallchirurgie 40. Jahrestagung 7-9 Oktober

2004, Salzburg

32. István FLÓRIS, Zoltán MAGYARI, **Zsolt VENDÉGH**, Balázs MARTSA (2005):
Operative Treatment of Trochanteric Fractures: Extra- or Intramedullary Stabilisation?
Szlovák Traumatológus Társaság 2005. évi kongresszusa, Pozsony, 2005. november 24-25

33. I. FLÓRIS, J. BAKTAI, T. LACZKÓ, **Z. VENDÉGH,** T. BODZAY (2006):
Treatment of intracapsular femoral neck fracture
7th European Trauma Congress, May, 14-17 2006. Ljubljana, Slovenia

11. Köszönetnyilvánítás

A szerző köszönetet mond programvezetőjének, Prof. Dr. Szendrői Miklósnak és témavezetőjének, Dr. Hamar János PhD. egyetemi magántanárnak fáradhatatlan szakmai segítségükért és együttműködésükért. Megköszöni továbbá Józan Jolán, Oberfrank Szilvia, Urbán Mária és Kárpáti Gábor szakértő gyakorlati segítségét, melyet a kísérletek szervezése, technikai kivitelezése és a számítógépes adatfeldolgozás során nyújtottak. Ugyancsak köszönettel tartozik a hajdani Országos Baleseti és Sürgősségi Intézetnek (ma Péterfy Sándor Utcai Kórház és Rendelőintézet, Baleseti Központ) a kísérletek technikai hátterének biztosításáért, továbbá a doktori képzés anyagi támogatásáért. Köszönet illeti a házi védésre felkért opponenseket, Dr. Sárváry András professzor urat és Dr. Nádasy György docens urat, akik szakértő véleményükkel segítettek az értekezés jobbá tételében és végleges formájának kialakításában. Ugyancsak köszönet illeti mindazon kollégákat, akik a kísérletek elvégzése és a doktori képzés ideje alatt a szerző helyett a mindennapokban önzetlenül helytálltak, továbbá a SOTE Doktori Iskolájának vezetőségét megértő segítségükést és támogatásukért, ill. a Doktori Iskola valamennyi dolgozóját odaadó adminisztratív segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban, szeretném megköszönni családom minden tagjának a sok közvetlen segítséget, támogatást, a számtalan nehézségen átlendítő bíztatást és kifogyhatatlan türelmüket, amelyek nélkül ez a munka soha nem jöhetett volna létre.

A kutatást az OTKA (T043114) és az ETT (366/2003) támogatta.