

A gyermekkori disztális orsócsont törés kezelési lehetőségeinek retrospektív- és a csontgyógyulás vizsgálata állatkísérletes modellen

Doktori (Ph.D.) értekezés



Dr. Józsa Gergő

Témavezetők: Dr. Reglódi Dóra, egyetemi tanár
Dr. Juhász Tamás, egyetemi adjunktus

Programvezető: Dr. Reglódi Dóra, egyetemi tanár

Doktori iskola vezetője: Dr. Szekeres Júlia, egyetemi tanár

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai Intézet
Pécs, 2019.

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
1.1. A csontok anatómiája	6
1.2. Az ízületek általános jellemzői	7
1.3. A csontok szövettani felépítése	7
1.4. A csontok fejlődésének alapjai és a csontosodás folyamata	9
1.5. A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptidről általában	12
1.6. A törésgyógyulás molekuláris alapjai	16
2. Klinikai tanulmány	19
2.1. A csuklóízület anatómiája	19
2.2. Gyermekkori disztális alkar-törések jellemzői	21
2.3. Gyermekkori disztális alkar-törések klasszifikációja	23
2.4. Gyermekkori disztális alkar-törések kezelése	25
2.4.1. Konzervatív kezelés	25
2.4.2. Operatív kezelés	28
2.4.2.1. Tűződrótos oszteoszintézis	30
2.4.2.2. Dorzálisan bevezetett („Slongo-féle”) titán elasztikus velőűrszegezés	33
2.4.2.3. Rövid elasztikus velőűrszegezés.....	37
3. Célkitűzések	41
4. Anyagok és Módszerek	42
4.1. Állatkísérletes modell.....	42
4.1.1. Teljes hátsó végtag alizarin festés.....	42
4.1.2. Három pontos femur törésteszt	42
4.1.3. Törés modell.....	43

4.1.4. Micro-Computed Tomography (Micro-CT)	43
4.1.5. Fénymikroszkópos vizsgálat	44
4.1.6. RT-PCR.....	45
4.1.7 Western blot	46
4.1.8. Statisztikai analízis.....	48
4.2. Gyermekkori radius törés retrospektív vizsgálat.....	48
5. Eredmények.....	51
5.1. Állatkísérletes modell.....	51
5.1.1. A PACAP KO és a WT egerek femurjának vizsgálata	51
5.1.2. Törés modell.....	54
5.1.3. ALP expresszió a kalluszban	56
5.1.4. I-es típusú kollagén expresszió a kalluszban	58
5.1.5. BMP2,4,6 fehérjék expressziója	61
5.2. Klinikai tanulmány.....	64
6. Megbeszélés	70
7. Összefoglalás	77
8. Irodalomjegyzék	79
9. Ph.D. értekezés alapjául szolgáló saját és egyéb közlemények	93
9.1. Ph.D. értekezés alapjául szolgáló közlemények.....	93
9.1. Egyéb közlemények	93
10.Köszönetnyilvánítás	95

Rövidítések jegyzéke

Ca₅(PO₄)₃(OH): Kalcium foszfát hidroxapatit

AC: adenilát cikláz

ALP: alkalikus foszfatáz

ap: anteroposterior

BMD: bone mineral density

BMP: bone morphogenetic protein

BMPR: bone morphogenetic protein receptor

CCL2: chemokine ligand 2

cAMP: Cyclic adenosine monophosphate /ciklikus adenzin monofoszfát

cGMP: Cyclic guanosine monophosphate /ciklikus guanozin-monofoszfát

COX-2: cyclooxygenase-2 /ciklooxineáz-2

CREB: cAMP response element-binding protein / cAMP-reszponzív elem kötő fehérje

DNS: dezoxiribonukleinsav

DPP: dipeptidyl peptidáz

ECM: Extracelluláris mátrix

EDTA: Etilén-diamin-tetraecetsav

EPL: Extensor pollicis longus

ESIN: Elastic Stable Intramedullary Nailing /elasztikus stabil intramedulláris szegezés

FGF: fibroblast growth factor /fibroblaszt növekedési faktor

GIP: glucose-dependent insulinotropic polypeptide /szekretin és a glükóz-függő inzulinotróp polipeptid

Gli: glioma-associated oncogene /glioma asszociált onkogén

GLP: glucagon-like peptide /glükagonhoz hasonló peptid

GHRH: growth-hormone releasing hormone /növekedési hormont szabályozó hormon

HE: haematoxin eosin

HH: Hedgehog

IHH: Indian Hedgehog

IL-6: interleukin-6

K-drót: Kirschner-drót

KO: knock out

MAPK: Mitogen activated protein kinase /Mitogén aktivált protein kináz

micro-CT: Micro-Computed Tomography

mRNS: „messenger” ribonukleinsav

NFAT: Nuclear factor of activated T cells /T sejt aktivált nukleáris faktor

NSAID: Non steroid anti-inflammatory drug /non szteroid gyulladáscsökkentő

ORIF: Open reduction and internal fixation /nyílt repozíció és belső rögzítés

PAC1: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide type I receptor /hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid I-es típusú receptor

PACAP: Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide /hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptid

PBS: Phosphate-buffered saline / foszfát-pufferelt sóoldat

PCR: Polymerase chain reaction /polimeráz-lánreakció

PKA: Protein kinase A /Protein kináz A

PKC: Protein kinase C /Protein kináz C

PLC: Phospholipase C /Fosfolipáz C

PP2A: Protein phosphatase 2A /Protein foszfatáz 2A

PP2B: Protein phosphatase 2B /Protein foszfatáz 2B

PTHrP: Parathyroid hormone related peptide / mellékpajzsmirigy hormon függő fehérje

PHM: Peptide histidine methionine /hisztidin – metionin peptid

Runx2: Runt-related transcription factor 2

RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction /reverz transzkripció polimeráz-lánreakció

SHH: sonic-hedgehog

SH: Salter-Harris

TEN: titanium elastic nail /titán elasztikus szeg

TFCC: triangular fibrocartilage complex

TGF β : Transforming growth factor- β

VEGF: Vascular endothelial growth factor /ér eredetű növekedési faktor

VIP: Vasoactive intestinal polypeptide /vazoaktív intesztinális polipeptid

VPAC1, VPAC2: vasoactive intestinal polypeptide receptor 1,2 / vazoaktív intesztinális polipeptid receptor 1,2

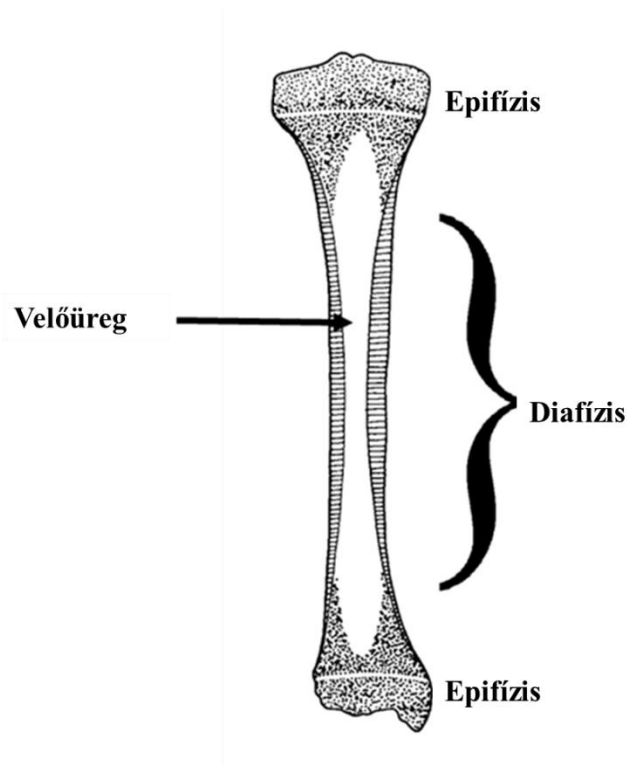
WNT: Wiggless int1

WT: wild type

1. Bevezetés

1.1. A csontok anatómiája

Az emberi test mintegy 206 különálló, de egymáshoz különböző módon és mértékben rögzített csontokat tartalmaz. Minden csont jellemző alakú, elhelyezkedésű és működésű. Alak szerint megkülönböztethetünk csöves, lapos, köbös és légtartalmú csontokat. Csöves csontok belül üregesek, két végük vaskosabb. A középső részét diafízisnek, két vaskosabb végdarabját epifízisnek nevezzük (1. ábra). A külső felszínét csontbőr, az ízületi felszíneket hialin porc borítja.



1. ábra: A csöves csontok felépítése.

A lapos csontra jellemző, hogy a két vékony tömör csontréteg közötti teret szivacsos csontállomány tölti ki. A köbös csontok szabálytalan alakúak, vékony kéregből és állományukat kitöltő szivacsos állományból állnak. A légtartalmú csontok vékony csontlemezekből állnak, az arckoponyában, leginkább az orrüregben fordulnak elő.

A csontok fő tápláló ereinek belépése a foramen nutriciumon keresztül történik, ami a diafizis területén található (Szentágothai J. et al. 2006.).

1.2. Az ízületek általános jellemzői

A megszakított csont összeköttetést ízületnek hívjuk. Az ízületben résztvevő csontok végei hialin porccal borítottak. Az esetek többségében van egy ízfej és egy ízvápa. Néhány esetben az ízfelszínek között az ízfelszínek egyenetlenségének kiküszöbölésére rostporcos diszkusz található. Az ízületet alkotó csontok összeköttetése tokkal és szalaggal valósul meg. Az ízületek mozgásait az ízfelszín alakja, az ízületi tok feszsége és a szalagok is nagymértékben befolyásolják. Az ízületeket osztályozhatjuk a mozgások tengelyeinek a száma alapján, így megkülönböztethetünk egy-, két- és soktengelyű ízületet. Az ízületi mozgás mechanizmusa szerint megkülönböztetünk feszes-, korlátolt szabad- és szabad ízületet. Az ízület vérellátását az ízület körül lévő bőséges érhalózat biztosítja. Az ízületi tokok,- szalagok mechano- és nociceptoraiból számos rost indul a gerincvelő hátsó és oldalsó kötege felé. Az ízületi tokban és szalagokban számos proprioceptor van, melyek a helyzetérzékelésben és a proprioceptív reflexben játszanak szerepet (Szentágothai J. et al. 2006.).

1.3. A csontok szövettani felépítése

A csontszövet sejtekből és sejtközötti állományból áll, mely utóbbit rostok és extracelluláris mátrix alkotja. Legfontosabb sejtjei: az oszteoprogenitor sejtek, az oszteociták, az oszteoblasztok és az oszteoklasztok. Az oszteoprogenitor sejtek a mezenchimális őssejtekből kialakult sejtek, melyek már elköteleződtek a csont irányában történő differenciálódásra. A sejtek a csontfelszínen és az erek körül találhatók meg. Ezekből a sejtekből differenciálódnak az oszteoblasztok. Az oszteociták feladata az extracelluláris mátrix fenntartása és megújulásának az elősegítése. Az oszteoblasztok a csontmátrix termeléséért felelősek és a mineralizációban játszanak szerepet. A csontrezorpcióban is részt vesznek, az általuk termelt enzimekkel lebontják az intracelluláris szerves állományt és hozzáférhetővé teszik a szervetlen állományt az oszteoklasztok számára. Az oszteoblasztok a csontképzés végeztével mátrixba beágyazott

oszteocitákká alakulnak. Az oszteoklasztok az intracelluláris állomány lebontására specializálódott sejtek, amik kollagenázokat termelnek és bontják a mátrixot is.

A mátrix kollagénrostok és kalcium sók együttes jól felépített rendszere, ami biztosítja a csont keménységét, szilárdságát és rugalmasságát. A kortikális csont szerves állományának 90%-át I-es típusú kollagén alkotja. A rostok egymással párhuzamosan kötegeket, lemezeket alkotnak, amik biztosítják a csont hajlítással szembeni rugalmas ellenállását. A szerves állomány további 10%-át a proteoglikánok és a csontspecifikus fehérjék (osteocalcin, osteopontin) adják. A szervetlen állomány kalciumfoszfát tartalmú hidroxipatitból ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) áll. Az I-es típusú kollagén rostok az adott laminában spirális lefutásúak, míg a következő laminában az előzőre merőlegesen futnak. A hidroxipatit a kollagénrostok közé épül be.

A csöves csontok hosszirányú növekedésért az epifízis porckorong kiemelkedő szereppel bír. Az epifízisben a porcsejtek folyamatosan osztódnak, de a korong vastagsága nem nő, mert a diafízis felől a porc folyamatosan csonttá épül át. A porc a diafízis felé jellegzetes szövettani szerkezettel rendelkezik, ami négy fő zónára osztható. Az I-es, nyugalmi zónában a porcsejtek nyugalmi állapotban vannak. A II-es zóna a szaporodási zóna, ahol a porcsejtek szaporodnak és hosszanti oszlopokba rendeződnek. A III-as, hipertrófiás zónában a porcsejtek megnagyobbodnak, és X-es kollagént termelnek és elindítják a mátrix gerendák mineralizációját. A IV-es zónában a mezenchimális invázió zónájában a porcsejtek proteázokat termelnek, majd apoptózissal elhalnak (a porcsejtek hipertrófiálódnak, apoptózissal elhalnak, de a porcmátrix szolgál templátként a kialakuló csontszövet megfelelő struktúrájára), helyükre makrofágok és kapillárisok nőnek be. A porcsejtek elhalásával a velőüreg felé megnyílik az út és a bekerülő oszteoprogenitor sejtek oszteoblasztokká alakulnak és elkezdik a csontra jellemző extracelluláris mátrix termelését.

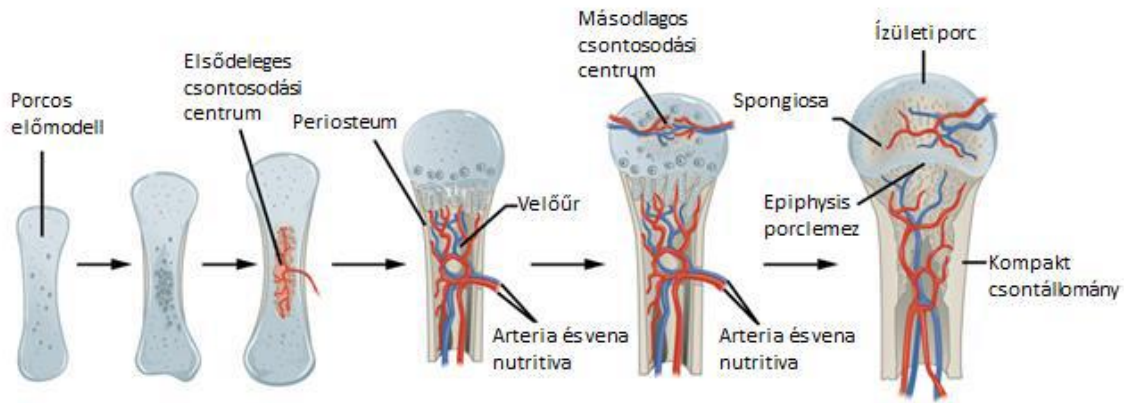
A csont vastagságbeli növekedésért a perioszteum felel. A kerek epifízis hosszában növekszik és a két epifízis rész fokozatosan távolodik a csont középpontjától. Húszéves korig az összes epifízis porckorong elcsontosodik, így megszűnik a további hossznövekedés. A csont vastagodása akár egész életen át tarthat (Röhlich P. 2006.).

1.4. A csontok fejlődésének alapjai és a csontosodás folyamata

A hosszú csöves csontok az embrionális fejlődés során porcos előmodellen keresztül szekunder, enkondrális csontosodással indulnak fejlődésnek a paraaxiális mezodermből. A későbbi diafizis területén lép be az előtelepbe az arteria nutritiva (2. ábra). Megszületéskor már valamennyi nagy csöves csont diafizise elcsontosodott (Ács G. et al. 2001). Ettől disztálisan és proximálisan két porcos növekedési zóna alakul ki, ezek alkotják a disztális és proximális fizist. A fizis és a diafizis között található a metafizis, itt történik a csöves csontok hosszirányú növekedésének a túlnyomó része. A fizis ellenkező oldalán, a csont disztális és proximális végén lévő rész az epifizis, ami saját csontnövekedési centrummal/centrumokkal rendelkezik. Kutatásunk során az alkarcsontok törésének különböző műtéti kezeléseit hasonlítottuk össze, ezek technikai megértéshez a továbbiakban az alkarcsontok fejlődésének részleteit ismertetjük.

A gyermekkori hosszú csöves csontok, így az alkarcsontok is több egységből állnak. A radius disztális harmadának részei a disztális epifizis, a disztális fizis és a disztális metafizis. Az alkarcsontok diafizisét képző primer csontosodási magvak az embrionális élet 8. hetében alakulnak ki. A radius disztális epifizise 7 hónapos, az ulnái 5-7 éves kor körül válik láthatóvá a röntgenfelvételen. A caput radii 5 éves, az olecranon többnyire kettős csont magva pedig 9 éves korban jelenik meg. A disztális fugák mindkét csonton 16-18 éves korban, a caput radii és az olecranon epifizise pedig 14 éves kor körül záródik (Joeris A. et al. 2014.).

A caput ulnae megjelenésekor (lányoknál 5, fiúknál 7 éves korban) az ulna átlagosan 6 mm-rel rövidebb, mint a radius. Az ulna disztális végének gyorsabb növekedése révén azonban lányoknál 13, fiúknál 15 éves korra a fugák egy szintre kerülnek (Joeris A. et al. 2014). Az alkarcsontok hossznövekedése nagyobb részben a disztális fizisekben történik (a radiuson 80%, az ulnán 85%-ban).



2. ábra: A porcos előtelepből kiinduló csontfejlődés folyamata (Ács G.et al. 2001.).

A csontosodás kétféleképpen történhet: az embrionális kötőszövet direkt csontosodása (dezmális csontosodás) révén, vagy a hialin porc helyettesítése által (kondrális csontosodás).

Direkt csontosodásra példa a koponyacsontok, az állkapocs, valamint néhány köbös csont fejlődése. Ebben az esetben először az érintett szövetek érellátottsága növekszik, a mezenchimális sejtek proliferálnak, létrehoznak csontosodási sejteket, amik oszteoblasztokká alakulnak, és szerves csontszövetet termelnek. A kialakult csontszövet ezt követően meszesedik, a szivacsos csontállományon belül spikulák, majd trabekulák képződnek. A szervesetlen sók hidroxipatit kristályok formájában a kollagén rostok között rakódnak le.

Kondrális csontosodással a törzs illetve a végtagok csontjainak a fejlődése történik. Az egyik fő lépése a hialin porc csontszövettel történő helyettesítése. A 3. hónapban a hialinporcot körülvevő perikondriumot infiltrálják az erek, az oszteoblasztok és perioszteummá alakítják. A diafízis körül a csontképző sejtek kompakt csontállományt termelnek. Ugyanabban az időben kialakulnak az elsődleges csontosodási centrumok, az oszteoblasztok behatolnak a diafízis belsejében lévő porcba és azt szivacsos csontállománnyá alakítják át. A csontosodási folyamat a csontvégek felé halad tovább. A diafízisben kialakult szivacsos csontot az oszteoklasztok lebontják és kialakítják a velőüreget. Az epifízis porc folyamatosan nő és biztosítja a csont hosszanti növekedését. Megszületést követően az epifízisben másodlagos csontosodási centrumok alakulnak ki. A csontosodási folyamat során az epifízisben a szivacsos csontállomány megmarad. A másodlagos csontosodás befejeztével, a hialinporcot teljes egészében csont helyettesíti.

Ez alól kivételt jelentenek a csontvégeken található ízületi felszínek, illetve az epifizis-diafizis határánál található növekedési régió.

A csontok fejlődésének és a csontgyógyulás molekuláris mechanizmusának vizsgálata az utóbbi két évtizedben jelentős figyelmet kapott (Juhász T. et al. 2016., Majidinia M. et al. 2017.). A hosszú csöves csontok morfológiája és stabilitása meghatározza a testmagasságot, a végtagok hosszát, az ízületek mozgásait. A szerves és szervetlen állomány megfelelő egyensúlyi eloszlása fontos szerepet játszik a hosszú csöves csontok biomechanikai funkciójában és stabilitásában (Oftadeh R. et al. 2015.). A mátrix termelésének, és azok elrendeződésének hiányában a csontfejlődés és a törés gyógyulás is komoly zavart szenved (Hegde V. et al. 2016.). A hosszú csöves csontok fejlődése, az oszteoprogenitor-oszteoblaszt átalakulás számos szignalizációs mechanizmus által szabályozott folyamat. A folyamat legfőbb regulátorai a bone morphogenetic protein (BMP), a hedgehog (HH) és a Wntless int1 (WNT) által szabályozott jelátviteli útvonalak (Juhász T. et al. 2016.). Az oszteogenezis kezdeti lépése a csont specifikus mátrix, azon belül is az organikus I-es típusú kollagén termelésének a beindítása. A kollagén lemezek az anorganikus komponensekkel együtt alakítják ki a csont speciális szerkezetét. A lamelláris szerkezet biztosítja a kompakt csont biomechanikai stabilitását és szakítószilárdságát (Forlino A. et al. 2016.). A mátrix organikus elemeinek termelése mellett, az oszteoblasztok aktív szerepet játszanak a kalcifikációban. Az extracelluláris mátrix termelés precíz regulációja, az oszteoblasztok megfelelő időben és megfelelő közegben történő aktivációja citokinek, növekedési hormonok, endokrin, parakrin útvonalak által szabályozottak (Juhász T. et al. 2016., Majidinia M. et al. 2017.). A BMP az egyik legfontosabb és legalapvetőbb aktivátora a csont fejlődésnek. A fehérje receptorához kötődve (BMPR, bone morphogenetic protein receptor) a Smad 1/5 foszforilációját indítja be. A BMP jelátviteli útvonal számos fehérje termelését szabályozza, mint például az alkalikus foszfatáz (ALP), az osterix, I-es típusú kollagén, amelyek jelenléte elengedhetetlen a megfelelő csontképződéshez (Juhász T. et al. 2016., Shahi M. et al. 2017.). A BMP jelátviteli útvonal a protein kináz A (PKA) által szabályozott szignalizációval is kapcsolatban van. Ezen keresztül aktiválja a ciklikus adenosine monofoszfátot (cAMP) és a response element-binding protein (CREB) transzkripciós faktort, ami a megfelelő csontmátrixot felépítő fehérjék átíródását is indukálhatja (Juhász T. et al. 2016., Zhou W. et al. 2017.). Számos más jelátviteli út is szabályozza a csontképződést, mint például a Runx2, ami a PKA útvonal aktiválásával

csont specifikus molekulák és ECM komponensek expresszióját okozza (Juhász T. et al. 2016., Li Z. et al. 2017.).

1.5. A hypophysis adenilát cikláz aktiváló polipeptidről általában

A PACAP az angol „pituitary adenylate cyclase activating polypeptide” kezdőbetűiből tevődik össze. A fehérjét 1989-ben Arimura és munkatársai birka hypothalamusból izolálták. A PACAP 38 aminosavból áll, C-terminálisán α -amidált peptid. Az adenohipophysisben lévő sejtek adenilát cikláz aktiválása révén a ciklikus adenzin-monofoszfát (cAMP) koncentrációjának az emelkedését idézi elő (Arimura A. 2007., Miyata A. et al. 1989.). A PACAP, a glükagon, a glükagonhoz hasonló peptid (glucagon-like peptide - GLP)-1 és 2, a növekedési hormont szabályozó hormon (growth-hormone releasing hormone - GHRH), a vazóaktív intesztinális peptid (VIP), a hisztidin – metionin peptid (peptide histidine methionine - PHM), a szekretin és a glükóz-függő inzulinotróp polipeptid (glucose-dependent insulinotropic polypeptide - GIP) mellett a szekretin/glükagon/GHRH peptidcsalád tagja (Arimura A. és Shioda S. 1995., Lee et al. 2007). A PACAP1-38 felfedezése után egy évvel azonosították a rövidebb fragmensét, a PACAP1-27-et (Miyata A. et al. 1990.). A PACAP szerkezetileg a VIP-hez hasonlít, azonban funkcionálisan az adenilát cikláz aktiváló hatását akár 10.000-szer nagyobb mértékben fejti ki (Vaudry D. et al. 2009.).

A PACAP humán génjének lókusza a 18p11 kromoszóma, mely 5 exont tartalmaz, amelyről a 176 aminosav hosszúságú prepro-PACAP transzlálódik. Mindkét peptid ebből a prekursorból, proteolitikus és amidációs lépéseket követően képződik (Hosoya et al. 1992.). Gerincesekben 90 %-ban a 38 aminosavból álló forma dominál (Vaudry et al. 2000.). A PACAP legnagyobb mennyiségben a hypothalamusban fordul elő, de megtalálható a kéregállományban, az agytörzsben, az amygdalában, a hippocampusban, a tobozmirigyben és a kisagyban is (Arimura A. et al. 1991., Hannibal J. et al. 2002., Reglódi D. et al. 2009.). A perifériás idegrendszerben, a spinális ganglionok kis érőidegsejtjeiben, valamint a vegetatív pre- és postganglionáris neuronokban is jelen van (Köves K. et al. 1990.). A PACAP idegrendszeri előfordulásán kívül megtalálható az endokrin mirigyekben, a gasztrointesztinális rendszerben, a kardiovaszkuláris és a légzőrendszerben, az urogenitális traktusban, valamint a porcban és a csontokban is (Vaudry D. et al. 2009.).

A PACAP a különböző szervrendszerekben, a szövetekben okozott hatásait G-proteinhez kötött receptorokon - a vasoactive intestinal polypeptide receptor (VPAC1, VPAC2) és a pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide I-es receptor (PAC1) - keresztül fejti ki. Először a VPAC1-et, majd a VPAC2-őt írták le (Ishihara T. et al. 1992., Lutz E. et al. 1993.). A receptor hét transzmembrán doménből és egy intracellulárisan G-proteint kötő doménből áll. A PACAP a PAC1 receptorhoz nagyobb affinitással kötődik, mint a VIP, ezzel szemben a VPAC1 és VPAC2 receptorokhoz azonos erősséggel kötődnek. A PAC1 receptor, agonista peptid bekötődés hatására adenilát cikláz (AC), foszfolipáz C (PLC) és protein kináz C (PKC) által közvetített útvonalakat aktiválhat, ezen felül L-típusú feszültségfüggő kalcium csatornákat is megnyithat. A VPAC1 és VPAC2 receptorok aktiválódása cAMP, vagy ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) szint emelkedéséhez vezet (Murthy KS. et al.1997., Shioda S. et al. 2003.). A PACAP receptorok szinte minden szervben expresszálódnak, azonban az altípusok eloszlása szervrendszerenként változó. A PAC1 receptor magas expressziója mutatható ki az agyban, az adenohypophysisben, a gerincvelőben, a hasnyálmirigyben, a mellékvesevelőben, a vesében, a herében és a petefészekben is. Megtalálható a nagy nyálmirigyekben: a fültőmirigyben, a submandibularis és a sublingualis mirigyekben (Matoba et al. 2016.), ízületi porcban (Giunta S. et al. 2015., Juhász T. et al. 2014.). A VPAC1 receptor a központi idegrendszer mellett előfordul a tüdőben, a májban, a lépben, a thymusban, a mellékvesevelőben és a gasztrointesztinális traktusban. PAC1 és VPAC1 receptorok expresszióját mutatták ki UMR-106 oszteoblaszt sejtenyészetben (Juhász T. et al. 2014.). A VPAC2 receptor a pancreas β -sejtjein, a mellékvese kortikális részében és a gonádokban expresszálódik (Filipsson K. et al. 1998., Joo K. et al. 2004., Usdin T. et al. 1994., Vaudry D. et al. 2009.). VPAC2 receptort azonosítottak az MC3T3E1 calvaria oszteogén sejtvonalban (Nagata A. et al 2009.). A PACAP pleiotróp és multifunkcionális neuropeptid, számos hatását, így a csontgyógyulásban betöltött szerepét is vizsgálat alá vehetjük (Juhász T. et al. 2016.).

A PACAP a szisztémás keringésben mindössze néhány perc alatt a dipeptidyl peptidáz (DPP)-IV hatása révén lebomlik, rövidebb peptidekre fragmentálódik, amik főként antagonistá hatással rendelkeznek (Bourgault S. et al. 2008., Zhu L. et al. 2003.). A PACAP rövid felezési ideje ellenére számos biológiai hatással bír (Vaudry D. et al. 2009.). A PACAP szerepet játszik élettani folyamatok szabályozásában, így például a táplálkozás, az alvás, a termoreguláció, és a cirkadián ritmus szabályozásában (Gray S. et al. 2002., Hannibal J. et al. 2006., Matsuda K. et Maruyama K. 2007., Matsuda K. et al.

2013., Murck H. et al. 2007., Rudecki A. et Gray S. 2016.). Ezen felül szerepet játszik az alvás, a lokomotoros aktivitás, a magatartási és a nocicepciós folyamatokban, illetve mindemellett serkenti a memóriát is (Agarwal A. et al. 2005., Ahnaou A. et al. 2006., Borbély É. et al. 2013., Gray S. et al. 2002., Matsuda K. et al. 2013., Matsuyama S. et al. 2003., Pirger Z. et al. 2010., Reglődi D. et al. 2003., Sándor K. et al. 2009.). Depresszió vizsgálata során a stresszreakcióban betöltött szerepét több tanulmányban is kimutatták (Gaszner B. et al. 2012., 2016.). Az endokrin hatásait is bizonyították már: szabályozza az adeno- és neurohypophysis hormontermelését, a pancreas inzulin termelését, stimulálja a pajzsmirigy tiroxin-, a mellékvese katekolamin-szintézisét (Chen W. et al. 1993., Isobe K. et al. 2003., Okada R. et al. 2007., Winzell M. et Ahrén B. 2007.). A nyálmirigyek kivezetőcsöveiben az abszorpciós folyamatok befolyásolásán keresztül a nyálszekréció szabályozásában is szerepet játszik (Matoba Y. et al. 2016.). Fontos szerepe van a pulmonális és egyéb erek vaszkuláris tónusának szabályozásában is (Lindén A. et al. 1999., Otto C. et al. 2004., Warren J. et al. 1991., Ivic I. et al. 2019.).

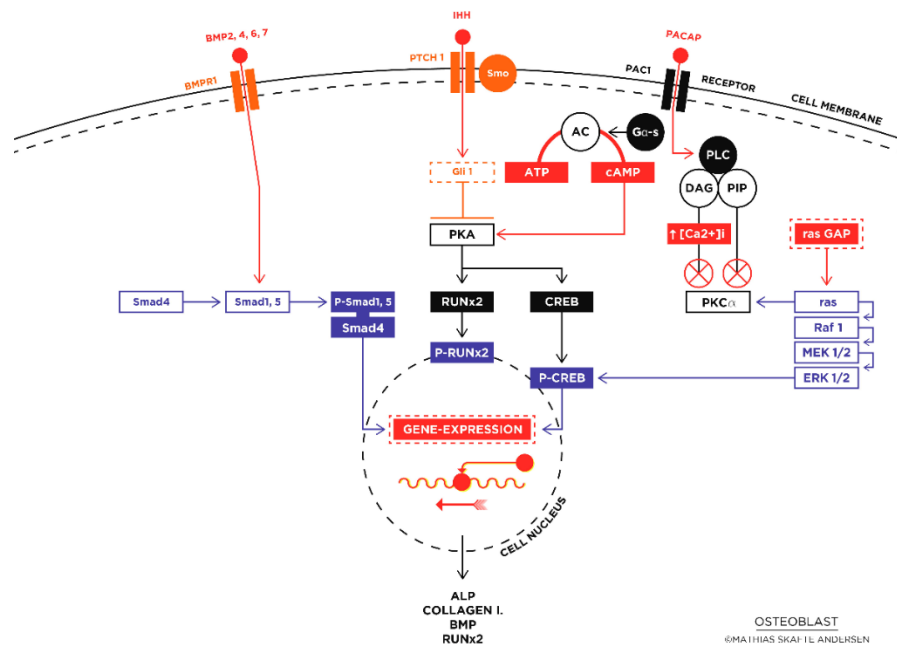
A PACAP neuroprotektív hatását számos in vivo állatkísérletben is igazolták, mint például agyi iszkémia, agyi trauma, gerincvelő sérülés és Parkinson kór állatkísérletes modelljeiben (Ohtaki H. et al. 2008., Reglődi D. et al. 2011., 2015., Shioda S. et al. 2006., Shioda S. et Nakamachi T. 2015., Somogyvári-Vigh A. et Reglődi D. 2004., Vaudry D. et al. 2009., Waschek J. 2002., Reglődi D. 2018., 2019.).

A továbbiakban a csontosodás és a csontgyógyulás folyamataiban betöltött szerepét fogom részletesen bemutatni. A PACAP eltérő szövetekben lévő funkciói közül kevésbé ismert a csontképződésben betöltött szerepe. A PACAP számos jelátviteli útvonalon keresztül befolyásolja az oszteogenezis sejtek folyamatait. Az egyik legfontosabb citokinek közé tartoznak a BMP-k, melyek nélkülözhetetlenek a megfelelő csontképződés folyamatához. Ezek a faktorok saját receptorukhoz való kötődésük után aktiválják a Smad1/5 foszforilációját, majd a Smad4-el komplexet alkotnak és a sejtmagba transzlokálódnak, ezzel megindítva a csont specifikus gének expresszióját (3. ábra), mint pl.: osterix transzkripciós faktort, alkalikus foszfatázt (ALP) vagy az I-es típusú kollagént (Wang L. et al. 2013., Zhang R. et al. 2011.). A BMP-k által regulált jelátviteli folyamatok közvetve kapcsolatban vannak a PACAP által regulált klasszikusnak tekinthető jelátviteli útvonallal a PKA-val. Ezen keresztül szabályozhatják a CREB transzkripciós faktort, mely több csontspecifikus gén expresszióját is szabályozhatja. (Zhang R. et al. 2011.). A PKA ebben az esetben közvetlen kapcsolatban lehet a Runx2 transzkripciós faktoral, mely a korábban említett csontspecifikus faktorok közül az ALP és az I-es kollagén

expresszióját is szabályozhatja. Másrészt a hedgehog jelátviteli elemek kiegyensúlyozott expressziója is fontos, melynek pontos szabályozásában az SHH aktivitás gátlásán keresztül az emelkedett PKA aktivitás is szerepet játszik (Ehlen HW. et al. 2006., Jonason JH. et al. 2009.), és azt követően aktiválja a csont specifikus jelátviteli elemek és az ECM komponenseinek expresszióját. A FGF szintén elengedhetetlen funkcióval bír a csontképződés folyamatában. Az FGF2 csökkenti az ALP, a Runx2 aktivitását és a kollagén szekréciót, ezzel szemben fokozza az oszteoblasztok proliferációját (Hughes-Fulford M. et al. 2011.). Ez a komplex szignalizáció magába foglalja a PACAP/VIP szignalizációnak a teljeskörű spektrumát és rávilágít a neuropeptid csontképződésben és regenerációban betöltött szerepére.

Az enkondrális csontosodási folyamat kezdeti fázisában az erek betörnek a csontba, ez a folyamat a VEGF általszabályozott. Ezen növekedési faktor expressziója PKA-Runx2 tengely ellenőrzése alatt áll (Yang J. et al. 2013.). Az erek inváziója és a kalcifikálódott porc mátrix eredményeképpen megjelennek az oszteoprogenitor sejtek és a differenciált oszteoblaszt sejtek, melyek termelik a csont mátrixot. Ez utóbbi folyamat is a neuropeptid által szabályozott (Lerner UH. et al. 2008.). A hosszú csöves csontok hosszirányú növekedése során PACAP pozitív idegrostok jutnak be a csont mátrixba (Strange-Vognsen HH. et al. 1997.), ahol VIP pozitív szimpatikus idegvégződéseket is kimutattak (Hohmann EL. et al. 1986.).

Az oszteogén átalakulás, a csontmátrix termelés és a mineralizáció összetett jelátviteli kaskád által szabályozott folyamat (Lundberg P. et al. 2001.), ahol a MAPK és a PKA szerepe meghatározott. A Runx2 is egy fontos transzkripciós faktor, ami jelentős szereppel bír a PKA jelátviteli útvonal által szabályozott oszteoblaszt differenciálódásában (Okura H. et al. 2014., Li TF, Dong Y. et al. 2004.). Juhász és mtsai bizonyították, hogy a PACAP az UMR-106 médium oszteoblaszt sejtenyészeten Runx2 sejtmagba történő transzlokációját elősegítette és emelte az I-es típusú kollagén, az ALP és az osterix gén expresszióját (3. ábra). A BMP jelátviteli útvonal szintén nagyon fontos szabályozója a csontképződésnek és valószínű szignalizációs kapcsolatban van a Runx2 által szabályozott folyamatokkal (Pitts RL. et al. 2001.). Azonkívül a TGF β /BMP aktiválója a PACAP és a VIP (Persson E. et al. 2011.).



3. ábra: A PACAP hatásmechanizmusa a csontsejtben. A PACAP a receptorához kötődve emeli az intracelluláris cAMP koncentrációt és aktiválja a PKA fehérjét az oszteoblasztokban. A CREB transzkripciós faktort a PKA részben foszforilálja, miközben a Runx2 transzlokálódik a sejtmagba, ami a kinázt szabályozza. A PACAP jelenléte nem okoz intracelluláris kalcium felszabadulást, amiatt, hogy a kalcium függő jelátviteli utak nem aktiválódnak (nyilak keresztezve piros vonalakkal). A neuropeptid kiváltja a BMP expresszióját, ami egyidejűleg aktiválja a Smad transzkripciós faktort és a Runx2-t. SHH vagy IHH kötődik a PTCH1 receptorhoz és a Gli transzkripciós faktor transzlokációját okozza a sejtmagba (Juhász T. et al. 2016.).

1.6. A törésgyógyulás molekuláris alapjai

A törésgyógyulás három fázisa: a gyulladás, a helyreállítás és a rehabilitáció. A növekedési faktorok és az extracelluláris mátrix fontos szerepet játszanak a csontgyógyulásban. Az előbbiek a célsejtekre hatva sejtprolifерációt idéznek elő, aktiválják és alakítják a protein szintézist. A korai szakban a sebbe vándorló leukociták, monociták, makrofágok citokineket választanak ki, melyek stimulálják az angiogenezist. A törési hematomában a vérlemezkékből származó növekedési faktorok közvetítik a törés reparációjában fontos sejtprolifерációt, migrációt és a mátrix szintézisét. Az FGF, bFGF és a TGF béta stimulálja a kondrocita és oszteoblaszt proliferációt és a csont szintézist (Kalfas IH et al. 2001., Claes L. et al. 2012.).

A gyulladós fázis egérben 3, patkányban 4, míg emberben 7 napig tart (Cleas L. et al. 2012., ChoT-Y. et al. 2002., Rüedi TP. et al. 2007., Emmanuel G. et al. 2017.). Az akut sérülés hatására a csont, az erek, a lágyrészek károsodnak, aminek hatására a makrofágok és egyéb sejtek elindítják a gyulladós kaszkádot. A törési hematóma fontos szerepet játszik a törésgyógyulásában, a polimorfonukleáris neutrofil sejtek lebontják az elhalt sejteket, ezzel megtisztítják az érintett területet, ezen felül számos kemokint termelnek, mint pl. a CCL2 (chemokine ligand 2) és az IL-6 (interleukin-6), valamint odavonzzák a makrofágokat (Chung R. et al. 2006., Bastian O. et al. 2011., Andrew JG. et al. 1994.). A polimorfonukleáris sejtek hatásuk kifejtése után gyorsan elhalnak, amennyiben az aktivitásuk elhúzódik, úgy hátrányosan befolyásolják a törésgyógyulást (Grogaard B. et al. 1990., Emmanuel G. et al. 2017.). Az akut gyulladás fontos a csontgyógyulás folyamatához, stimulálja az ér újdonszövődést és hozzájárul az őssejtek oszteoblaszt irányú differenciálódásához és proliferációjához (Xing Z. et al. 2010., Gerstenfeld LC. et al. 2003., Kon T. et al. 2001.). A gyulladós fázis gátlása károsítja a csontgyógyulás folyamatát és növeli a szövődmények kialakulásának a kockázatát. A törés gyógyulás során emelkedett ciklooxygenáz-2 (COX-2) expresszió figyelhető meg, non szteroid gyulladáscsökkentő (NSAID) COX-2 gátló adásával *in vitro* kísérletekkel bizonyították, hogy gátolja a törés gyógyulását (Gerstenfeld LC. et al. 2003., Pountos I. et al. 2012., Lu LY. et al. 2017.). Giannoudis és mtsai humán combcsont törések retrospektív vizsgálata során jutottak arra a következtetésre, hogy a NSAID szedők körében gyakrabban diagnosztizáltak álízületet (Giannoudis PV. et al. 2000.).

Az elsődleges csontosodás az anatómiai repozíciót követően abszolút stabilitást adó oszteoszintézist követően alakul ki. A csontosodás e formájában kalluszképződés nem észlelhető. Az oszteoklasztok lebontják a régi csontot a törési résen átfúrva magukat és nyomukban az oszteoblasztok új csontot termelnek, így a törési rés fokozatosan eltűnik és új vaszkularizált oszteon keletkezik.

A legtöbb törés másodlagos gyógyuláson megy keresztül a nem kellően stabil törésrögzítés miatt, mindezek miatt kevert dezmalis, endokondrális osszifikáció által kialakított kallusz jön létre. A sérülést követő első napokban az intramembránózus osszifikáció által termelt csont a perioszteum alatt helyezkedik el, kondrogenezissel átfedi azt, ami az endokondrális csontosodás fő lépése. A kezdeti folyamatok legfőbb regulátorai a BMP2, 4, és 7 fehérjék. A BMP jelátviteli út csontgyógyulásban betöltött szerepe régóta ismert (Reddi AH. et al. 1993., Ivo DC. et al. 2018.). A BMP fehérjék fokozzák a mezenchimális őssejtek differenciálódását kondroblaszt és oszteoblaszt irányba és

stimulálják az oszteoblasztok érését. Egér törés modell vizsgálat során a BMP2 elindítja a gyógyulási kaszkádot, mely mRNS expressziójának csúcsa 24 órával a csontsérülés után van (Cho TJ. et al. 2002.). A BMP2 egyéb BMP fehérjék expresszióját is befolyásolja. A BMP3, 4, 7 és 8 expresszálódik a csontgyógyulás során, amikor a csontképződés a legkifejezettebb. A BMP5 és 6 expressziója a törésgyógyulás 3. napjától a 21. napig nem változik. Randomizált kontrollált vizsgálat történt 2002 és 2004 között BMP alapú fehérje kezeléssel nyílt tibia törések esetén. Egy éves nyomkövetési időszakban magas koncentrációjú BMP2 elősegítette a csontgyógyulást és a másodlagos műtétet száma is alacsonyabb volt a hagyományosan kezelt csoporthoz képest (Fu R. et al. 2013., Simmonds MC. et al. 2013).

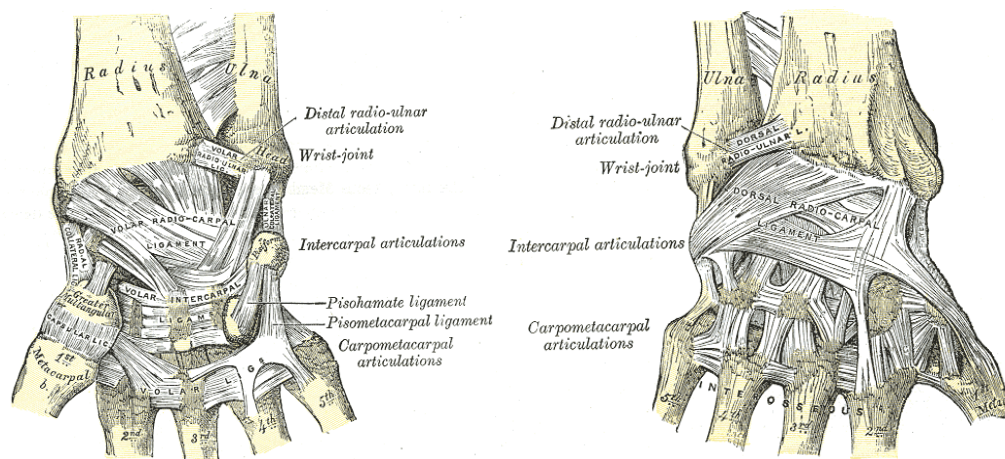
2. Klinikai tanulmány

Alkar disztális vég törései fiúknál háromszor gyakrabban fordulnak elő, mivel ők elevebbek, aktívabbak, gyakran vannak kitéve olyan traumának, aminek a viszonylag gyenge csont nem tud ellenállni. A csuklóízületet alkotó csontok gyengeségét azzal magyarázzák, hogy a csont gyors növekedésével az ásványi anyagok beépülése nem tud ütemet tartani, ami a csont szilárdságáért felelős. Az alkarcsontok leggyengébb része a szélesebb metafízis és a keskeny diafízis határán van, ott ahol a kortikális erős lamelláris csontszerkezete átmegy a metafízis fonatos csontszövetébe. A csontkor előrehaladtával a csont ezen sérülékeny része és ezzel együtt a törés szintje mindinkább disztális irányba tolódik el (Ács G. et al. 2001., Joeris A. et al. 2014.).

2.1. A csuklóízület anatómiája

Articulatio radiocarpea

A csuklóízületet az alkarcsontok és a kéztőcsontok proximális sora (os scaphoideum, os lunatum és os triquetrum) képezi. A radius disztális ízfelszíne közvetlenül, míg az ulna egy discus articularis révén vesz részt az ízület kialakításában. A kéztőcsontokat összekötő ligamentumok, valamint a radio- és ulnocarpalis szalagok ízületi porccal borított belső felszínük révén kiegészítik az ízfelszínt. Utóbbiak a tenyér felőli oldalon mindkét alkarcsonttól egyaránt (ligamentum radio- et ulnocarpeum palmare), dorzálisan viszont csak a radiusról (ligamentum radiocarpeum dorsale) erednek (4. ábra). Az ulna disztális végéhez kapcsolódó háromszögletű discus articularis, a radioulnáris és a radiocarpalis szalagok alkotják a triangular fibrocartilage complex-et (TFCC) (Kirchberger MC. et al. 2015.). A csuklóízület típusát tekintve két-tengelyű tojásízület. A radioulnáris tengely mentén 35-60°-os dorzálflexio és 50-60°-os palmarflexio végezhető. A dorzo-voláris tengely 25-30°-os radiális deviációt és 30-40°-os ulnarductiót enged meg (Szentágothai J. et al. 2006.).



4. ábra: A radiocarpalis ízületet stabilizáló palmaris és dorzális szalagok (<https://en.wikipedia.org>).

Articulatio radioulnaris

A proximális radioulnáris ízület a radius és az ulna proximális végei közötti forgó ízület. Ebben az ízületben az alkar rotációja horizontális síkban történik. Szupináció során véghelyzetben az alkarcsontok párhuzamosak, míg pronáció során az alkarcsontok kereszteződnek, a radius az ulna előtt helyezkedik el.

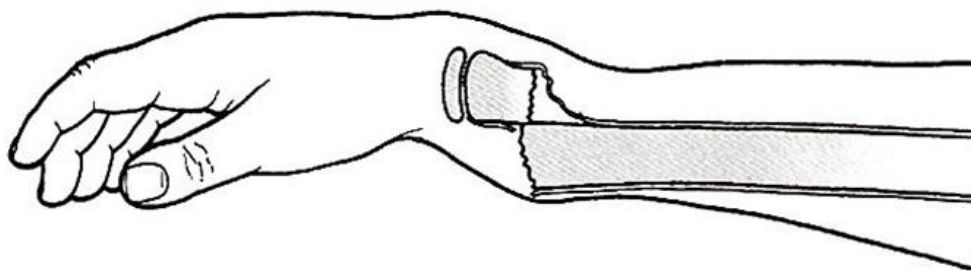
A disztális radioulnáris ízületet a radius és az ulna disztális végei képezik, melyek összeköttetését a discus articularis és az azt körülvevő szalagrendszer biztosítja. Ez az ízület a proximális radioulnáris ízülettel együttműködve vesz részt az alkar pronáció-szupináció mozgásában. A pronáció-szupináció során az ulna mozdulatlan marad, a radius fej és a nyak forgó mozgást, míg a radius teste és disztális vége egyre nagyobb átmérőjű ívmozgást végez. A rotációs mozgás tengelye a radius és az ulna fejcsét összekötő vonal. Gyermekkorban az alkaron a középhelyzetből kiindulva a szupináció és a pronáció egyaránt 90-90°-ban kivitelezhető. Középen a két csontot a felső és alsó negyedben vékony, középső részen a radiustól az ulnaig futó kollagénrostok miatt szalagszerűen megerősödött membrana interossea köti össze. Az alkar rotációjakor a membrán rácsavarodik a radiusra vagy az ulnara (Szentágothai J. et al. 2006.). Az alkarcsontok csekély tengelyeltérése az interosszeális tér beszűkülését, a membrán heges zsugorodását, s ezáltal az alkar forgómozgásának maradandó korlátozottságát okozhatja, 10°-os szögleteltérés 20°-kal csökkenti az alkar rotációját (Ács G. et al. 2001.). A gyermekek növekvő csontjai több olyan tulajdonsággal rendelkeznek, mely a felnőttekére nem, vagy kevésbé jellemzőek. A gyermekek csontthártyájának sajátága a

felnettéhez képest magas oszteogenikus potenciál és gyorsabb metabolizmus, mely hamarabbi kalluszképződéshez, így a törtvégek hatékonyabb egyesüléséhez vezet. A csonthártya vastagabb, erősebb és rugalmasabb, mely csökkenti a diszlokáció esélyét és növeli a stabilitást. A csontállomány porózusabb, sűrűbb a Havers csatornák rendszere, sejtdúsabb és több kollagént tartalmaz.

2.2. Gyermekkori disztális alkartörések jellemzői

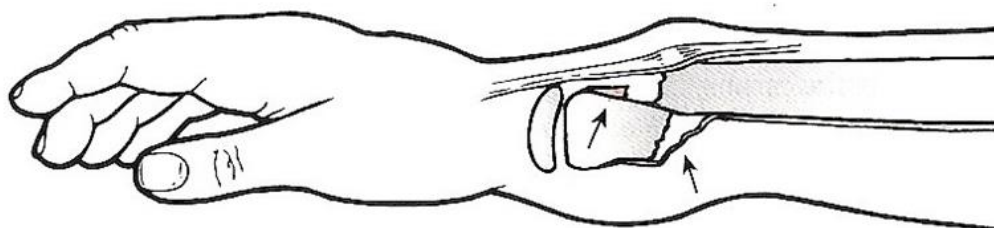
A gyermekkori alkartörések incidenciája szignifikánsan növekszik, ez magyarázható a szabadidős tevékenységek változásával (pl.: trambulín használat, küzdősportok, stb.) illetve az elhízott gyerekeknél a csontrendszer túlterhelésével (Justus L. et al. 2013.). A 15 évesnél fiatalabb gyermekek körében szezonális variabilitás is megfigyelhető, a csukló és alkartáji törések incidenciája a téli hónapokban körülbelül fele (5,7/1000 per év) az év többi részéhez viszonyítva (10,7/1000 per év) (Rockwood és Wilkins 2010.).

A törést legtöbb esetben a hiperextendált csuklóval történt kézre esés okozza. A gyermek kinyújtott karral próbál védekezni az esés során, ebben az esetben az alkart az izmok pronált helyzetben rögzítik. Az esés pillanatában erős szupinációs hatás érvényesül, ami törést okoz az alkarcsontokon vagy azok egyikén. A traumatizáló erő iránya nem esik teljesen egybe az enyhén ívelt alkarcsontok tengelyével, így az egyik oldalon kompressziós, a másik oldalon pedig feszítő erő lép fel, és ezen erők hatására a csont meghajlik. Inkomplett törés jön létre abban az esetben, ha az erőbehatás megszűnik mielőtt a csont teljes keresztmetszetére terjedően áttörne. A hosszirányú traumatizáló erőhatáshoz rotációs erő is társul (Rockwood és Wilkins 2010.). A törtvégek elmozdulását az izmok húzóerejének iránya határozza meg, az extensor izmok húzóereje nagyobb, ezért a törtvégek dorzális vagy dorzoradiális irányba mozdulnak el (5. ábra).



5. ábra: Típusos disztális harmadi metafízis törés dorzális irányú diszlokációja (Rockwood és Wilkins 2010.).

Ritkább, amikor a gyermek esés közben, csuklóját palmarflexios helyzetben tartja, ami azt eredményezi, hogy a disztális törtdarab volaris irányba diszlokálódik (6. ábra).



6. ábra: Volaris bayonet állás sematikus rajza. Disztális harmadi metafízis törés a törtdarab volaris irányú elmozdulásával (Rockwood és Wilkins 2010.).

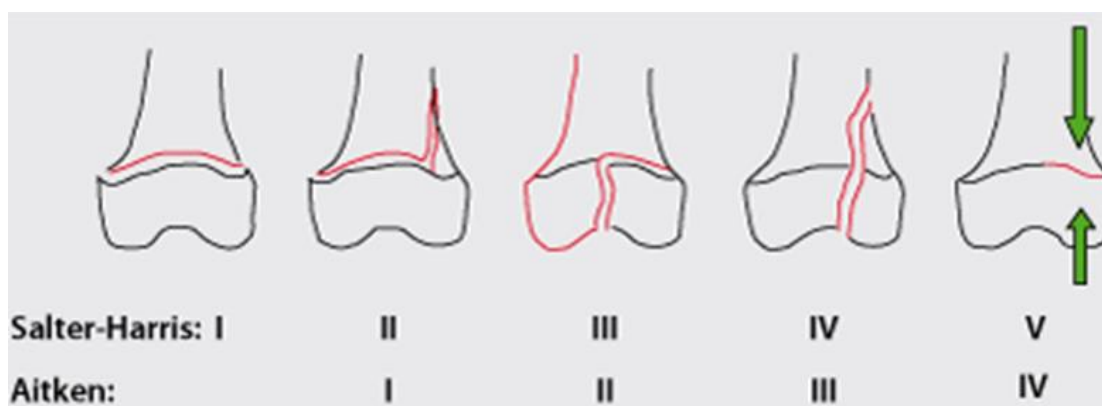
A tünetek a törés típusától, az elmozdulás mértékétől és a társuló lágyrészsérülések súlyosságától függenek. A gyermek gyakran a sérült csuklóját a másik kezével megtámasztva tartja. Elmozdulás nélküli törésnél általában enyhe duzzanat és nyomásérzékenység észlelhető, míg az elmozdulással járó törésekhez jellegzetes deformitás is társul. A fizikális vizsgálat során fontos a végtag keringésének és a beidegzésének az ellenőrzése. A radiális pulzus és az ujjak mikrocirkulációjának ellenőrzése biztos információt ad a végtag keringéséről. A beidegzés vizsgálata a fájdalom miatt sok esetben nem, vagy csak limitáltan értékelhető. Az érzésvizsgálat a gyermek életkorától és az együttműködésétől függ. Apró trükkökkel, játékokkal azonban gyors információt nyerhetünk a kéz ujjainak beidegzéséről. A törések diagnózisa a pontos jól beállított kétirányú röntgenfelvétel segítségével történik. Napjainkban és az utóbbi pár

évben egyre szélesebb körben terjedt el a mozgásszervi ultrahang vizsgálat, ami nagy pontossággal igazolja, vagy kizárja a törést. Multicentrikus vizsgálat eredménye alapján elmondható, hogy a mozgásszervi ultrahangvizsgálat a gyermekkori csuklótáji törések igazolásának vagy kizárásának rendkívül hatékony eszköze a napi gyakorlatban. A vizsgálat fájdalomtalan és nem jár sugárterheléssel (Varga M. et al. 2017).

2.3. Gyermekkori disztális alkartörések klasszifikációja

Epifízis törés: A radius epifízis törése gyermekkorban ritkán fordul elő, míg az ulna epifízis sérülése gyakori, a disztális harmadi radiustörések 33%-ához társul.

Fízis törés (epifízeolízis): Az epifízis sérülések klasszifikációjára a leggyakrabban használt és világszerte elfogadott Salter-Harris-felosztást (SH) alkalmazzuk (7. ábra).



7. ábra: A gyermekkori epifízis törések felosztása. Salter-Harris szerinti beosztás: (I) epifízeolízis; (II) epifízeolízis és metafízis fragmentum törése, (III) epifízis törése, (IV) epifízis törés és metafízis törés (V) epifízis fuga roncsolódása (Gál Cs. 2012.).

SH-I.: Az epifízis nyíróerők hatására izoláltan leválik a metafízisről, ezt a jelenséget epifízeolízisnek nevezzük.

SH-II.: Az epifízeolízis mellett metafízis fragmentum törés is megfigyelhető. Ez a leggyakoribb sérüléstípus, leginkább 10 éves életkor felett fordul elő.

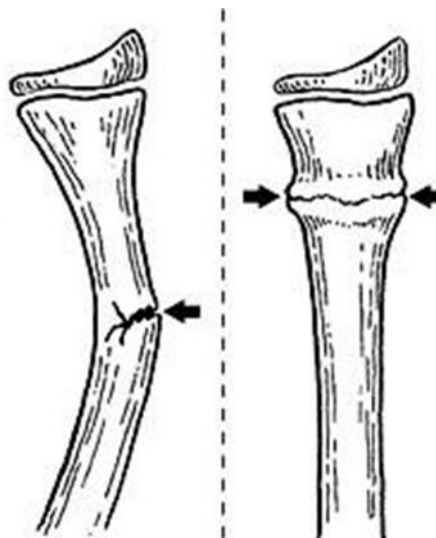
SH-III.: Az epifízis valódi intraartikuláris törése.

SH-IV.: Az epifízis töréshez metafízis törés társul. Rendszerint egy vertikális törésvonalat látunk, ami a metafízisből indulóan az epifízisen át az ízületbe hatol.

SH-V.: Az epifízis hosszirányú összenyomatásos sérülése, mely során kis területen irreverzibilisen károsodik az epifízis (Rockwood and Wilkins 2010.).

Terápiát tekintve a SH-I. és SH-II. csoportban konzervatív, míg SH III. és SH IV. típusú törések esetén operatív kezelés szükséges. Az SH V. típusú törések esetén a károsodás alattomos, mert keletkezésükkor nem jár radiológiailag kimutatható törésvonallal vagy diszlokációval, így a felismerése mindig késői, a már kialakult növekedés zavar, deformitás hívja fel a figyelmet a korábbi sérülésre (Rockwood and Wilkins 2010.).

Metafízis törés: A törésmechanizmus alapján beszélünk inkomplett és komplett törésről. Az inkomplett metafízis törés lehet torus-, illetve zöldgallytörés. Torus törés esetén, a kompresszió oldalán, a metafízis-diafízis határán a kortikális meggyűrődik. Zöldgallytörés esetén az axiális erőhatásra meghajló csont korikálisa a feszülésnek kitett oldalon áttörik, a perioszteuma megszakad, a túlsó oldalon pedig plasztikus meghajlás következik be és a perioszteum ép marad (8. ábra).



8. ábra: Bal oldalon zöldgallytörés, jobb oldalon torus törés sematikus rajza. Az ábra bal oldalán a nyíl a feszülésnek kitett oldalon a kortikális áttörésére mutat. Az ábra jobb oldalán a nyilak a torus törés során kialakuló kortikális gyűrődésre mutatnak (Ács G. et al. 2001.).

Komplett metafízis töréskor általában mindkét alkarcsont törik és többnyire dorzális vagy dorzolaterális diszlokáció következik be. Jellegzetes bajonett deformitással jár. A negyedik típusba sorolandó a ficamos törés, mely létrejöhet az ulnatörés és a radiusfejec

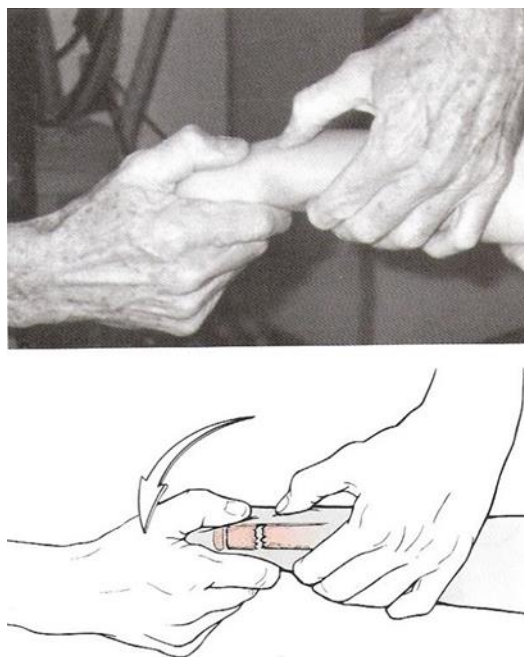
ficam kombinációjaként (Monteggia-törés), illetve fordítva is kialakulhat, a radiustörés társulhat az ulnafejecs ficamával (Galeazzi-törés) (Rockwood and Wilkins 2010., Ács G. et al. 2001.).

2.4. Gyermekkori disztális alkartörések kezelése

2.4.1. Konzervatív kezelés

Az alkar disztális harmadi törések több mint 90%-ában konzervatív kezeléssel jó eredmény érhető el.

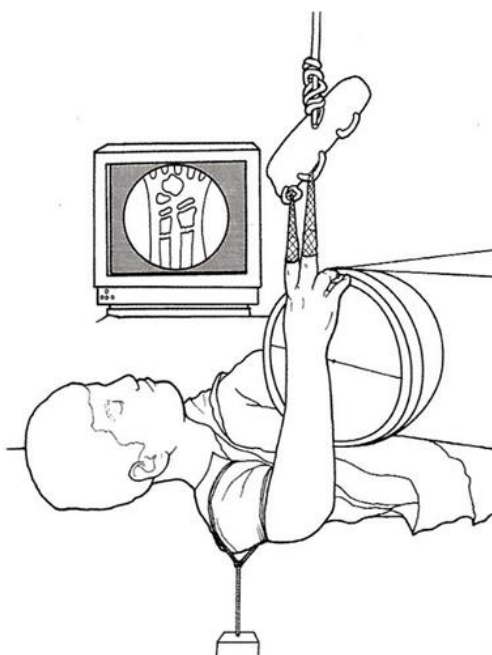
A repozíció történhet narkózisban, de nagyobb gyerekeknél helyi érzéstelenítésben is elvégezhető. Fontos a minél korábbi és kíméletes helyretétel. Fízis töréseknél az alkar hosszirányú húzása már önmagában csökkenti, sőt meg is szüntetheti az elmozdulást (9. ábra).



9. ábra: Összecsúszott törtvégék repozíciója hosszirányú húzással (Rockwood és Wilkins 2010.).

Gyakran óvatos oldalirányú nyomást is kell alkalmazni a törtvégék összeillesztésére. Az elmozdulás oldalán a perioszteum a folytonosságát megtartja, így helyretétel után megfeszülve a törést stabilizálja. Zöldgallytörésnél nem minden esetben kell repozícióra

törekedni, a szögleteltérés és az életkor határozza meg, hogy az adott törésnél szükséges-e a helyretétel. Komplet metafizis törések esetén a repozíciós manővert általában néhány perces húzással kezdjük (10. ábra), ezután az alkart megtörve a deformitást fokozzuk, majd a disztális törtvégeket nagy erővel, hüvelykujjal nyomva ráakasztjuk a proximális törtvégekre és végül a tengelyállást helyreállítjuk (Ács G. et al. 2001.).



10. ábra: Disztális harmadi radiustörés repozíciója vertikális húzással. Mädchenfänger-felfüggesztésben (Rockwood és Wilkins 2010.).

Törekedni kell mind a radius mind az ulna repozíciójára, mert az ulna visszamaradó tengelyeltérése gátolja a radius rotációját az ulna körül. Ha a fedett repozíció sikertelen, akkor perkután technikával próbálkozhatunk, ha ez sem vezet eredményhez, akkor jön szóba a nyílt feltárás (open reduction and internal fixation ORIF) (Rockwood és Wilkins 2010.).

Repozíció után a törést gipszben vagy ortézisben rögzítjük, a törtvégek elmozdulásának megelőzése, valamint a lágyrészek nyugalomba helyezése céljából. Rövid felső végtagi gipszrögzítést alkalmazunk, torus törések, elmozdulás nélküli SH-I, SH-II epifizis sérülések esetén, minden más esetben derékszögű felső végtagi gipsz felhelyezése indokolt. A radius és az ulna egyidejű törése esetén különösen fontos a derékszögű gipsz használata, a rotációs mozgások kivédésére. Fízis törésnél három ponton

támaszkodó, jól modellált gipsz felhelyezése javasolt, dorzális elmozdulás esetén rotációs középhelyzetben, 0-30 fokos csuklóflexió mellett. A ritkább, palmaris elmozdulás esetén szupinált alkar és 30 fokos dorzálflexio az ajánlott rögzítési helyzet. A gipszelés során ügyeljünk, hogy a végtagra a csőpólya felhelyezése gyűrődésmentesen történjen, a nyomási pontok megfelelő alápárnázásával kerüljük a gipsz okozta sérülést. (Ács G. et al. 2001., Renner A. et al. 2011.).

Torus törésnél, 10 éves kor alatt három hetes gipszrögzítés elegendő, idősebb gyerekek esetén négy hetes rögzítés szükséges. Zöldgally törésnél vitatott, hogy milyen helyzetben célszerű a rögzítést felhelyezni. Egyik lehetőség, hogy dorzálisan nyitott tengelyeltérés esetén pronált, ellenkező esetben szupinált helyzetű rögzítést alkalmaznak. Másik lehetőség, hogy a kortikális áttörése után a rögzítés szupinációban történik azért, hogy a brachioradialis izom rediszlokációt okozó hatása kivédhető legyen (Ács G. et al. 2001.). Komplet metafizis törés esetén csak a stabilnak tekinthető törés kezelhető konzervatív módon. Stabil a törés, ha az diszlokáció nélküli, vagy minimális diszlokációval járó haránt-, spirális-, distrakciós törés, ezekben az esetekben feltételezhető, hogy az épen maradt perioszteum, a kortikális és a porcrészek a törtvégeket összetartják (Renner A. 2011.). A rögzítést szupinációban, 0-25 fokban hajlított csukló mellett, 3 ponton modellált gipszben történik.

A gyermekkori csont remodellációs kapacitással rendelkezik, ami alatt azt értjük, hogy a primer csontgyógyulás után visszamaradó tengelyeltérést a szervezet hónapok, évek alatt a növekedéssel korrigálja. A perioszteális-endoszteális remodelláció során a fokozott nyomásnak kitett helyeken csontbeépülés, a csökkent nyomásnak kitett régióban csontfelszívódás történik. Az epifizeális remodelláció esetén a növekedési porclemez fokozott aktivitása jön létre. A remodelláció mértékét befolyásoló tényező a gyermek életkora, a sérülés helye és nem utolsósorban a visszamaradó tengelyeltérés mértéke. Az életkori összefüggésben elmondható, hogy minél fiatalabb a gyermek, annál nagyobb növekedési és remodellációs potenciállal rendelkezik. A magas aktivitású fizisek közelében keletkezett deformitások jobban remodellálódnak. A radius disztális fizise 80%-ban járul hozzá az alkar növekedéséhez, így a disztális radius metafizis törések jobban remodellálódnak, mint a proximális rész sérülései (Renner A. 2011.).

Konzervatív töréskezelés esetén a rediszlokáció lehetőségével számolni kell. Rizikófaktort jelent a nagymértékű kezdeti elmozdulás, az izolált disztális radius törés, a

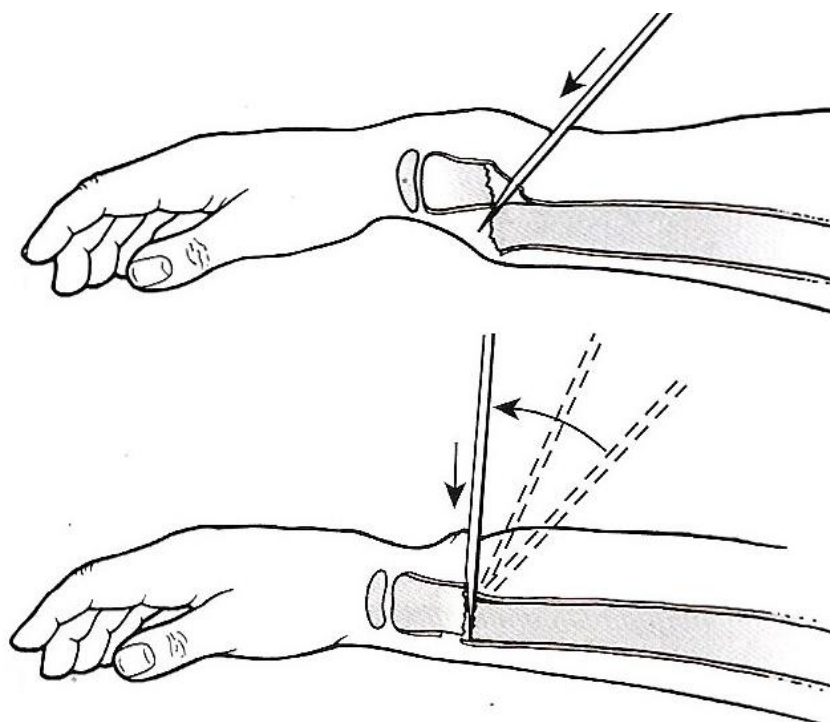
radius töréshez ugyanabban a szintben társult ulna törés, az elégtelen repozíció és a nem megfelelő gipszelési technika (Varga M. et al. 2017., Bae DS. et al. 2006.).

További szövődményként említendő a Volkmann-féle iszkémiás kontraktúra, mely az alkartöréseket rögzítő szoros gipszkötések következménye. A Volkmann-féle iszkémiás kontraktúra kialakulásának oka a végtag keringési zavara, ami az alkari hajlítóizmokban irreverzibilis elváltozásokat, izomelhalást és kötőszövetes átépülést eredményez. Az izmokban kialakult fibrózis és ennek következtében kialakuló kontraktúrák jellegzetes kéztartáshoz vezetnek. Ilyenkor a csukló flexióban, a hosszúujjak alapperce a metacarpophalangealis ízületben hiperextenzióban, az interphalangealis ízületek flexióban és a hüvelykujj adductióban rögzített. A karomkéztartáson kívül jellemző még a kórképre a kar és a kéz sápadtsága, a különböző mértékű érzészavar és a gyógyszeres kezelésre sem szűnő fájdalom. Enyhébb esetben konzervatív kezelés is szóba jöhet, gyógytornával a kontraktúrák mértéke csökkenthető. Súlyosabb esetben csak a műtéti terápia jöhet szóba, ami jelentheti az elhalt izomzat eltávolítását vagy a letapadások oldását myo- és tenotomiákkal (Mészáros I. 2009.).

2.4.2. Operatív kezelés

Operatív töréskezelés alkalmazandó minden instabil törés esetén. Instabilnak minősül minden teljesen diszlokált törés, a kortikális és a perioszteum nagyfokú vagy teljes sérülése miatt. A ferde-, az ékkítöréssel járó, a hosszanti-, a darabos defektussal járó törések a rövidülés lehetősége miatt fokozottan instabilak (Varga M. et al. 2017, Cai H. et al. 2014., Mc Lauchlan GJ et al. 2002.). Műtéti kezelés során a megfelelő stabilitás elérése a cél, amit elsősorban minimálisan invazív módszerekkel próbálunk elérni.

Operatív töréskezelésnél is az első lépés a disztális törtdarab helyretétele, mely általában fedett repozícióval történik, sikertelenség esetén perkután műszeres repozícióval (11. ábra) próbáljuk meg a törtdarab helyretételét (Varga M. et al. 2017., Rockwood és Wilkins 2010.).



11. ábra: Perkután műszeres repozíció sematikus rajza. A kép felső részén a tűződrót körülbelül 45°-ban történő törési részbe vezetése látható, míg a kép alsó részén a tűződrót 90°-ba fordításával a disztális törtdarab helyzetét szemlélteti (Rockwood és Wilkins 2010.).

Perkután tűződróttal a törési részbe hatolunk és kétkarú emelő elve alapján a disztális törtvéget a megfelelő helyzetbe billentjük (11. ábra). Ha nem sikerül fedetten vagy tűződróttal reponálni a törést, akkor nyílt feltáráásra van szükség. Sikeres repozíció után a törés stabilizálása szükséges, amely elérhető perkután tűződrótos oszteoszintézissel, dorzálisan bevezetett („Slongo-féle”) titanium elastic nail-lel (TEN) és short TEN-nel (Varga M. et al. 2017., McLauchlan GJ. et al. 2002., Lieber J. et al. 2010., Satish BR. et al. 2014., Rockwood és Wilkins 2010.).

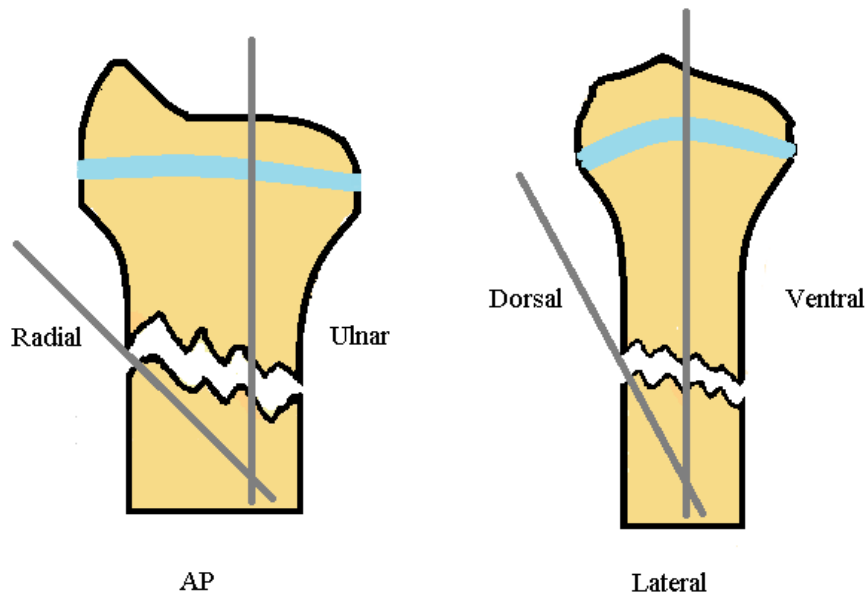
Minimál invazív beavatkozásokon azok a perkután végzett, műszeres beavatkozások értendők, melyeket repozíciós és/vagy retenciós célból végzünk. Számtalan előnnyel rendelkeznek, többek között kevésbé traumatizálnak, minimális a műtéti vérvesztés, csökken az infekció veszélye, az implantátum mérete kicsi, az eltávolításuk atraumatikus, minimális műtéti heggel járnak, nem károsítják a fizist, így a poszttraumás túlnövés mértéke nem haladja meg a konzervatív kezelés utánit és a végtag hamarabb mobilizálható (Lieber J. et al. 2010., Ács G. et al. 2001.).

2.4.2.1. Tűződrótos oszteosztézis

A tűződrótos oszteosztézis több évtizede ismert, világszerte alkalmazott, jól bevált technika. Tűződrótos rögzítés javasolt az instabil, nagy diszlokációval, teljes perioszteum szakadással járó törések ellátásánál, és a sikertelen konzervatív töréskezelés esetén (Varga M. et al. 2017., Lieber J. et al. 2010., Satish BR et al. 2014., Sano K et al. 2013., Madhukar MT. et al. 2013., Ozcab M. et al. 2010.). Instabil törésnek tekintjük a fél csontszélességnél nagyobb oldal irányú diszlokációval járó törést, a hasonló magasságban lévő törést az ulnan, a 10 éves kor alatt 30°-ot, 10 éves kor felett 20°-ot meghaladó tengely irányú diszlokációt, a bajonett állást és a palmaris elmozdulást (Ozcab M. et al. 2010.). Hibás műtéti indikáció a diafizis sérülés és a radius disztális vég epifízisén nagyon ritkán előforduló SH-III., SH-IV. epifízis törés.

A törtségek helyretételének algoritmusá megegyezik a konzervatív kezelésnél leírtakkal. A műtétet általános érzéstelenítésben műtői körülmények között, antibiotikus védelemben végezzük. A tűződrótos oszteosztézis során az instabil disztális törtdarabot a proximális törtséghez rögzítjük. A törés rögzítéséhez egy, kettő esetleg három darab 1,5-2,0 mm átmérőjű Kirschner-drótot alkalmazunk, képerősítő kontroll mellett (Varga M. et al. 2018., Fadgyas B. et al. 2018., Madhukar KT. et al. 2013.). A Kirschner-drót anyaga általában acél, ritkábban egyéb anyag. Előnye, hogy pontosabb célzást tesz lehetővé, ezáltal kisebb az anatómiai képletek sérülésének a veszélye. A bőr és a drótok találkozási pontjai kicsik, amik kis fertőzési kaput és kevesebb infekciós szövődményt jelentenek.

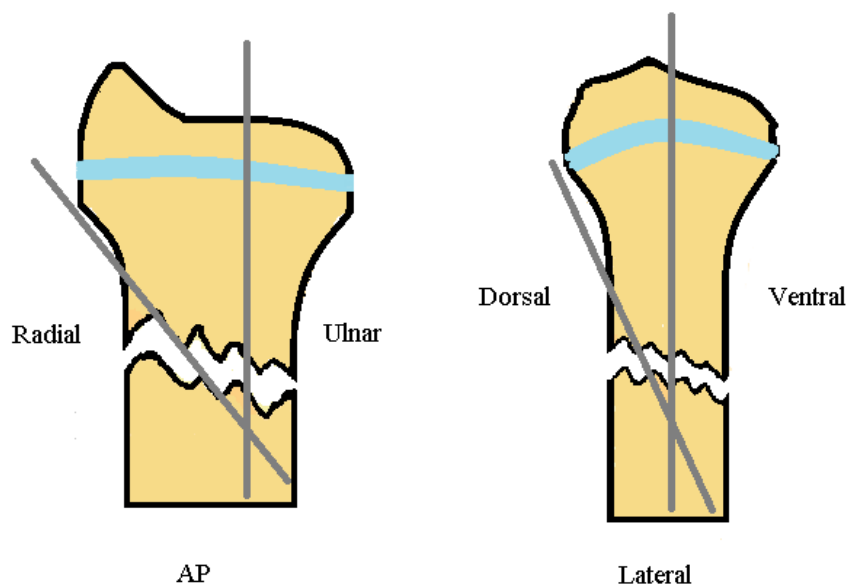
A tűződrótos rögzítés történhet a disztális törtdarab megtámasztásával a proximális törtdarabba fűrt tűződróttal, valamint a törtdarabok keresztül tűzésével (Varga M. et al. 2018., Satis BR. et al. 2014., McLauchlan GJ. et al. 2002.). Az első módszert Kapandji-féle dróttűzésnek nevezzük, ennél a technikánál a tűződrótot a törési résen keresztül proximál felé haladva az ellenoldali kortikálisba fűrjük (12. ábra).



12. ábra: Kapandji-féle tűődrótos oszteosintézis ap és oldal irányú sémás rajza. Két darab tűődróttal történik a rögzítés úgy, hogy a disztális törtdarabot radialról és dorzálról is megtámasztjuk a proximális törtdarabba fűrt tűődróttal (Varga M. et al. 2018.).

A másik módszer a Müller-féle dróttűzés. Ebben az esetben a disztális törtdarabot a fizist elkerülve disztálról proximál felé hozzátűzzük a proximális törtdarabhoz. A tűődrótok hegye az ellenoldali kortikálisban rögzül (13. ábra).

Az első tűődrót bevezetése radialról, a processus styloideus radii felől kis metszésből történik ügyelve arra, hogy a nervus radialis érző ágát és az extensor inat ne sértsük. A második drót általában dorzomediálról kerül behelyezésre.



13. ábra: Müller-féle tűődrótos oszteosintézis. A rajz bal oldalán a Müller-féle dróttűzés anteroposterior irányú sémás rajza látható, az egyik tűődrót radialis, a másik dorzális irányból került bevezetésre. A rajz jobb oldalán lateral felől ábrázoltuk ugyanezt (Varga M. et al. 2018.).

A tűődrótos szintézis nem biztosít megfelelő stabilitást, ezért a műtét után kiegészítő gipszrögzítés szükséges. Dorzális gipszsínt alkalmazunk, neutrális pozícióban, kisebb gyermek esetén (< 10 év) négy hétre, nagyobb gyermeknél hat hétre rögzítjük az alkart. A nyomonkövetés során a posztoperatív röntgenfelvételen kívül még szükség lehet egyhetes, kéthetes és négyhetes kontroll röntgenre is, ennek megítélése döntően a kezelő orvostól és a törés stabilitásától, valamint a tengelyállásától függ. Ha a törés gyógyulási folyamata megfelelő, akkor a tűődrótok eltávolítása a hatodik héttől kezdve megtörténhet és azt követően megkezdhető a fizikoterápia. A tűődrótok eltávolítása történhet altatásban vagy helyi érzéstelenítésben is. Az epikután hagyott tűődrótok eltávolítása helyi érzéstelenítésben könnyen kivitelezhető. A Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinika sebészeti munkacsoport közleménye alapján az epikután hagyott tűődrót nem fokozta az infekciós szövődmények arányát (Balogh B. et al. 2015.). A relatív stabilitás miatt előfordulhat, hogy a törtvégek a tűődrótos rögzítés ellenére visszabillegnek, ebben az esetben re- repozíció és újabb műtét válhat szükségessé.

További problémát jelent a gyermek nyitott, és aktív növekedési porcainak a közelsége, mely miatt számos töréstípus nem rögzíthető stabilan anélkül, hogy a növekedési porc ne sérülne. A növekedési porc a csuklótájékon különösen érzékeny struktúra, a stimulációja fokozott hossznövekedést okoz, a sérülése, illetve a tűződróttal való átszúrása növekedésleállást és következményes csont deformációt eredményezhet (Abzung JM. et al. 2014.). A nemzetközi irodalomban kifejezetten instabil törések esetén ennek ellenére a növekedési porc tűződróttal való fixálását javasolják, azonban a gyakorlatban erre nagyon ritkán kerül sor (Lieber J. et al. 2010., Lee SC. et al. 2013.).

A növekedési porcot megkerülő dróttűzési technikával a későbbi növekedési zavar jó eséllyel elkerülhető, ugyanakkor ezek a technikák sokszor tovább csökkentik a tűződrótos műtéttel elért stabilitást, a gipszrögzítés alkalmazása továbbra is elkerülhetetlen marad (Ács G. et al. 2001).

A tűződrótos rögzítés további komplikációi közé sorolható a tűződrótok elvándorlása. A drótok kicsúszva a csontból bejuthatnak a két csont közé, vagy kijuthatnak a bőrfelszínre. Utóbbi esetben a stabilitás elvész, a törés elmozdulhat, ami a lágyrészekben irritációt és potenciálisan ér-ideg sérülést okozhat (Subramanian P. et al. 2012., Tosti R. et al. 2015.).

A tűződrót behelyezése a bőrön keresztül történik, ez behatolási kaput biztosíthat a csont felé bőr felszínén lévő baktériumoknak. A bőr felszínéről bejutott baktériumok általában enyhe lefolyású infekciót generálhatnak. Infekciós szövődmény esetén antibiotikus kezelés javasolt, illetve a tűződrót korai eltávolítása is indokoltá válhat (Hargreaves DG. et al. 2004.).

2.4.2.2. Dorzálisan bevezetett („Slongo-féle”) titán elasztikus velőűrszegezés

A TEN a csöves csontok diafizis törésének kezelésére szolgáló minimál invazív intramedulláris rögzítési technika. ESIN-technikának is nevezik (ESIN: Elastic Stable Intramedullary Nailing), azaz rugalmas stabil intramedulláris szegezésnek (Cai H. et al. 2014., Schmittenbecher PP. et al. 2005., Kapoor V. et al. 2005., Oberle M. et al. 2005.).

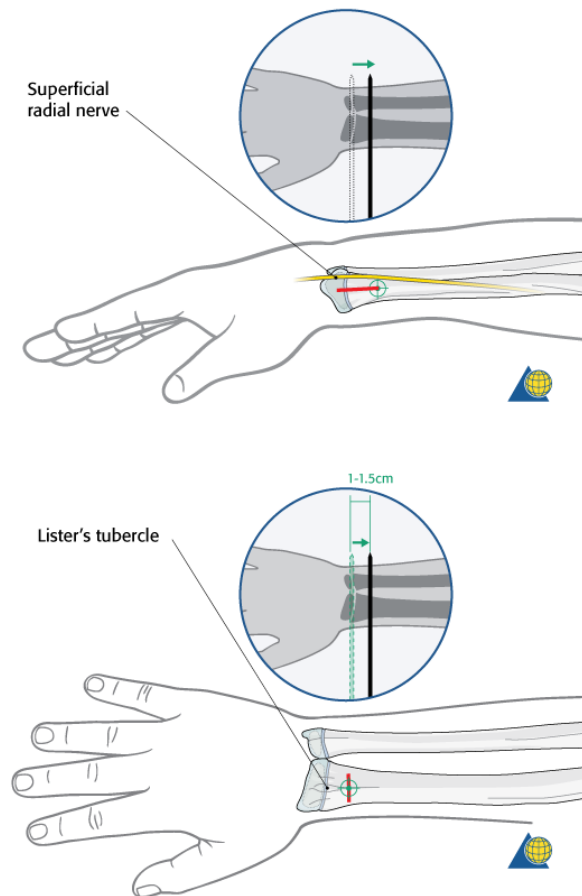
A módszer harminc éve ismert, hazánkban az elmúlt két évtizedben terjedt el. Az alkar középső és proximális harmadi törések kezelési módszere. Indikációi közé tartozik a komplett alkartörés, az izolált radius törés 10 °-nál nagyobb valgus deviációval, a

Monteggia-törés, a nyílt törés, a politrauma és az átmeneti zónát érintő disztális harmadi radius törés (Varga M. et al. 2018., Joulié S. et al. 2011., Hangs-Georg Dietz et al. 2006., Kapoor V. et al. 2005., Oberle M. et al. 2005.).

A technika lényege, hogy kis metszéből speciális titán ötvözetből készült rugalmas szegekkel stabilizáljuk az alkar csontjait. A TEN különleges anyagminősége egyszerre nagy teherbíró képességet és rugalmasságot biztosít. A bevezetett szeg három ponton a kortikálishoz támaszkodva biztosítja a megfelelő stabilitást. Egyik pont a proximális metafízis, amelybe a titán elasztikus szeg vége befűrődik. A második pont a kortikális törési vonalban lévő magassága. A harmadik pedig a bevezetés pontja, ahol szintén a kortikálisban rögzül. A megfelelően alkalmazott velőűrszegezés önmagában kellő stabilitást nyújt, így gipszrögzítés nem szükséges.

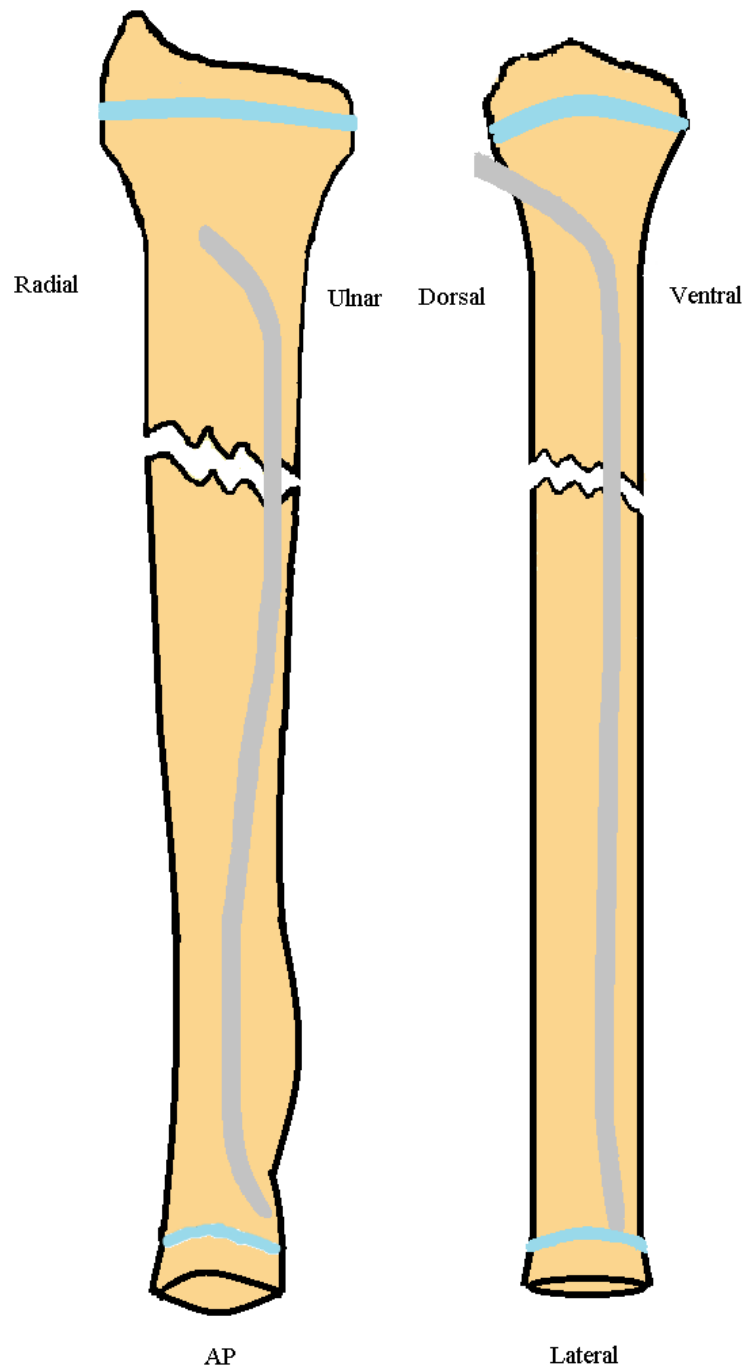
Izolált radius törés esetén az orsócsontba egy TEN kerül bevezetésére, azonban komplett alkar törés esetén mindkét csontba indokolt egy-egy TEN bevezetése (nagyobb csöves csontok esetén, mint a humerus, a tibia és a femur, a megfelelő törésszabályozás eléréséhez két elasztikus szeg szükséges) (Schmittenbecher PP. et al. 2005.).

A műtét kivitelezése általános anesztéziában, steril műtői körülmények között, antibiotikumos védelemben és képerősítő kontroll mellett történik. A törés fedett repozíciója után az alkart szupinált helyzetbe hozzuk és felkeressük a bevezetési pontokat. A radius velőűrszegezése retrográd irányból, kétféle módon történhet, egyrészt radialról, a processus styloideus radii-től proximálisan, másrészt dorzálisan a Lister tuberculumtól proximálisan (14., 15. ábra) (Varga M. et al. 2018., Schmittenbecher PP. et al. 2005., Hans-Georg Dietz et al. 2006.).



14. ábra: A TEN-ek bevezetési pontjainak sematikus rajza. A kép bal oldalán a radius velőűrszegezés radialis bevezetési pontja, míg a jobb oldalon a dorzális behatolás pontja. (www2.aofoundation.org).

A dia- metafízis határán lévő törések esetén általában a dorzális irányú bevezetést vagy más néven a SlongoTEN technikát alkalmazzuk. Radius törés esetén az anterográd bevezetés egyes szerzők szerint megfelelő alternatíva lehet, míg mások nem javasolják a nervus radialis mély ágának a sérülése miatt. Az ulna velőűrszegezése ezzel szemben anterográd irányból, az olecranon lateralis kortikálisán keresztül történik.



15. ábra: Dorzálisan bevezetett titán elasztikus velőúrszeg ap és oldal irányú sémás rajza. A radius velőúrszegezése retrográd irányból, dorzálisan a Lister tuberculumtól proximálisan történik (Varga M. et al. 2018.).

Az orsócsont velőúrszegezése során első lépésként egy néhány mm-es incíziót ejtünk a tapintható Lister tuberculum felett, majd ezt követően tompa eszközzel óvatosan letoljuk a lágyrészeket. Képerősítővel ellenőrizzük, hogy a fizistől és a Lister tuberculumtól proximálra nyissuk meg a velőúrt úgy, hogy az árral fokozatosan irányított mozdulatokkal, majdnem merőlegesen tartva fúrjuk át a dorzális kortikálist. Fontos, hogy

a szemben lévő kortikálist ne fúrjuk át. A velőűr megnyitása után bevezetjük az elasztikus szeget. A behatolási ponttól a velőűrön keresztül egészen a proximális metafízisig vezetjük fel a TEN-t óvatosan, lassan és erőltetés nélkül. A disztális törtdarabban még nem szabad erőltetnünk, mert kitörhetjük a disztális darab dorzális kortikálisát. A velőűrszeg középső megtámasztási pontját úgy hozzuk létre, hogy a szeg disztális végét a levágás előtt meghajlítjuk, ívet képzünk benne a metafízis magasságában úgy, hogy az ív csúcspontja a törési résnél rögzüljön a kortikálisban. A TEN levágásánál figyelünk kell arra, hogy a TEN vége ne irritálja a feszítő izmok inait, ne kubitálja a bőrt és később el lehessen távolítani. A megfelelő szegvég eléréséhez anteflektált helyzetbe hozzuk a csuklót, mert ebben a helyzetben a legfeszesebb a TEN vége felett a bőr (Varga M. et al. 2018., Hans-Georg Dietz et al. 2006.). Gyermekkori alkar törések esetén különböző átmérőjű, leggyakrabban 2-3 mm átmérőjű elasztikus szegeket használunk. Azt a szeget tartjuk megfelelő méretűnek, amelyik a velőűr átmérőjének a kétharmadát kitölti.

Az elasztikus velőűrszegezés lehetséges szövődményei közé tartozik a szegvég okozta bőrirritáció, a felületes vagy mély infekció, a m. extensor pollicis longus inának a sérülése, illetve előfordulhat az implantátum okozta csonttörés (Fadgyas B. et al. 2018., Teddy F. Slongo 2005.). Számos előnye mellett a velőűrszegezés hátránya, hogy az eltávolítása lokális érzéstelenítésben nem kivitelezhető, így a fémkivétel során egy újabb altatásra van szükség. A fémkivétel időpontja az első beavatkozást követő 4-6 hónapon belül esedékes, a törés teljes radiológiai átépülése esetén. Szövődmények esetén az implantátum korábbi eltávolítása javasolt.

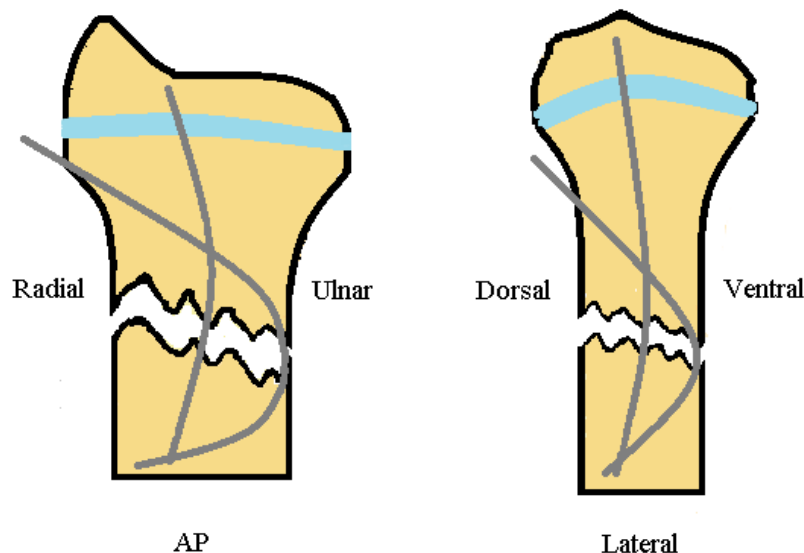
2.4.2.3. Rövid elasztikus velőűrszegezés

A rövid elasztikus velőűrszegezés (short TEN) az elmúlt években került kidolgozásra a gyermekkori, operatív ellátást igénylő, nagy elmozdulással járó disztális radius és alkartörések kezelésére (Varga M. et al. 2018.).

A műtéti technika lényege, hogy a hagyományos TEN és a tűződrótos rögzítés előnyeinek kombinálásával a középső harmadi alkartöréseknél már jól bevált titán elasztikus velőűrszegezéssel a csukló táji törések is nagyon stabilan, minimál invazív technikával, anatómiai helyzetben rögzíthetőek. Az újítást a műtéti technika minimális módosítása és kiterjesztett indikációja jelenti. A műtéti technika annyiban módosul, hogy az elasztikus szegeket rövidebbre vágjuk és speciálisan „C” alakban meggörbítjük.

A short TEN segítségével a hagyományos tűződrótos rögzítéshez képest egy stabil, annak hátrányait kiküszöbölő fixálást érünk el. A műtét előnye, hogy a gyermek alkarja akár külső rögzítés nélkül is maradhat, a stabil intramedulláris rögzítés azonnali mobilizációt tesz lehetővé, a rediszlokáció esélye gyakorlatilag megszűnik, csakúgy, mint az implantátumok elvándorlásának a lehetősége.

A műtéti technika három alappillére a repozíció, a TEN előkészítése és a szegek bevezetése, pozícionálása. A törés konfigurációja alapján az operátor meghatározza, hogy hány szeggel kívánja a törést stabilizálni. A disztális dia- metafízis határon lévő törések esetében általában egy, a nagyfokban diszlokált, instabil törések esetében kettő szeggel célszerű a rögzítést elvégezni. A szegek végét a bevezető eszközbe fogjuk és kb. 10-12 cm-es darabot hagyunk szabadon. A szegeket szabályos „C” alakúvá görbítjük, úgy tervezve meg a hosszát, hogy a legnagyobb görbületnek kell a törési rés magasságába esnie. Az ettől proximális és disztális résznek nagyjából hasonló nagyságúnak kell lennie. A bevezetési pontok nem különböznek a hagyományos TEN bevezetési pontjaitól. A short TEN technika során mind a hagyományos radialis, mind a dorzális bevezetést használjuk (16. ábra).



16. ábra: Rövid velőűrszegezés sémás ábrája. Az egyik velőűrszeg dorzális irányból, a másik radialisán bevezetve, ez bal oldalon anteroposterior, míg jobb oldalon lateralis nézetből látható (Varga M. et al. 2018.).

Először célszerű dorzál felől a szeget bevezetni. A szeget a „C”-alakban meghajlított ív alatt fogjuk be, az ív konvex oldalával előrefelé (ventrál felé) tekintve erőltetés nélkül az

ív sugarának megfelelően görbítve és előretolva vezetjük be. A szeget a disztális törtdarabban még nem szabad erőltetni, mert kitörhetjük a disztális darab dorzális kortikálisát. Fontos, hogy a szeget a csontba való behelyezést követően már ne hajlítsuk, az alakját ne konfiguráljuk, mert a kis disztális darab miatt további csonttörést okozhatunk. A proximális velőűrt elérve a szeg megfeszül, a szeget ekkor óvatos mozdulatokkal kell előretolni úgy, hogy a görbület nagyobb íve a törési rés magasságába kerüljön. A szeg apró rotációjával lehet a megfelelő helyzetet beállítani. Amennyiben a törés stabilan rögzül, további TEN bevezetése már nem szükséges, a szeg végét levágjuk és a bőr alá süllyesztjük. Figyelni kell arra, hogy a szeg vége a csukló maximálisan flektált helyzete mellett éppen a bőr alatt legyen. A túl hosszan hagyott szegvég irritálni fogja a bőrt, és dekubitálhatja, fertőzőes panaszt okozhat, míg a túl rövid szeget nehéz eltávolítani, illetve a feszítőín sérülését okozhatja. Egy elasztikus szeggel történő stabilizálás esetén érdemes minél vastagabb átmérőjű TEN-t választani, hogy az a velőűrbe kellően befeszüljön. Ha a dorzálisan bevezetett szeg után instabilitás marad vissza, akkor következik a radialis szeg bevezetése. Az előzőhöz hasonlóan „C”-alakúra formázott elasztikus szeget a típusos radialis irányból vezetjük a csontba, miután a bőrmetszést követően a lágyrészeket tompa eszközzel a csonttól letoljuk. A fizistól proximálisan a csont hossz tengelyére hegyes szöveget bezárva, proximál felé célozva megnyitjuk a velőűrt. A radialis szeget hasonlóan óvatosan, a „C” íve mentén görbítjük előre, és a csak a proximális velőűrt elérve feszítjük meg. A görbület legnagyobb íve itt is a törési rés magasságában helyezkedjen el, a konvexitás ugyanakkor a dorzális szegre merőlegesen, a csont ulnaris oldala felé nézzen. Amennyiben a törés stabil, és további szeget nem kívánunk bevezetni, a szeg végét levágjuk és a bőr alá süllyesztjük. Ebben az esetben figyelni kell arra, hogy a TEN véget mélyebben vágjuk le, mert a radiális oldalon a bőr irritációja a szegvég által igen gyakori szövődmény a hagyományos titán szegezés során is. Short TEN esetén a műtét utáni duzzanat és a fájdalom miatt néhány napra érdemes pihentető palmaris gipszsínt vagy levehető tépőzáras brace rögzítést alkalmazni. A külső rögzítést, a gyermek szubjektív panaszaitól függően, általában az első hét végén teljesen el lehet hagyni. A tűződrótos technikánál alkalmazott négy-hat hetes magas, illetve alkari körkörös gipszrögzítés itt nem szükséges (Varga M. et al. 2018.).

A gyermek a megszokott, rutin könnyű feladatokat (rajzolás, írás) végezheti, a testnevelést és a sporttevékenységet, a nehéz fizikai munkát a csontos kallusz megjelenéséig kerülnie kell. Kontroll RTG felvételt a műtét után közvetlenül, a műtét utáni 5-7. napon, valamint négy, illetve nyolc hetes korban javasolt készíteni, azonban bármilyen instabilitásra utaló jel vagy gyanú esetén ez heti rendszerességgel történjen.

A negyedik hét után, ha a csontos kallusz megjelent, a könnyebb fizikai aktivitás megkezdhető. A nyolcadik héten általában a teljes átépülés radiológiai megjelenése után a gyermek a korábbi sporttevékenységéhez is visszatérhet. A fémek eltávolítását három-hat hónappal a műtét után javasolt elvégezni, azonban panasz esetén (fémek okozta bőrirritáció) ez hamarabb is elvégezhető. Az alkar disztális területén a csontos konszolidáció kialakulása után (ellentétben az alkar diafizis töréssel) nem kell számolni azzal, hogy a túl hamar elvégzett fémeltávolítás miatt refraktúra alakul ki. A fémeltávolítás a beteg korát és kooperatív képességét figyelembe véve történhet rövid narkózisban vagy helyi érzéstelenítésben. Amennyiben az ulna törését is rögzítettük TEN-nel, a fémeltávolítás feltétlenül narkózisban javasolt. Rövid elasztikus velőűrszegezés során a szövődmények megegyeznek a hagyományos TEN szövődményeivel. Lateralis behatolásakor a n. radialis érző ága, dorzális bevezetés során a m. extensor pollicis longus in sérülhet. A túl hosszúra hagyott szegvég bőrirritációt okozhat, felületes és mély infekció is kialakulhat (Varga M. et al. 2018., Theddy F. Slongo 2005.).

3. Célkitűzések

A törés gyógyulás pontos molekuláris biológiai alapjai még nem tisztázódtak teljesen. Számos bizonytalan kérdés vetődik fel a csont regenerációja kapcsán. Az állatkísérletes tanulmányban vizsgáltuk az endogén PACAP hiányának törésgyógyulásra gyakorolt hatását.

A gyermekkori operatív ellátást igénylő disztális radius törések gyakoriak. A dia-metafízis (átmeneti zóna) határán lévő törések kezelése komoly kihívást jelent. A „senki földjének” is nevezett régióban kialakuló törések kezelése nehéz, nincs egyértelmű ajánlás, hogy melyik módszer vezet jobb eredményre. Több kezelési metódus található az irodalomban, de összefoglaló dolgozat arról, hogy melyik műtéti technika ad jobb eredményt, ez idáig nem született.

Kutatásom fő célja:

1. A WT és a PACAP KO egerek femurjainak vizsgálata.
2. A PACAP a törésgyógyulásban betöltött hatásának vizsgálata egér tibia törés modellen. A vad-típusú és a homozigóta PACAP-génhiányos egerek törés gyógyulását hasonlítottuk össze.
3. Micro-CT segítségével morfológiai és denzitometriás méréseket végeztünk, majd a kalluszból származó mintákat különböző módszerekkel (Western blot, PCR) vizsgálatuk.
4. A retrospektív vizsgálat alapján meghatározni a három műtéti technika indikációs területeit. Röntgen felvételeken a radius és a radius–ulna együttes átmérőjéből levonható-e olyan következtetés, ami a műtéti technika megválasztását segíti?
5. Megállapítani az egyes műtéti technikák által elért radiológailag kontrollált eredményt, tengelyeltérést.
6. Célunk volt kideríteni, hogy a különböző választott műtéti technika mitől függött? A radius disztális epifízis átmérőjétől, a radius-ulna együttes átmérőjétől, esetleg a törés ízfelszínétől mért távolsága, ami befolyásolta a választást.
7. Annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy az ízfelszínétől mért töréstávolság a radius-disztális epifízis átmérőjéhez viszonyítva meghatározza-e a választandó műtéti technikát?

4. Anyagok és Módszerek

4.1. Állatkísérletes modell

Kísérleteink során 3 hónapos egerek femurját (vad típusú, wild type (WT) n=18, PACAP knock out (KO) n=18), valamint a tibia törés utáni gyógyulási folyamatokat (WT n=12, PACAP KO n=12) vizsgáltunk. Az állatokat standard laboratóriumi körülmények között, ad libitum táplálék- és folyadékellátás mellett tartottuk 12 órás világos-sötét ciklusban, 20-22°C-on és 40-60% közötti páratartalomban. Az állatok elhelyezését és gondozását az etikai szabályoknak és az egyetemi protokollnak megfelelően végeztük (BA02/2000-24/2011, Pécsi Tudományegyetem). Az állatok genotípusizálása a Phire Animal Tissue Direct PCR kit (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) alapján történt (Farkas J. et al. 2017.).

4.1.1. Teljes hátsó végtag alizarin festés

A hátsó végtagot előkészítése után PBS oldatban háromszor átmostuk, majd fixáltuk 4:1 arányú abszolút ethanol és 40% formaldehid oldat keverékében (Sigma-Aldrich, Saint Luis, MO, USA). Alkoholos lemosást követően 30, 60 és 80 mM KOH oldatban 3, 2 és 1 napig inkubáltuk, addig, míg a szövetek teljesen áttetszővé váltak. A visszamaradó KOH eltávolítása háromszori PBS oldatban történő mosással történt. A mintákat alizarin vörössel (Sigma-Aldrich, Saint Luis, MO, USA) festettük 15 percig. A nem kötődött festéket glicerin oldattal mostuk le. A mintákat Olympus kamerával fotóztuk. A femur disztális részének optikai denzitását ImageJ 1,40 g freeware segítségével mértük. Az eredményt a vad típusú minták optikai denzitásához viszonyítottuk.

4.1.2. Három pontos femur törésteszt

A femur három pontos törés tesztje Chatillon TCD225 tensile teszt gépen történt. A csont középső, centrális részére 5 mm átmérőjű körkörös fejű eszközzel nyomást

gyakoroltunk, a fej sebessége 2 mm/min volt a kísérlet során. A nyomási erőt (F_m) a hajlítás deformációjának mértékét (Δl_m), a törés pillanatában mértük.

4.1.3. Törés modell

Tizenkét KO és 12 vad típusú 20-30 grammos egerek mindkét oldali tibia törésének létrehozása intraperitoneális (Euthasol 1%-os oldat 7 μ l/10 g) narkózisban történt. A tibia proximális harmadában, a ventralis felszín feltárása után az elülső él kipreparálását követően az izmok precíz leválasztása után alakítottuk ki a monokortikális törést. A törés kialakítása standardizált módon a tibia proximális ízfelszínétől 5 mm-rel disztálisan, 0,5 mm mélységben egy olyan speciális szike segítségével történt, melyen 1 mm magasságban jelölést helyeztünk el a standard mélység létrehozása érdekében. Tekintettel arra, hogy az elülső monokortikális oszteotómia után stabil törést hoztunk létre, emiatt sem belső, sem külső rögzítőt nem alkalmaztunk. A sebek zárását 5/0 Nylon fonallal végeztük. A posztoperatív szakban az egerek subkután adott Buprenorphine (0,05-0,1 mg/ttkg) fájdalomcsillapításban részesültek.

4.1.4. Micro-Computed Tomography (Micro-CT)

A femur diafizis (n=18) elülső, hátulsó kortikális vastagságát ugyanabban a CT szeletekben, míg a femur denzitását a trochanter major régiójában mértük. A tibia törés igazolására, a mélység, valamint a lokalizáció ellenőrzése miatt micro-CT (Skyscan 1176 mikro CT) vizsgálat történt a 3., 7. és a 21. napon. A CT vizsgálatokat intraperitoneális (Euthasol 1%-os oldat 7 μ l/10 gr) narkózisban végeztük (17. ábra). A felvételek elemzése a Nrecon és CT Analyser (Bruker microCT, Kontich, Belgium) szoftverekkel történt. A vizsgálat során alkalmazott szkennelési paraméterek a következők voltak: 55 kV feszültség, 450 μ A áramerősség, 350 ms expozíciós idő, 0,5 mm filter vastagság. A csont ásványi anyag tartalmát (Bone mineral density, BMD) a kalcium hydroxiapatit térfogatsűrűsége alapján határoztuk meg gcm^3 -ben. Hounsfield unit standard a mértékegysége a röntgensugárzásnak, amiben a levegő (-1000) és a víz (0) meghatározott értékkel rendelkezik. A két denzitás meghatározására szolgáló paraméter integrált értékelését teszi lehetővé a Skyscan CT Analyser. A törésgyógyulás során a kallusz képződés meghatározása a szoftver segítségével történt.



17. ábra: Az intraperitoneális altatásban történő mikro-CT vizsgálat, az egér kifestetése és a két hátsó végtag rögzítése.

4.1.5. Fénymikroszkópos vizsgálat

A femurt a lágyrészek eltávolítása után 24 óráig, szobahőmérsékleten 4%-os paraformaldehid oldatban fixáltuk. A mintát 0,1 MPB oldatban mostuk, majd fagyasztottuk 10%-os szukrózban 1 óráig, majd PBS-ben 20%-os szukróz oldatban áztattuk egy éjszakát 4°C-on. A fagyasztott metszet elkészítéséhez a femurt fagyasztó mediumba (Tissue-Tak, OCT Compound, Sakura Finetech, Zoeterwade, Hollandia) ágyasztuk. Kriosztáttal (Leica, Nussloch, Németország) történt a kemény szövet 20-30 sorozatmetszet készítése. A metszeteket (mounted) chrome-alum-gelatin-kötölt lemezekre helyeztük. A mintákat PBS oldatban háromszor átmostuk, majd alizarin vörössel (Sigma-Aldrich, Saint Luis, MO, USA) festettük 5 percig a kalcium depozitumok kimutatása céljából. A kalcium-foszfát depozitumok kimutatására von Kossa (Millipore, Billerica, MA, USA) festést használtunk. A mintákat PBS oldatban történő mosás után 1%-os ezüst nitrát oldatban inkubáltuk 40 percig. A metszeteket eltávolítottuk, majd exponáltuk 10 percig UV fényel. PBS oldatban háromszor átmostuk, majd 5%-os $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ oldatban 10 percig inkubáltuk. A mintákat DPX-el fedtük, majd Olympus DP72 kamerával, Nikon Eclipse E800 mikroszkóp alatt fotóztuk (Nikon Corporation, Tokyo, Japán). Az optikai denzitást ImageJ 1,40 g freeware segítségével mértük. Az eredményt a vad típusú minták optikai denzitásához viszonyítottuk.

A tibia törést követő 3., 7. és a 21. napon 4 PACAP KO és 4 WT egeret pentobarbitállal (100 mg/ttkg) túlaltattuk, majd az eltávolított femurt és tibiát PBS oldatban háromszor átmostuk, majd fixáltuk 4:1 arányú abszolút ethanol és 40% formaldehid oldat keverékében (Sigma Aldrich Saint Luis, MO, USA). A csontok a 4 hetes 4%-os EDTA oldatban történő dekalcinálása után puhává váltak. A mintákat felszálló alkohol soron dehidráltuk, majd paraffinba ágyasztuk. A paraffin blokkokból mikrotómmal 5 mikrométeres sorozatmetszeteket készítettünk, melyeket tárgylemezre téve haematoxylin-eosinnal (HE, Sigma Aldrich Saint Luis, MO, USA) festettük. A metszeteket Olympus DP72 kamerával, Nikon Eclipse E800 mikroszkóp alatt fotóztuk (Nikon Corporation, Tokyo, Japán).

4.1.6. RT-PCR

A tibia felületének megtisztítása után kb. 2 mm³ kalluszt távolítottunk el. Az eltávolítás után a mintát folyékony nitrogénben fagyasztottuk, majd Trizolban homogenizáltuk (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA), a mintákat 20%-os RNáz free kloroform oldatban 4°C-on 10000xg 15 percig centrifugáltuk. Ezt követően 500 µL RNáz mentes isopropanol oldatban -20°C-on 1 óráig inkubáltuk, majd a teljes RNS izolálása utána RNáz mentes vízben tároltuk -20°C-on. Az RT-PCR reakcióhoz 2 µg RNS, 0,112 µM oligo (dT), 0,5 mM dNTP, 200 U High Capacity RT (Applied Biosystem) 1x RT puffert használtunk. A reakciót PCR gépben (Labnet Multigene TM 96-well Gradient Thermal Cycler) végeztük. A reakció 21 µL térfogatban (1µL forward és reverse primer, [0,4 µM], 0,5 µM dNTP [200µM] és 5 U Promega Go Taq DNS polimeráz 1 x reaction buffer) 95 °C-on 35 cikluson keresztül történt. A primerek részletes adatait a rájuk jellemző anellációs hőmérsékletet a (1. áblázat) tartalmazza.

<i>Gén</i>	<i>Primer</i>	<i>Nukleotid szekvencia (5'→3')</i>	<i>GénBank ID</i>	<i>Lágyulási hőmérséklet</i>	<i>Amplimer size (bp)</i>
Alkaline phosphatase (Alpl)	sense	GAA GTC CGT GGG CAT CGT (474–491)	NM_013059	59°C	347
	antisense	CAG TGC GGT TCC AGA CAT AG (801–820)			
BMP2 (Bmp2)	sense	AAG CCA GGT GTC TCC AAG (697–714)	NM_017178.1	53°C	209
	antisense	AAG TCC ACA TAC AAA GGG TG (886–905)			
BMP4 (Bmp4)	sense	TAG TCC CAA GCA TCA CCC (876–893)	NM_012827.2	53°C	294
	antisense	TCG TAC TCG TCC AGA TAC AAC (1149–1169)			
BMP6 (Bmp6)	sense	CCC AGA TTC CTG AGG GTG A (936–954)	NM_013107.1	56°C	248
	antisense	CAT GTT GTG CTG CGG TGT (1166–1183)			
Collagen type I (Colla1)	sense	GGG CGA GTG CTG TGC TTT (348–365)	NM_007742.3	60°C	388
	antisense	GGG ACC CAT TGG ACC TGA A (717–735)			
Actin (Actb)	sense	GCC AAC CGT GAA AAG ATG A (419–437)	NM_007393.5	54°C	462
	antisense	CAA GAA GGA AGG CTG GAA AA (861–880)			
	antisense	CCT CGC TTC CGC TAC AGA (1180–1197)			
Smad1 (Smad1)	sense	AGC ACC TAC CCT CAC TCC C (935–953)	NM_013130.2	56°C	306
	antisense	GAA ACC ATC CAC CAA CAC G (1222–1240)			

1. táblázat: A vizsgálatok során alkalmazott primerek és a jellemző paraméterek.

A PCR végtermékeit ethidium bromidot tartalmazó 1,2%-os agarózgélben futattuk. Belső kontrollként aktint használtunk. Az optikai denzitást ImageJ 1,40 g freeware segítségével mértük. Az eredményt a kontroll szövet optikai denzitásához viszonyítottuk, a változásokat az aktinra normalizáltuk.

4.1.7 Western blot

A tibia felületének megtisztítása után kb. 2 mm³ kalluszt távolítottunk el. Az eltávolítás után a mintát folyékony nitrogénben fagyasztottuk. A centrifugálás után a kis szövetrészeket egy homogenizátor segítségével porrá zúztuk és 100 µl RIPA oldatban szuszpendáltuk. A mintákat ezt követően -70°C-on tároltuk. A mintákat jégen tartva

ultrahangos feltárával 30 sec alatt mikrofragmentumokra zúztuk (Cole-Parmer, Illinois, USA). Az így nyert minta felső része habos, míg az alsó része szürkés volt a kicsapódott sókristályok miatt. A Western blot során teljes sejt lizátumokat használtunk. A mintákat Laemmli elektroforézis pufferben (4% SDS, 10% 2-mercaptoethanol, 20% glicerol, 0,004% bromophenol blue, 0,125 M Tris HCL pH 6.8) készítettük elő.

Körülbelül 20 µg fehérjét szeparáltunk el 7,5%-os SDS-PAGE gélben a következő fehérjék kimutatására: ALP, I-es típusú kollagén, BMP2, BMP4, BMP6, Smad1. A fehérjéket nitrocellulóz membránra transzferáltuk. 5%-os phosphate buffered saline (PBST), 0,1% Tween 20 blokkolása után a membránokat mostuk és elődleges antitesttel egy éjszakán át 4°C-on tartottuk. Az antitestek hígításait és adatait a 2. táblázatban tüntettük fel.

<i>Antitest</i>	<i>Gazda állat</i>	<i>Hígítás</i>	<i>Gyártó</i>
Anti-Coll. I.	egér, monoklonális	1:1000	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA
Anti-ALP	nyúl, poliklonális	1:500	Abcam, Cambridge, UK
Anti-BMP2	egér, monoklonális	1:500	Abcam, Cambridge, UK
Anti-BMP4	nyúl, poliklonális	1:600	Cell Signaling, Danvers, MA, USA
Anti-BMP6	nyúl, poliklonális	1:200	Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA
Anti-Smad1	nyúl, poliklonális	1:600	Cell Signaling, Danvers, MA, USA
Anti-Actin	egér, monoklonális	1:10000	Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA

1. táblázat: A vizsgálatok során alkalmazott antitestek és adataik.

PBST oldatban történő 30 perces mosást követően a membránokat inkubáltuk anti-rabbit IgG (Bio-Rad Laboratories, CA, USA 1:1500), anti-goat IgG (Sigma-Aldrich Saint Luis, MO, USA 1:2000) és anti-mouse IgG (Bio-Rad Laboratories, CA, USA 1:1500) másodlagos antitestekkel. A jelet kemolumineszcencia (Pierce TM, MA, USA) segítségével detektáltuk. A jel a röntgen filmekre került előhívásra majd (Fluorochem E, ProteinSimple, CA, USA) gél dokumentációs rendszerben fotóztunk. Belső kontrollként aktint használtunk. Az optikai denzitást ImageJ 1,40 g freeware segítségével mértük.

Az eredményt a kontroll szövet optikai denzitásához viszonyítottuk a változásokat az aktinra normalizáltuk.

4.1.8. Statisztikai analízis

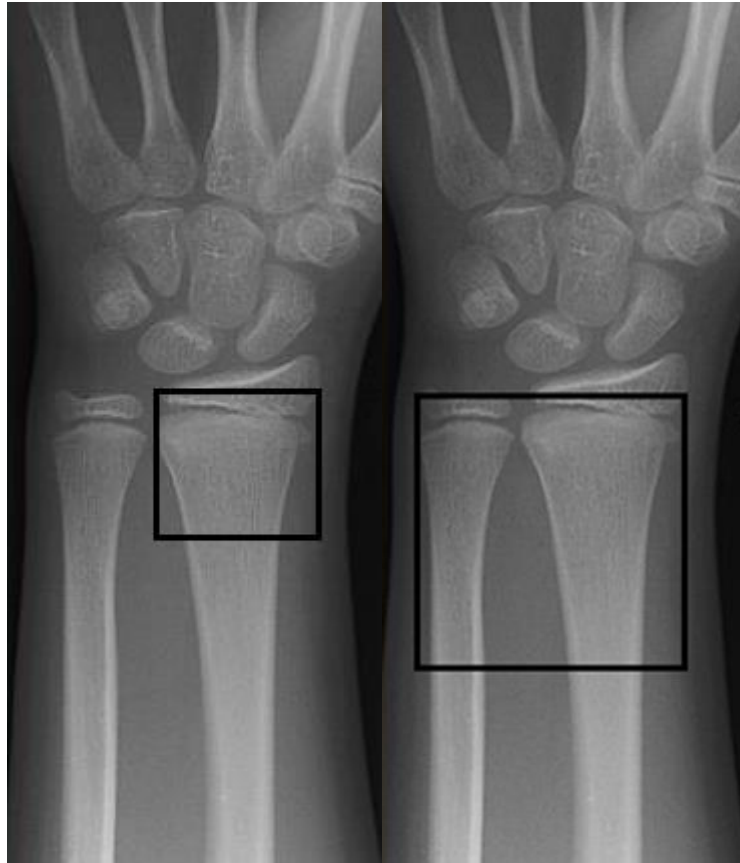
A kísérleteink során minimum 4 független kísérletet hasonlítottunk össze, majd az adatok átlagát határoztuk meg. Az eltéréseket a kontroll (nem operált) és operált oldal között egyutas ANOVA és Tukey teszttel vizsgáltuk. A szignifikancia küszöbértéket $p < 0,05$ -ként határoztuk meg.

4.2. Gyermekkori radius törés retrospektív vizsgálat

A pécsi Gyermekklinika Gyermeksebészeti osztályán 2009 január és 2018 december között minimál invazív módszerrel disztális harmadi alkartörés, illetve izolált disztális radius törés miatt operált gyermekek különböző adatait vizsgáltuk.

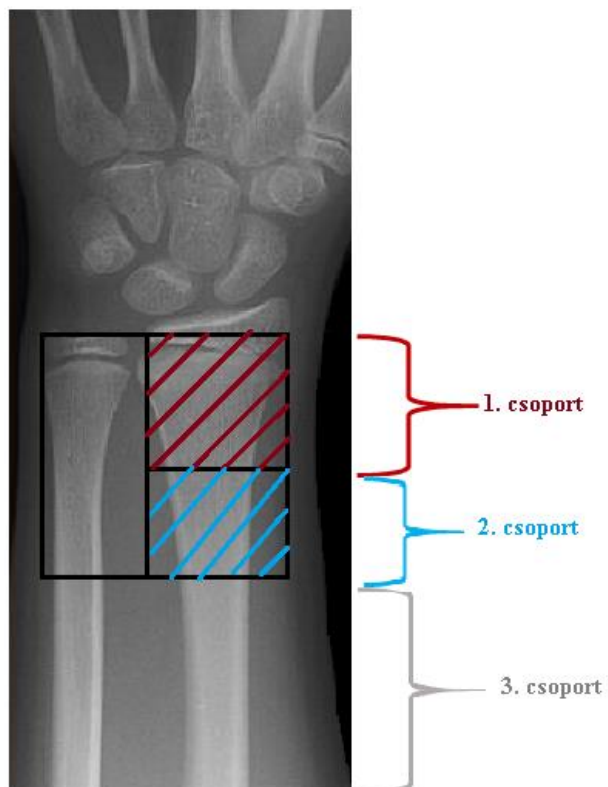
A retrospektív tanulmányban vizsgáltuk a nemek közti megoszlást, a különböző műtéttechnikák típusát és számát, a posztoperatív röntgenek számát, a fémkivétel időpontját és a tengelyeltérés mértékét a fémkivétel után. Nagy hangsúlyt fektettünk a törési rés ízfelszínétől való távolságának a mérésére, a radius disztális epifízis átmérőjének, valamint a radius és az ulna együttes disztális epifízis átmérőjének a nagyságára. A méréseket a preoperatív röntgeneken végeztük. A vizsgált adatokból próbáltunk következtetéseket levonni, hogy a dia-metáfízis határán lévő törések esetén melyik operatív eljárás biztosít jobb eredményt.

Vizsgálatunk során a radius disztális epifízis átmérője, valamint a radius és az ulna együttes disztális epifízis átmérője alapján szerkesztett négyszögeket vettük alapul. A kis négyszög esetén a radius epifízis átmérője alapján határoztuk meg a négyzet nagyságát (18. ábra). A radius disztális epifízis átmérőjének két végpontjára, a diafízis irányába állított két merőlegessel és a merőlegesekre ráért oldalhosszúsággal és azok összekötésével kaptuk meg a négyzetet. A nagy négyszöget a kis négyszöghöz hasonlóan szerkesztettük meg, annyi különbséggel, hogy itt a négyszög oldalának a hosszát a radius és az ulna együttes átmérője képezte (18. ábra). Ezek a négyszögek az operatív ellátást igénylő, disztális harmadi alkartörések esetén segíthetik a megfelelő műtéttechnika kiválasztását.



18. ábra: A disztális harmadi törések operatív kezelését segítő kis és nagy négyszög az ap irányú röntgenfelvételen.

Vizsgálataink során a törési rés négyszögekhez való viszonyára helyeztük a fő hangsúlyt. Azt tanulmányoztuk, hogy van-e összefüggés az alkalmazott műtéttechnika és a törési rés kis és nagy négyszöghöz való viszonya között. A disztális radius epifízis átmérő és a törési rés ízfelszíntől mért távolságának a hányadosa alapján egy mintás t-próbával 0,05 szignifikancia szinten vizsgáltuk az adatokat. A disztális radius epifízis átmérő és a töréstávolság hányadosa alapján három csoportot különítettünk el (19. ábra). 1-es csoportba tartoztak a kis négyszögbe eső törések, a 3-as csoportba a nagy négyszögön, kívül, proximálisabban lévő törések, míg a 2-es csoportba tartoztak az átmeneti zóna sérülései.



19. ábra: A disztális radius epifízis átmérő és a törési rész ízfelszínétől mért távolságának a hányadosa alapján alkotott csoportok és a disztális harmadi törések operatív kezelését segítő négyzetek viszonya az ap irányú röntgenfelvételen.

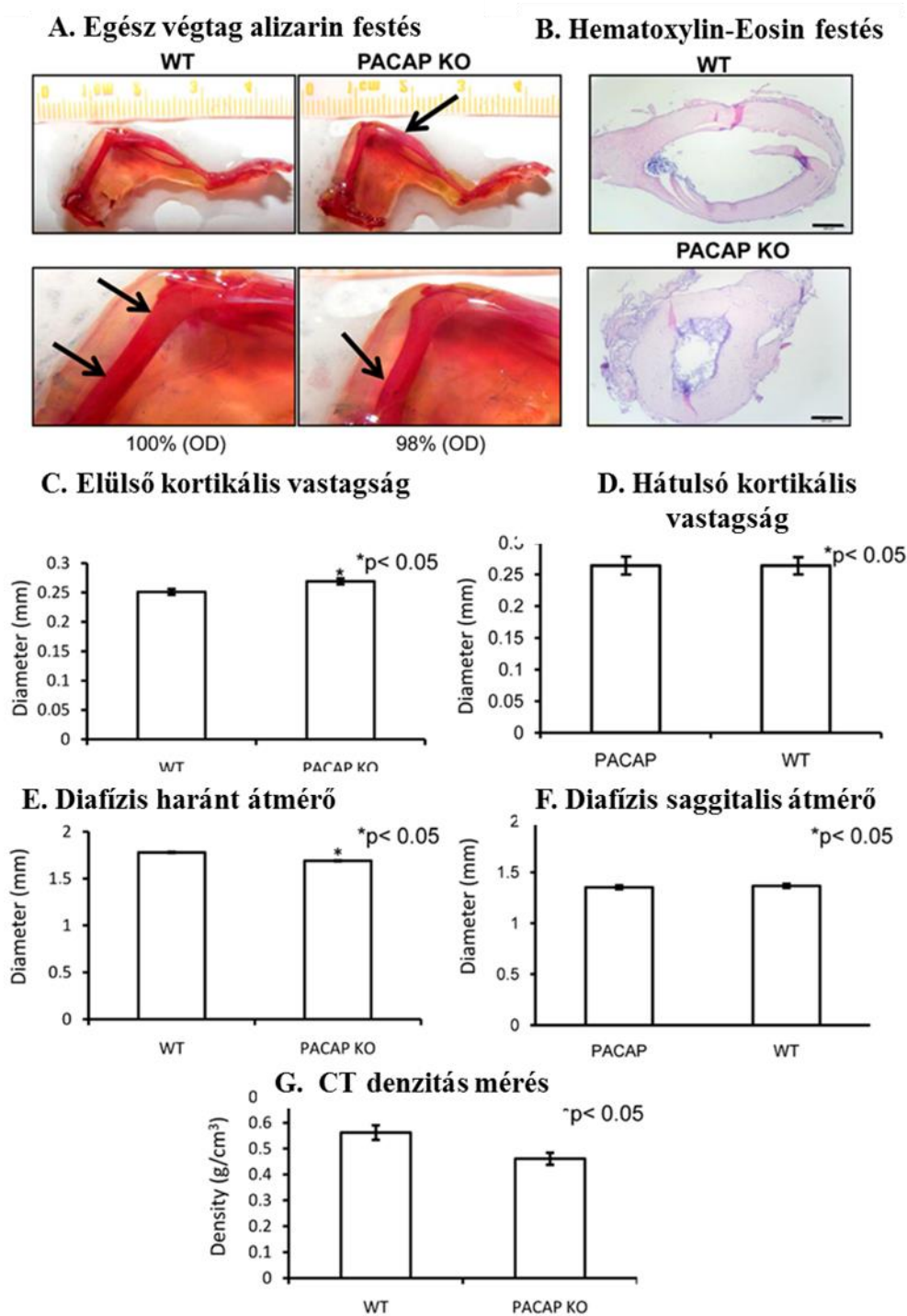
5. Eredmények

5.1. Állatkísérletes modell

5.1.1. A PACAP KO és a WT egerek femurjának vizsgálata

A WT és a PACAP KO egerek morfológiai mérései során jelentős eltérést nem találtunk. A tibia és a femur hosszában különbséget nem észleltünk és egyéb makroszkópos anatómiai eltérést sem találtunk a vizsgálataink során. A CT vizsgálat nem mutatott különbséget a tibia hosszmérése során, míg a femur a PACAP KO egerekben rövidebb volt, de ennek mértéke nem érte el a szignifikáns különbséget. Véletlenszerű alizarin vörös halmozást észleltünk az alsó végtag egyes pontjaiban (20. A. ábra, nyíllal jelölt területek) Az optikai denzitás nem mutatott szignifikáns eltérést a PACAP KO egerekben (20. A. ábra).

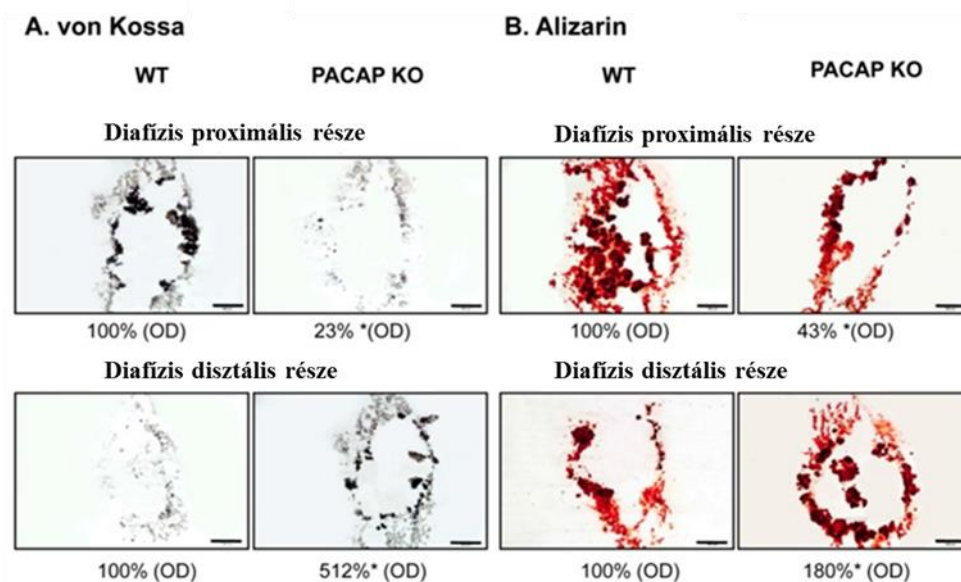
A femur festése HE-nal keresztmetszeti mintákon történtek, jól vizualizálható volt a vastagságbeli - és a velőüreg átmérőjének a különbsége. A CT vizsgálat eredményei alapján az elülső kortikális csont a PACAP KO egerek mintáiban, míg a hátulsó kortikális csont rész a WT egerek mintáiban volt vastagabb (20. C-D. ábra). A velőüreg átmérője a WT egerek femurjában szélesebb volt (20. E-F. ábra). A nagy tompor területén mért denzitás a PACAP KO egerekben szignifikánsan alacsonyabb volt (20. G. ábra).



20. ábra: A WT és a PACAP KO egerek morfológiai analízise az alsó végtagon. A teljes hátsó végtag alizarin vörös festése (A), optikai denzitás (OD) mérés a combcsont disztális 1 cm-es részén történt. Ugyanabban a magasságban történt keresztmetszeti minták vizsgálata HE festéssel (B) 4x nagyítás és 500 μm beosztással. Az éger femurokon mért CT vizsgálat eredményei (C-G). Reprezentatív adatok 5 egymástól független vizsgálat eredményeit mutatják. A csillag a szignifikáns eltérést jelöli (* $p < 0.05$).

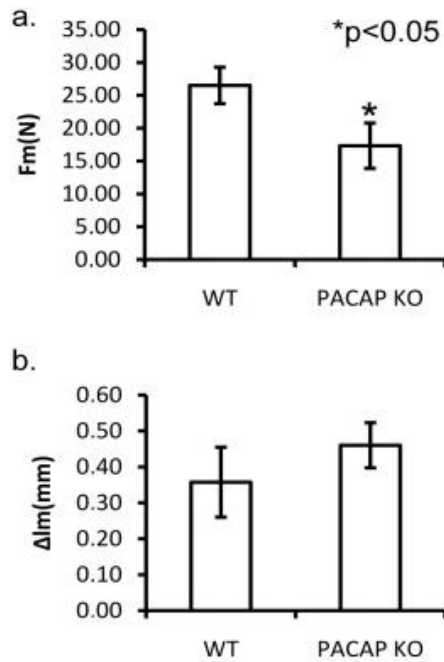
A kalcium depozitumok alizarin, míg a kalcium foszfát depozitumok kimutatása von Kossa festéssel történt. Ezek alapján elmondható, hogy egyetlen kalcium foszfát

eloszlást észleltünk a PACA KO egerek femur diafízis egyes részein (21. ábra). A femur diafízis disztális részén magasabb, míg a proximális részén alacsonyabb kalcium foszfát szintet észleltünk a PACAP KO egerek femur mintáiban (21. ábra). Az eltérés alizarin vörös festéssel jól kimutatható, azonban a femur semmilyen makroszkópos eltérést nem mutatott.



21. ábra: A femur keresztmetszeti minták anorganikus mátrix kimutatása von Kossa (A) és alizarin vörös (B) festéssel. 4x nagyítás és 500 μ m beosztással. Az optikai denzitás meghatározása pixeldenzitás méréssel történt és a WT mintákra normalizáltuk.

A kalcium és a kalcium foszfát depozitumok csökkent jelenléte miatt feltételeztük, hogy a femur biomechanikai stabilitása is eltér a PACAP KO egerekben. Az erő, ami a komplett diafízis femur törés kialakításhoz szükséges volt, szignifikánsan alacsonyabb volt a PACAP KO egerek mintáiban. A femur diafízis reflektiója nem mutatott jelentős eltérést a két genotípus között, bár a PACAP KO egerek femurjában magasabb elhajlást detektáltunk (22. ábra).



22. ábra: Három pontos töréstezt. (a) Nyomóerő mértéke a törés pillanatában (F_m), (b) deformitás mértéke a törés pillanatában (Δl_m). A csillag a szignifikáns eltérést jelöli (* $p < 0.05$).

5.1.2. Törés modell

A kísérlet során új, könnyen reprodukálható, standard műtéti technikát fejlesztettünk ki. Szike segítségével a tibia proximális ízfelszínétől 5 mm-rel proximálisan, a tibia elülső kortikálisán 0,5 mm mély monokortikális törést alakítottunk ki (23. ábra). A törés lokalizációjának és mélységének ellenőrzése CT vizsgálattal történt (23. ábra). A vizsgálattól független ember mérte a törés magasságát és mélységét, így biztosítottuk a kísérlet pontosságát. A törésgyógyulást a műtétet követő 3. napon (23. ábra), 7. és a 21. napon CT vizsgálattal ellenőriztük. Mind a PACAP KO egerek, mind a WT egerek tibiájának anterior kortikális élén éles jól látható bemetszést detektáltunk a beavatkozást követő 3. napon. Ezen a napon szignifikáns különbséget találtunk a WT és a PACAP KO állatokcsontdenzitás értékeiben, ugyanis a PACAP KO egerek kalluszában emelkedett értékeket mértünk (24. ábra).



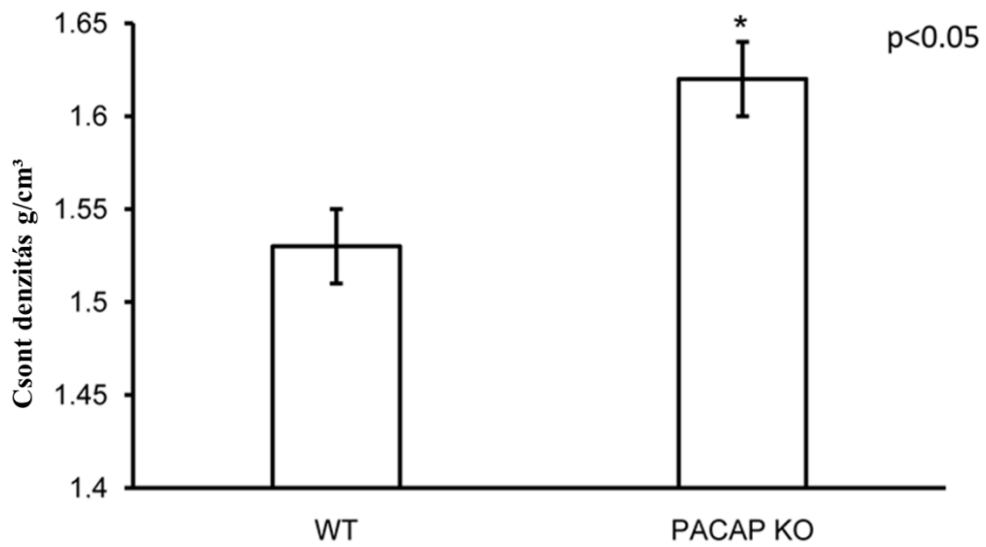
A.

B.



C.

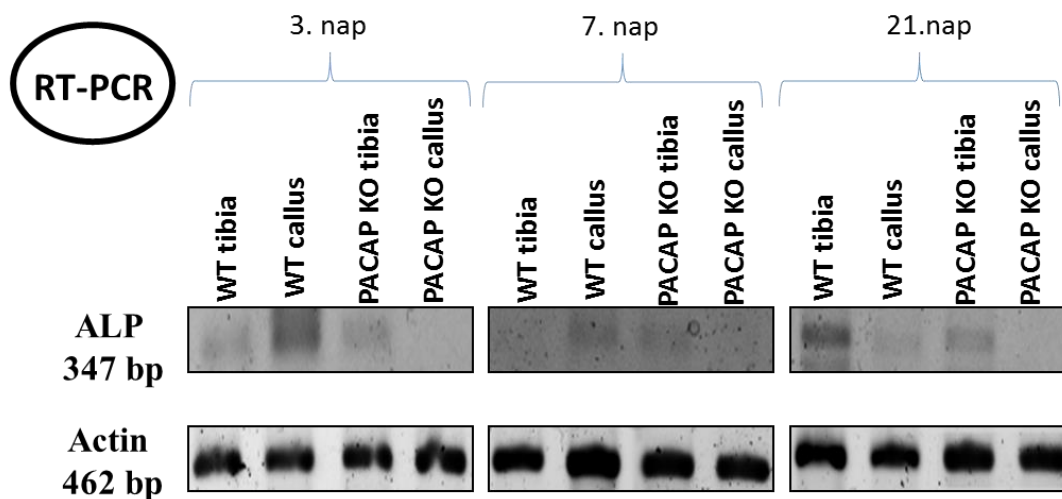
23. ábra: Intraoperatív képen (A) a törés kialakítása látható a jelölt szike megfelelő tartásával. A beavatkozás után (B) a monokortikális törés a tibia elülső felszínén. A 3. napon a CT felvétel (oldal és AP) mutatja a törést (C).



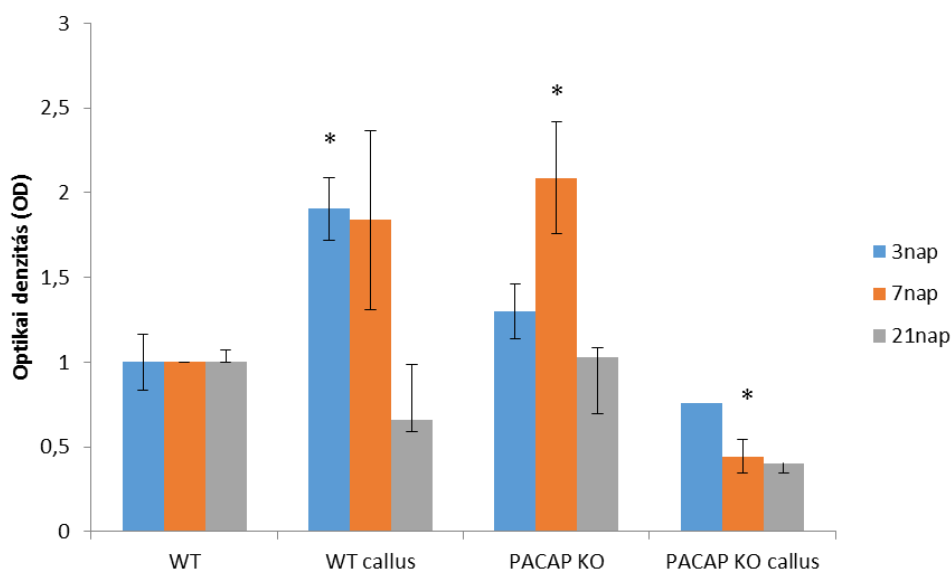
24. ábra: A mikro CT alapján a számított csont denzitás a PACAP KO egerekben szignifikánsan emelkedett a WT egerek csontjához képest. (* $p < 0,05$).

5.1.3. ALP expresszió a kalluszban

Három különböző napon vizsgáltuk a szervesen állomány termeléséért felelős ALP expresszióját. A törésgyógyulás 3. és a 7. napján hasonló eredményeket kaptunk, az ALP mRNS expressziója a WT kalluszban emelkedett volt, míg a PACAP génhányos egerekben jelentősen alacsonyabb értékeket kaptunk (25., 26.ábra).

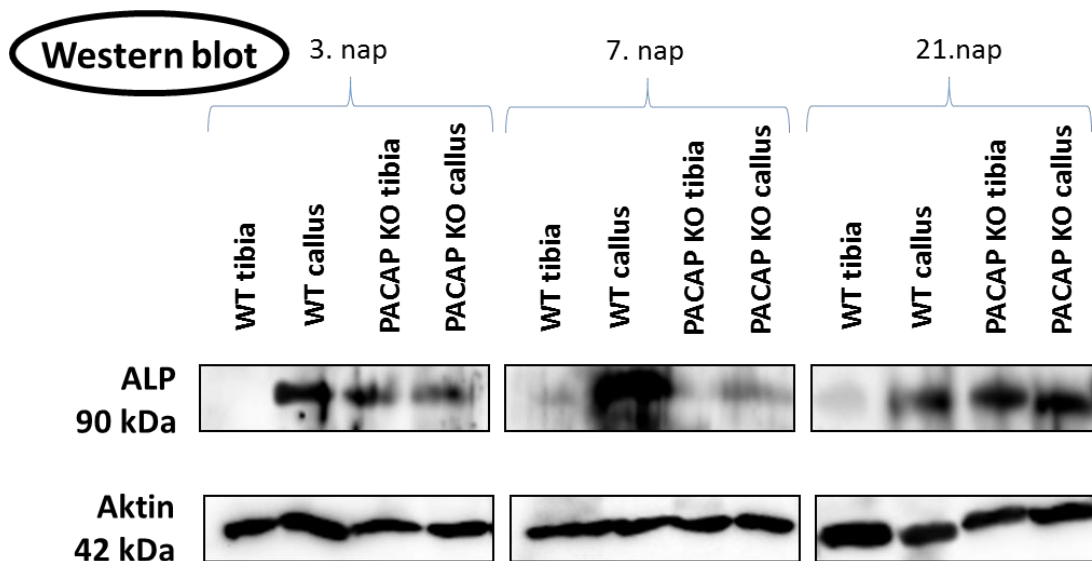


25. ábra: Az ALP mRNS expressziójának vizsgálata RT-PCR reakcióval. Belső kontrollként aktint használtunk. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon.

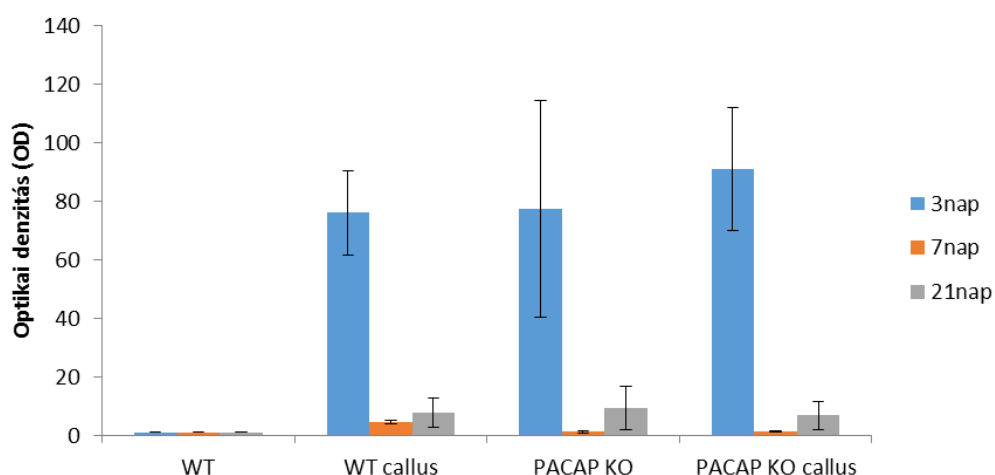


26. ábra: Az ALP mRNS expressziójának optikai denzitás mérése. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon. (* $p < 0,05$). Az adatokat aktinra normalizáltuk és a kezeletlen WT kontroll mintákhoz viszonyítottuk.

PACAP KO tibia mintákban magasabb ALP fehérje expressziót mértünk a PACAP KO kallusz mintákhoz képest (27. ábra). Az ALP fehérje expressziója nem korrelált az mRNS expressziójával. A PACAP KO egerek tibia mintájában emelkedett ALP fehérje expressziót észleltünk hasonlóan a femurban vizsgáltakhoz (28. ábra). A WT kallusz mintákban emelkedett ALP fehérje expressziót észleltünk a 3. és a 7. napon, aminek a mértéke a 21. napra csökkent. A PACAP KO egerek kalluszában az ALP fehérje expressziója nem mutatott emelkedett koncentrációt a vizsgált napokon.



27. ábra: Az ALP fehérje expressziójának vizsgálata Western blottal. Belső kontrollként aktint használtunk. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon.

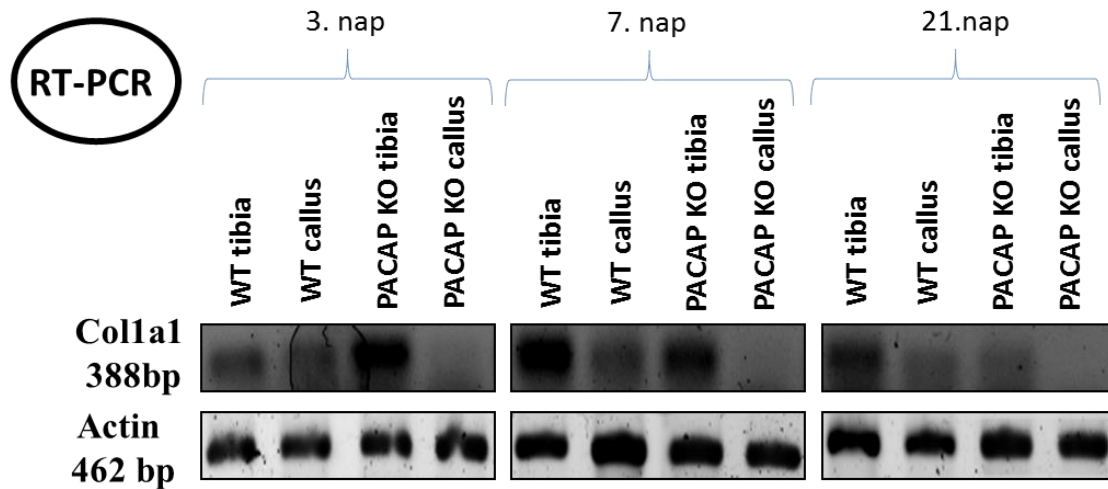


28. ábra: Az ALP fehérje expressziójának optikai denzitás mérése. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon. (* $p < 0,05$). Az adatokat aktinra normalizáltuk és a kezeletlen WT kontroll mintákhoz viszonyítottuk.

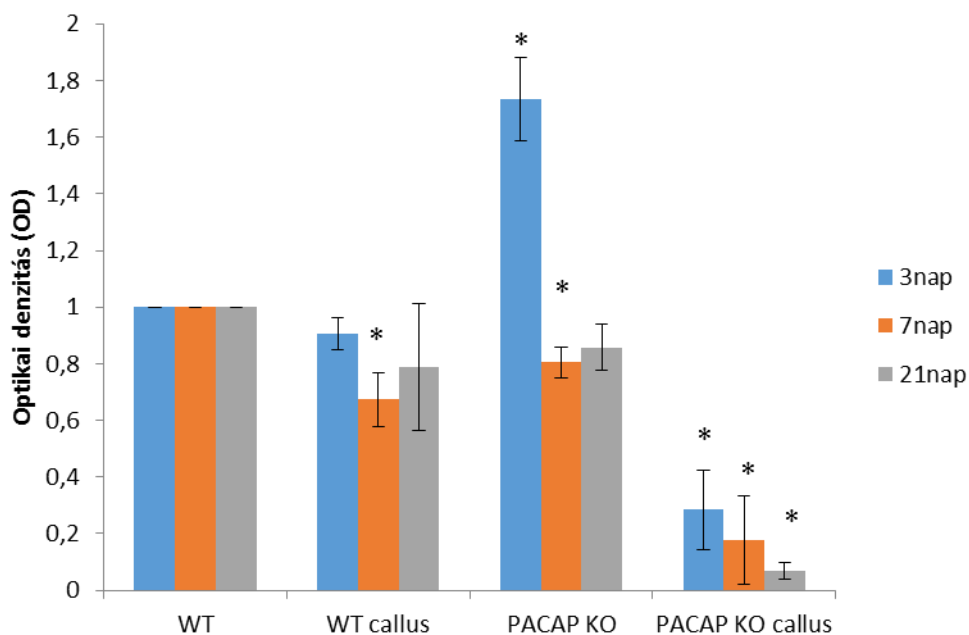
5.1.4. I-es típusú kollagén expresszió a kalluszban

Három különböző napon vizsgáltuk az I-es típusú kollagén expresszióját (29. ábra). Alacsony mRNS expressziót észleltünk a WT egerek tibiájában (amit már korábban is igazoltunk a femur esetében és kalluszában, a 7. és a 21. napon az expresszió csökkent. A PACAP KO egerekben magasabb I-es típusú kollagén expressziót észleltünk (30. ábra). Hasonlóan a WT egerekhez alacsony, alkalmanként nem detektálható I-es típusú kollagén expressziót mutatott a PACAP KO egerek kallusz mintája is (30. ábra).

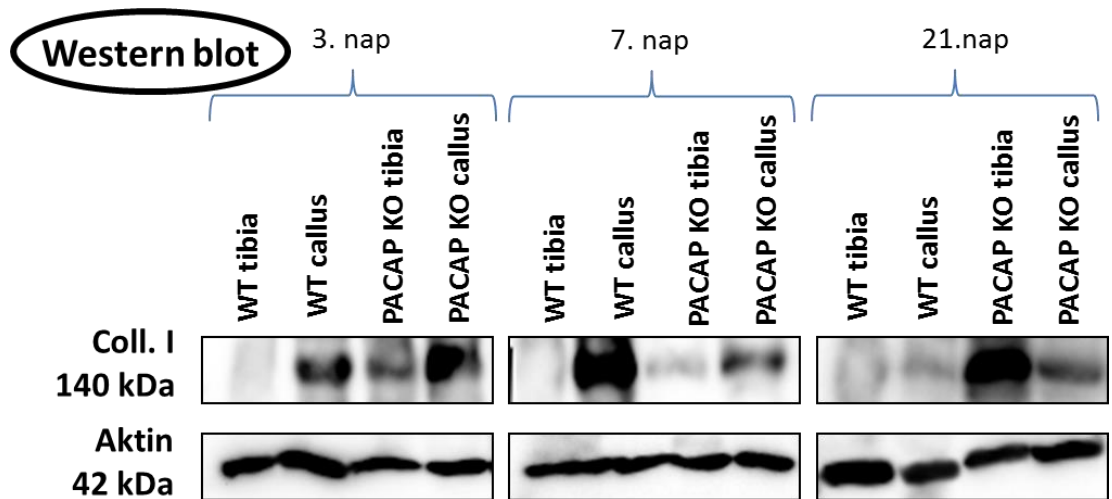
A fehérje expresszió nem korrelált az mRNS expresszióval. A WT egerek mintájában alacsony koncentrációt detektáltunk (31. és 32. ábra). A 3. napon emelkedett, míg a 21. napon csökkent expressziót észleltünk, a csúcs koncentráció a 7. napon volt (32. ábra). Emelkedett volt az I-es típusú kollagén expresszió a 3. napon a PACAP KO egerekben összevetve a WT egerekkel (31. ábra). A 7. napon az expresszió növekedése kismértékben elmaradt a PACAP KO egerek kalluszában a WT egerek kalluszához képest (32. ábra). A 21. napra jelentősen csökkent az expresszió, de továbbra is magasabb volt a WT egerek mintájában (32. ábra).



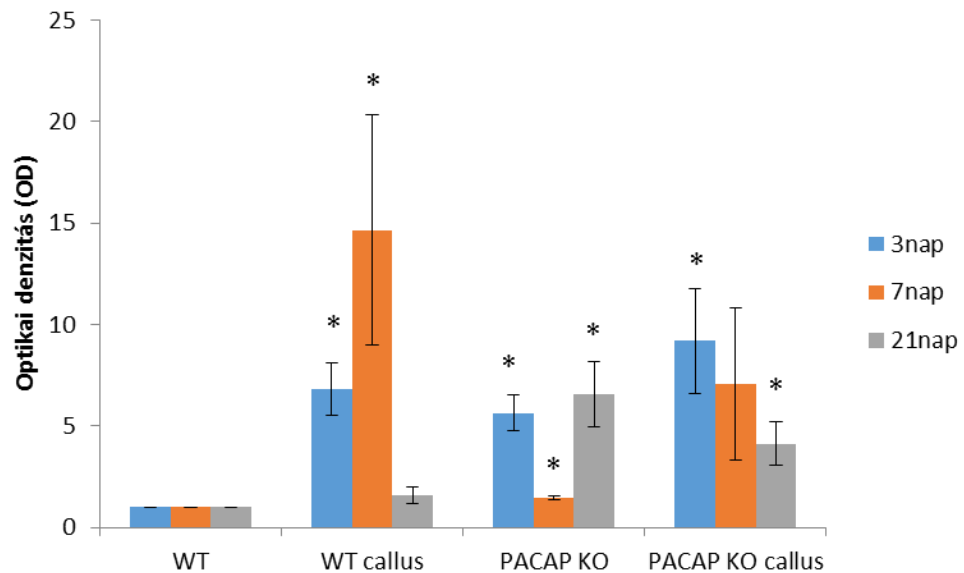
29. ábra: Az I-es típusú kollagén (*Colla1*) mRNA expressziójának vizsgálata RT-PCR reakcióval. Belső kontrollként aktint használtunk. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon.



30. ábra: Az I-es típusú kollagén (*Colla1*) mRNA expressziójának optikai densitás mérés. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon. (* $p < 0,05$). Az adatokat aktinra normalizáltuk és a kezeletlen WT kontroll mintákhoz viszonyítottuk.



31. ábra: Az I-es típusú kollagén (Coll. I) fehérje expressziójának vizsgálata Western blottal. Belső kontrollként Aktint használtunk. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon.



32. ábra: Az I-es típusú kollagén (Coll. I) fehérje expressziójának optikai denzitás mérése. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon. (* $p < 0,05$). Az adatokat aktinra normalizáltuk és a kezeletlen WT kontroll mintákhoz viszonyítottuk.

5.1.5. BMP2,4,6 fehérjék expressziója

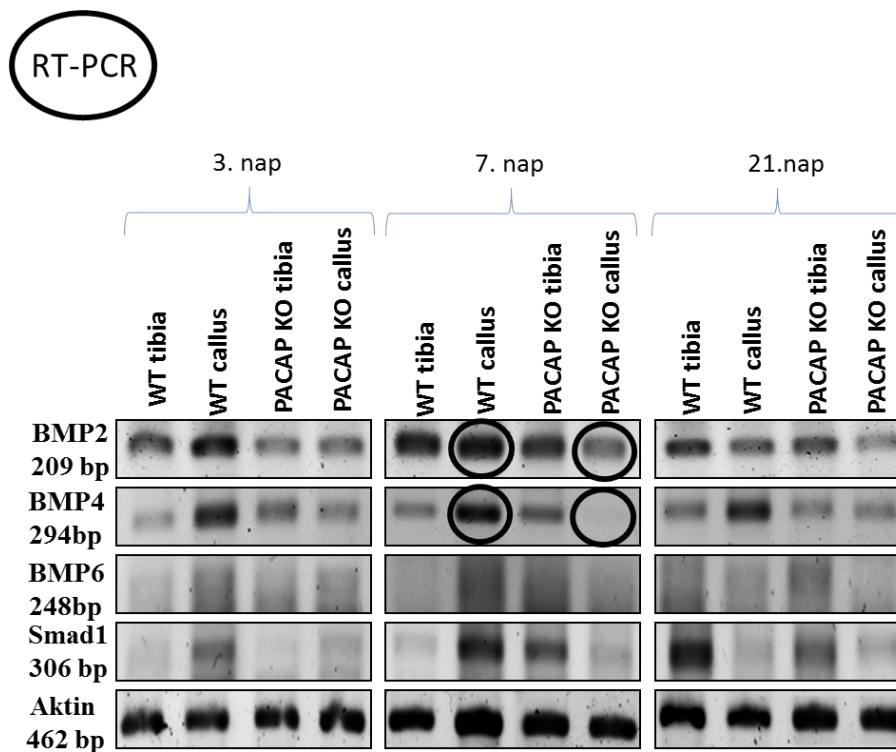
A BMP az egyik legfontosabb faktor a kallusz képződésében. A BMP jelátviteli útvonal közvetlen kapcsolódik a PACAP szignalizációs útvonalhoz. A BMP2 mRNS expressziója a 3. napon emelkedett volt a WT egerek mintájában, míg a 7. naptól csökkent és a 21. napra jelentősen csökkent az expressziója (33. és 34. ábra). A PACAP KO egerek mintájában nem találtunk változást a 3. és a 7. napon, azonban a 21. napon jelentősen csökkent a BMP2 mRNS expressziója (33. és 34. ábra). Minden vizsgálati napon a WT egerek BMP4 mRNS expressziója emelkedett volt (33. ábra). Mérsékelt expressziót figyeltünk meg a PACAP KO kallusz mintákban, a PACAP KO tibia és a WT kallusz mintákkal összehasonlítva (34. ábra). Csökkent BMP6 jelintenzitást figyeltünk meg a WT tibia mintákban, míg az intenzitás fokozott volt a 3. és a 7. napon a kallusz mintákban (34. ábra). A törésgyógyulás 21. napján a BMP6 expresszió csökkent volt a WT mintákban (34. ábra). Ezzel szemben a 7. és a 21. napon jelentősen csökkent jelintenzitást észleltünk a nem operált PACAP KO egerek mintájában (34. ábra). Smad1 mRNS expressziója a 3. és a 7. napon emelkedett volt a WT kalluszban, míg a vizsgálat végére csökkent (33. ábra). Kisfokú volt a jel intenzitás a 3. napon a PACAP KO kalluszban, ami csökkent a 7. és a 21. napra (33. ábra).

A WT egerek kalluszában a BMP2 fehérje expressziója 3. és a 21. napon emelkedett volt, ami a törésgyógyulás 7. napján sem mutatott változást. A PACAP KO egerek kalluszában a jelintenzitás a 3. napon jóval alacsonyabb volt, mint a nem operált tibiában, azonban a 7. és a 21. napon nem találtunk összefüggést (34. ábra).

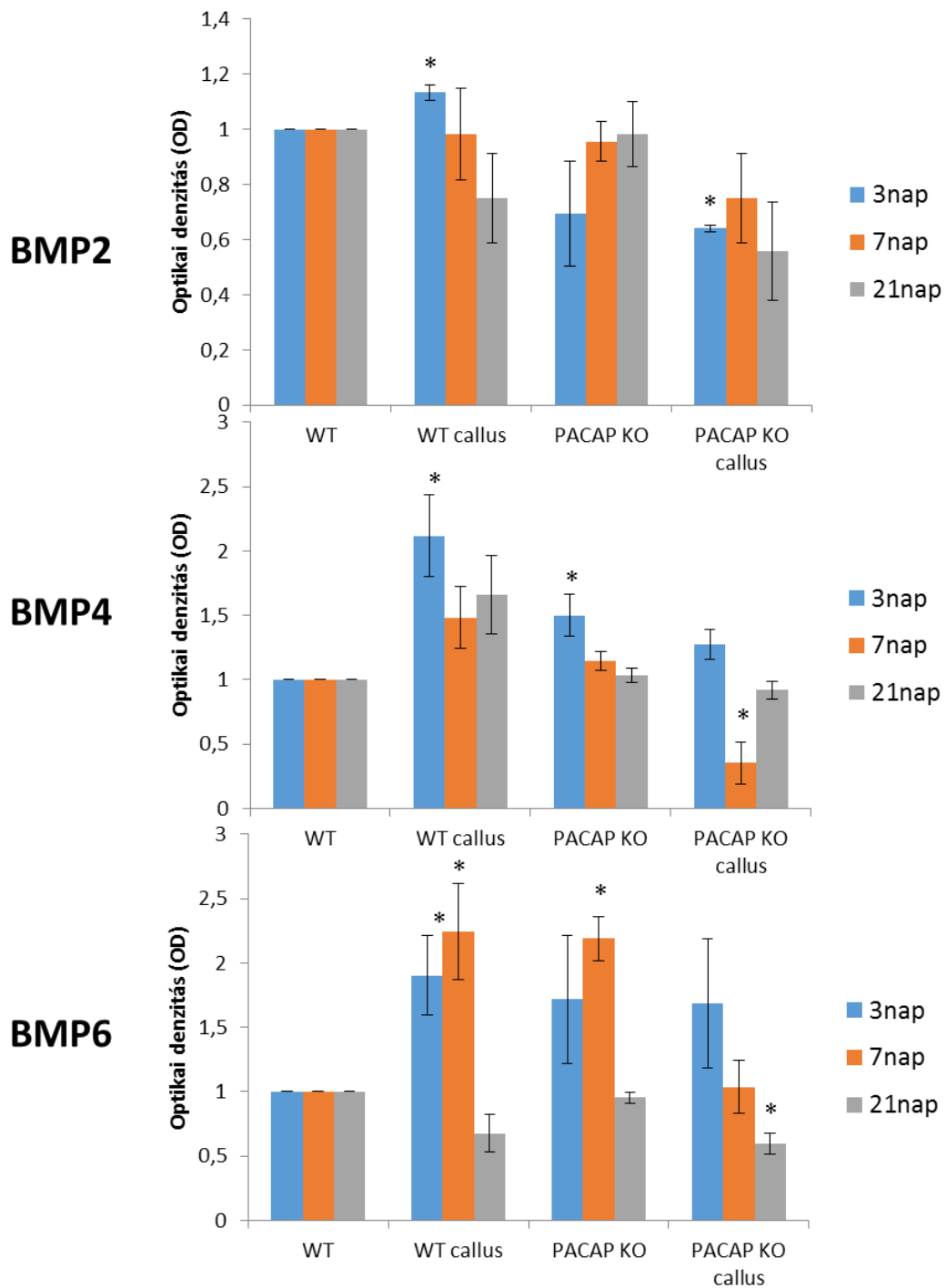
A BMP4 fehérje expressziója a 3. napon emelkedett volt mind a WT, mind a PACAP KO egerek kalluszában (34. ábra). Emelkedett BMP4 fehérje expresszió volt látható a WT egerek kalluszában, de a 3. napon jelentős emelkedett expressziót mutattunk ki a PACAP KO egerek tibia mintájában, amit a 7. és a 21. napon nem észleltünk (34. ábra).

A BMP6 fehérje expresszió mindhárom vizsgálati napon fokozott volt a WT egerek kalluszában (33. és 34. ábra). PACAP KO egerek kallusz mintáiban a 3. napon emelkedett volt az expresszió, ami a regeneráció során csökkenő tendenciát mutatott (34. ábra). A BMP jelátviteli út downstream célpontja a Smad 1, aminek az expressziója nem változott

a WT egerek mintájában, de a PACAP KO egerek kalluszában erősen emelkedett volt a törésgyógyulás végső fázisában.



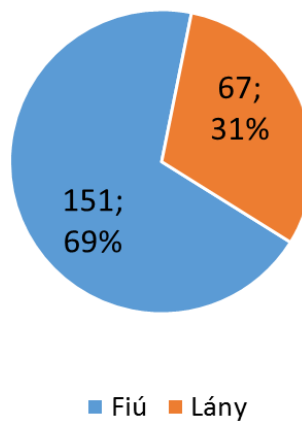
33. ábra: A BMP2,4,6 mRNS expressziójának vizsgálata RT-PCR reakcióval. Belső kontrollként Aktint használtunk. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon.



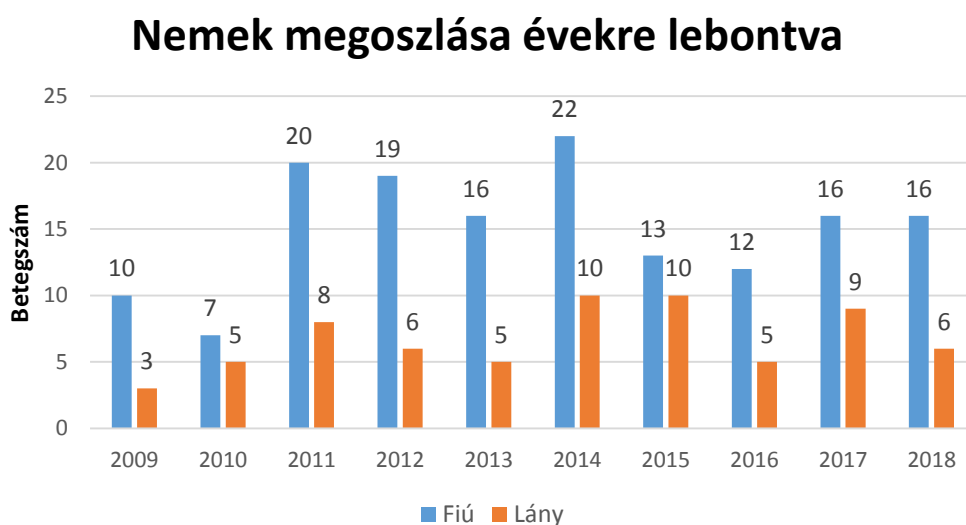
34. ábra: A BMP2,4,6 mRNS expressziójának optikai denzitás mérése. A reprezentatív adatok 4 különböző vizsgálat eredményeit mutatják a 3., 7. és a 21. napon. (* $p < 0,05$). Az adatokat aktinra normalizáltuk és a kezeletlen WT kontroll mintákhoz viszonyítottuk.

5.2. Klinikai tanulmány

A nemek közti megoszlás alakulása: a 218 gyermekből 151 (69%) fiú és 67 (31%) lány sérült (35. ábra). A nemek arányát évekre lebontva a legtöbb évben megfigyelhető a 2:1 fiú-lány arány. A retrospektív vizsgálat eredménye alapján 2011-ben a műtétet igénylő disztális alkartörések száma a korábbi évekhez képest közel duplájára emelkedett. Az ezt követő négy évben az alkartörés miatt operált gyermekek száma nem változott jelentősen. A diagram alapján elmondható, hogy az operatív ellátást igénylő disztális alkartörések gyakorisága az utóbbi négy évben kismértékben csökkent (36. ábra). A legkevesebb gyermeket 2010-ben (12 gyermek), míg a legtöbb sérültet (32 gyermek) 2017-ben operáltuk.



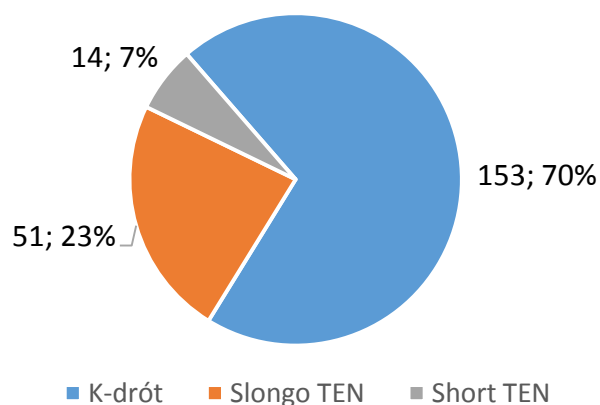
35. ábra: A disztális harmadi alkartörések nemek szerinti megoszlása.



36. ábra: A disztális harmadi alkartörésekben a nemek aránya évekre lebontva.

A 218 gyermekből 153 esetben tűződróttal, 51 esetben dorzálisan bevezetett („Slongo-féle”) TEN-nel és 14 esetben short TEN-nel történt a törés stabilizálása (37. ábra). Az operatív ellátást igénylő disztális harmadi alkartörések fixálása legnagyobb számban tűződróttal történt, ez azzal magyarázható, hogy a legtöbb tapasztalat ezzel a technikával van, így gyakran alkalmazzuk. A dorzálisan bevezetett TEN és a short TEN az utóbbi pár évben terjedt el hazánkban. Az utóbbi műtétechnikát a pécsi Gyermekklinika Gyermeksebészeti osztályán 2014 óta alkalmazzuk.

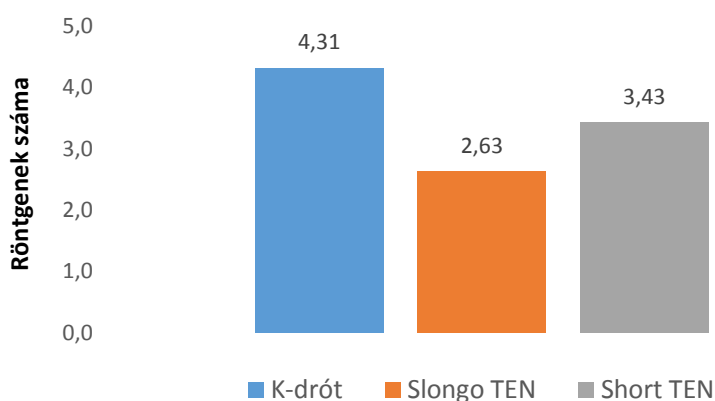
Műtétechnikák típusa



37. ábra: A disztális harmadi alkartöréseknél alkalmazott műtétechnikák megoszlása.

A műtét utáni első posztoperatív röntgent nem számoltuk bele a statisztikába. A tűződróttal kezelt esetekben átlagosan 4,3, a Slongo TEN-nel kezelt gyermekek esetében átlagosan 2,6 és a short TEN-nel kezelt gyermekek esetében átlagosan 3,4 alkalommal volt szükség kontroll röntgenfelvétel készítésére (38. ábra). A legtöbb röntgenfelvétel készítésére a tűződrótos oszteosintézisnél, míg a legkevesebbre a Slongo TEN alkalmazása esetén volt szükség.

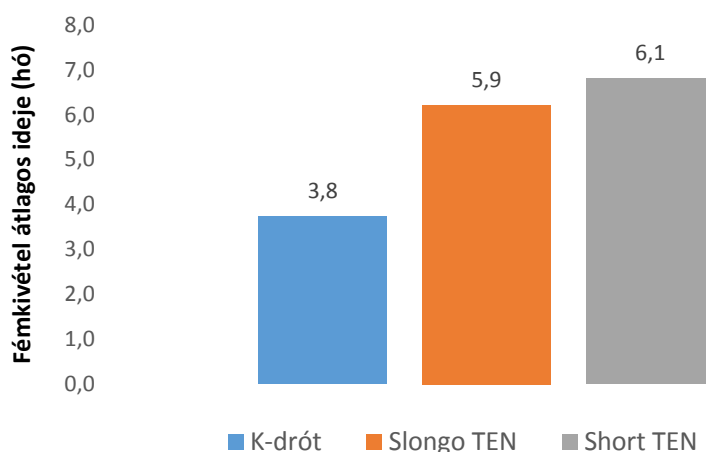
Posztoperatív rtg száma



38. ábra: A disztális harmadi alkartörések esetén végzett posztoperatív röntgenek száma.

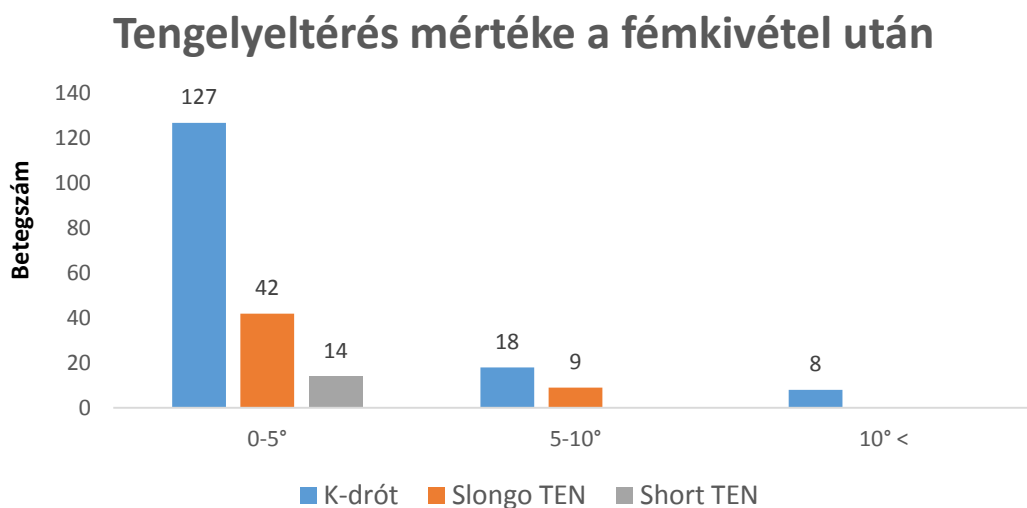
A fémkivétel átlagos ideje tűződrótos rögzítésnél volt a legrövidebb - 3,8 hónap. A Slongo TEN-nel kezelt gyermek esetén a fémkivétel átlagosan 5,9 hónap múlva történt. A short TEN-nel kezelt gyermeknél az elasztikus szeg eltávolítását átlagosan 6,1 hónappal a műtét után végeztük el (39. ábra). A tűződrótok korábban kerültek eltávolításra, mint az elasztikus szegek, ami azzal magyarázható, hogy a metafízis törések gyógyulása általában 6-8 hét, míg a diafízis sérülések gyógyulása később következik be.

Fémkivétel időpontja



39. ábra: A fémkivétel átlagos ideje.

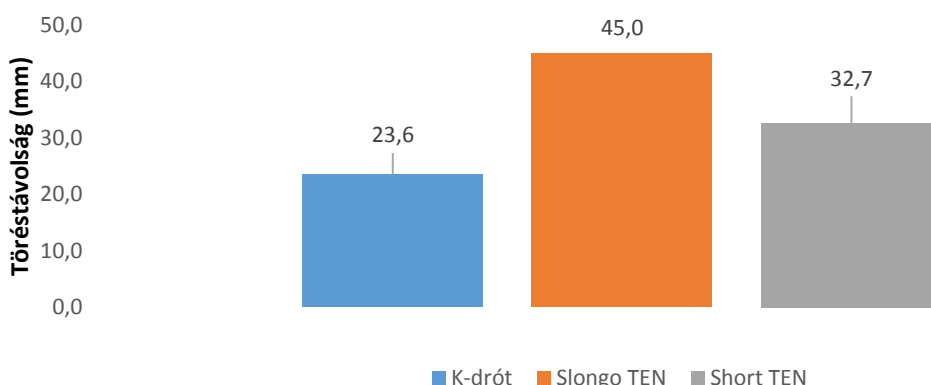
A 218 gyermeket a fémkivétel után mért tengelyeltérés nagysága alapján három csoportra osztottuk. Az első csoportba az 5°-nál kisebb; a második csoportba az 5°-nál nagyobb, de 10°-nál kisebb; a harmadik csoportba a 10°-nál nagyobb tengelyeltéréssel gyógyult törések tartoztak. A tűződróttal kezelt gyermekek közül 127 betegnél észleltünk 5° alatti, 18 betegnél 5-10° közötti, míg további 8 gyermeknél találtunk 10° feletti tengelyeltérést. A Slongo TEN technikát alkalmazott gyermekeknél 42 betegnél mértünk 5° alatti és 9 betegnél észleltünk 5-10° közötti tengelyeltérést. Ennél a műtéttechnikánál 10°-nál nagyobb szögleteltérést nem tapasztaltunk. A short TEN-nel kezelt gyermekeknél mind a 14 esetben 5°-nál kisebb tengelyeltérést mértünk (40. ábra).



40. ábra: A szögletörések mértéke a fémkivétel időpontjában disztális harmadi alkartörések után.

Vizsgáltuk az ízfelszíntől mért töréstávolságot. A tűződrótos rögzítésnél mértük a legkisebb átlagos töréstávolságot, 23,6 mm-t, ezt követik a short TEN-nel kezelt esetek, 32,7 mm-rel. A legnagyobb töréstávolságot 45,0 mm-t a Slongo TEN-nel operált gyermekeknél mértünk (41. ábra).

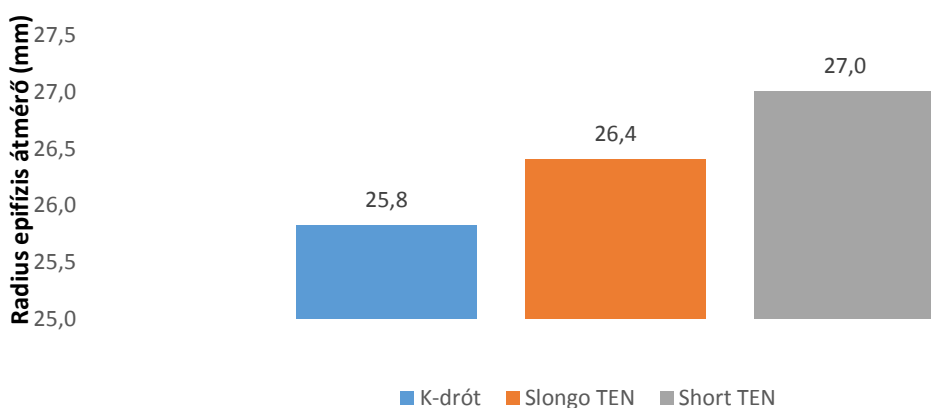
Ízfelszíntől mért töréstávolság



41. ábra: Az ízfelszíntől mért töréstávolság disztális harmadi alkartörések esetén.

Vizsgáltuk a radius disztális epifízis átmérőjének a nagyságát. Tűződrótos rögzítés esetén a radius disztális epifízis átmérők átlaga 25,8 mm nagyságú, Slongo TEN-nél 26,4 mm és a short TEN-nel kezelt gyermekeknél pedig 27,0 mm volt (42. ábra). Legnagyobb radius epifízis átmérőt a short TEN esetén mértünk, a legkisebbet pedig a tűződrótos oszteoszintézisnél.

Radius disztális epifízis átmérő

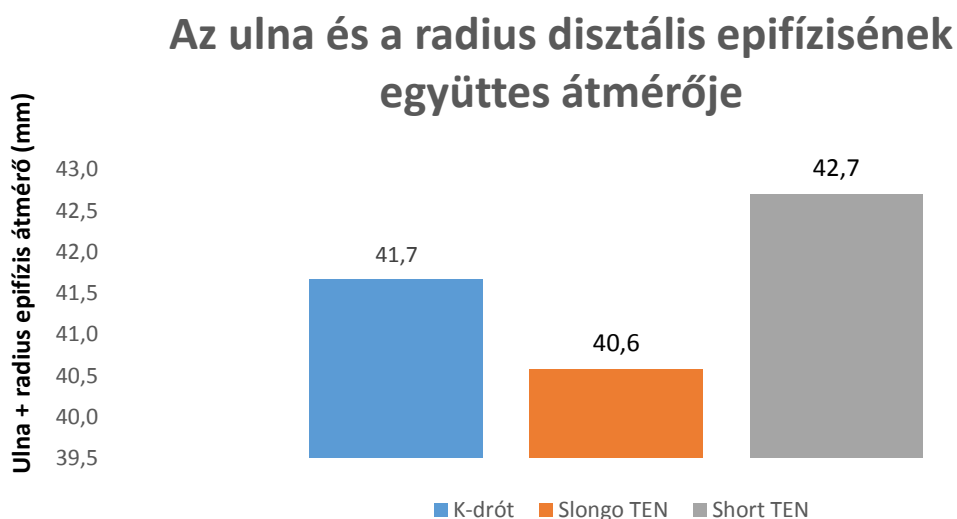


42. ábra: A radius epifízis átmérő átlaga disztális harmadi alkartöréseknél preoperatív mérések alapján.

Megmértük az ulna és a radius disztális epifízisének együttes átmérőjét is. A legkisebb értéket - 40,6 mm-t - a Slongo TEN-nel kezelt gyermekeknél mértünk, tűződrótos rögzítés

esetén az átlag 41,7 mm volt, a legnagyobb átmérő - 42,7 mm - a short TEN-nel kezelt esetekben fordult elő (43. ábra).

A kis négyzeten belül elhelyezkedett disztális harmadi töréseket tűződróttal kezeltük. Azokban az esetekben, ahol a törési rés a nagy négyzeten kívülre esett, a törés stabilizálása minden esetben Slongo TEN-nel történt. Azoknál a töréseknél, ahol a törési rés a nagy és a kis négyszög közé esett, már nem lehetett a három műtéttípus közül egy dominánsat kiválasztani. A short TEN-t csak az átmeneti, dia- metafízis határán lévő törések esetén alkalmaztuk.



43. ábra: Az ulna és a radius disztális epifízisének együttes átmérőjének az átlaga a disztális harmadi alkartöréseknél a preoperatív mérések alapján.

6. Megbeszélés

Állatkísérletes modell

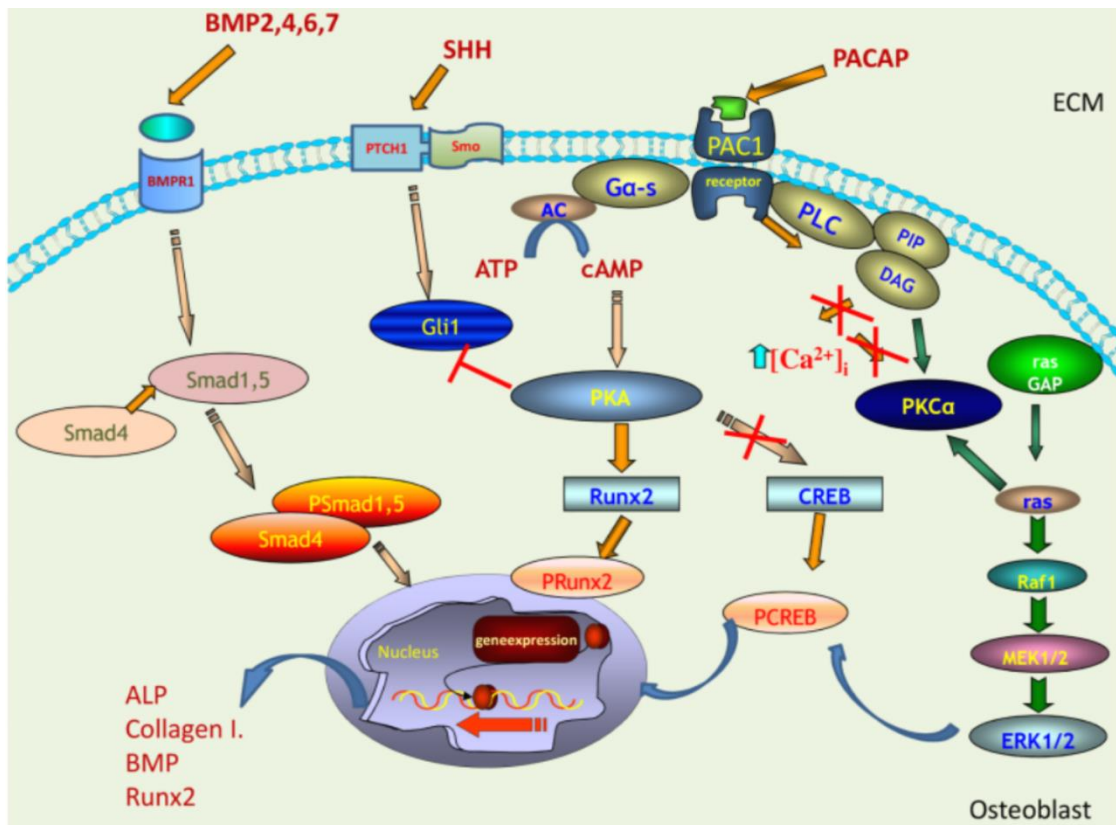
A PACAP egy neuropeptid, ami fontos szerepet játszik számos differenciálódás folyamatában, a központi idegrendszerben és a periférián is (Vaudry D. et al. 2009., Watanabe J. et al. 2007., Toriyama M. et al. 2012.). A porcsejtek differenciálódásában betöltött szerepét, valamint a preventív funkcióját az oxidatív stresszben korábban már bizonyították (Juhász T. et al. 2014.). UMR-106 sejtvonalon az *in vitro* csontdifferenciációban betöltött szerepét is korábban már igazolták (Juhász T. et al. 2014.), azonban *in vivo* funkcióiról nem rendelkezünk részletes információkkal.

A PACAP KO egerek nem mutatnak makroszkópos (vizuálisan megítélhető) eltérést a WT egerekhez képest, azonban néhány rendellenességet azonosítottak PACAP hiányában különböző szövetek fejlődése során, mint például a fogakban (Fülöp B. et al. 2018., Sándor B. et al. 2014.), gonádokban (Reglődi D. et al. 2018., Reglődi D. et al. 2012.). A PACAP hiánya hatással van az állatok magatartására és befolyása van az idegrendszer fejlődésére (Farkas J. et al. 2017., Rivnyák A. et al. 2018.). Korábbi vizsgálatokban bizonyították, hogy a PACAP növeli az intracelluláris kalcium felszabadulását az oszteoblasztokban és indukálja a differenciálódásukat (Juhász T. et al. 2014.). Kísérleteink során tanulmányoztuk a PACAP KO egerek femurjainak morfológiai eltéréseit. A combcsont kortikális vastagsága és a velőüreg átmérője eltérő volt ezekben az állatokban. Ezen túlmenően a szervetlen állomány megoszlás nem egyenletes a PACAP génhiányos egerek combcsontjának kortikális részében. Ezek a szövettani eltérések kutatási eredményeink szerint megváltoztathatják a csontok törés együtthatóit is. Azt is tudjuk, hogy a PACAP KO egerek kisebb szövettani, morfológiai eltérései nem befolyásolják nagymértékben az állatok életfolyamatait, azonban ha valamilyen sérülés vagy stressz éri az állatot, nagyon nehezen regenerálódik, vagy a hatások sokkal erőteljesebbek, mint egy vad típusú alomtársban. Az utóbbi évtizedben igazolták, hogy a PACAP kompenzálja az oxidatív stressz és a túlzott mechanikai inger által kiváltott káros hatásokat a kondrogenezis során (Juhász T. et al. 2014., 2015.), illetve protektív retinopátiában és iszkémiás károsodásokban (Kvárik T. et al. 2016., Reglődi D. et al. 2018.). A PACAP hatását *in vivo* vizsgálták csontgyulladásos modellen (Botz B. et al. 2014.). Mindezek alapján megvizsgáltuk, hogy milyen szerepet tölthet be a csontgyógyulásban.

Az egér kallusz kialakulásának vizsgálata széles körben alkalmazott a törésgyógyulás nyomkövetése és tanulmányozása céljából (Haffner L. et al. 2017., Fujisawa H. et al.

2018., Ota M. et al. 2018.). A fémesszközzel történő stabilizálás zárt tibia törés modell esetén korábban leírt jól bevált módszer a törésgyógyulás vizsgálatára. Hátránya, hogy a stabilizáló belső eszköz nem ad kellő rotációs és axiális stabilitást, valamint térdízületi diszlokációjának és a velőüreg károsításának kockázata is igen magas (Schindeler A. et al. 2008.). A kallusz képződés vizsgálatára standardizált, könnyen reprodukálható törés modellt fejlesztettünk ki. A vizsgálatunk során 24 KO és 24 WT egér kallusz mintáját hasonlítottuk össze a nem operált tibia hasonló magasságában lévő ép csontjával.

A kallusz képződés egyik legfőbb indikátora az emelkedett ALP expresszió (Yu M. et al. 2018.). A PACAP hatással van az ALP funkciójára (Juhász T. et al. 2014.), és a hiányában csökkent ALP expresszió és aktiváció volt kimutatható a PACAP KO egerek combcsontjában és a lábszárcsontjában egyaránt. Jelentősen csökkent mRNS expressziót mutattunk ki PACAP KO egerek tibia kallusz mintáiban, valamint bizonyítottuk, hogy a PACAP hatással van a poszttranszkripciós folyamatokra is, amely eredményünk a kutatócsoportunk korábbi eredményeivel, illetve az azokból levont következtetésekkel összhangban van (Juhász T. et al. 2014., 2015.). A vad típusú egerek kallusz mintáiban folyamatosan csökkenő ALP fehérje szintet mértünk a csontgyógyulás végéig, mely összhangban van azzal az eredménnyel, hogy a PACAP KO egerek femurjában eltérő szeretlen állomány detektálható, mellyel a törési paraméterek is változnak. A magasabb ALP szint a PACAP KO egerek kallusz mintájában a csontgyógyulás végére sem csökkent, jelezve a zavart kallusz képződést. Togari és munkatársai igazolták, hogy a különböző neuropeptidok és azok receptorai hatással vannak az ALP funkciójára és a csont metabolizmusára (Togari A. et al. 1997.), amit a PACAP esetében is igazoltunk mind a femur, mind a tibia mintáinkban. Vizsgálatainkban bizonyítottuk a PACAP szerepét az *in vivo* csontgyógyulás folyamatában, ami két útvonalon keresztül is végbemehet: direkt útvonalon, a PKA-Runx2-ALP tengelyen keresztül, ahogy azt a femurban végzett kísérleteink is mutatják, míg indirekt módon a β -catenin WNT jelátviteli útvonalon (44. ábra) (Yu R. et al. 2014.).



44. ábra: A PACAP jelátvitel hatásait mutatja be oszteogén sejt differenciációban (oszteoblaszt) (Juhász T. et al. 2015.).

Az I-es típusú kollagén és a mátrix organikus elemeinek képződése károsodott volt a PACAP KO egerek csontjaiban és jelentősen emelkedett volt a kollagén lamellák vastagsága az oszteonban. A normális kallusz képződés során az I-es típusú kollagén expressziója csúcsosodik, majd a csontgyógyulás végére normalizálódik (Joerring S. et al. 1994.). Hasonló eredményt mutattunk ki a kísérleteink során, míg ép csontgyógyulási folyamatot észleltünk a WT egerekben. A kollagén expresszió szignifikánsan emelkedett volt a PACAP KO egerek kallusz mintáiban, ami bizonyítja a kereszt kapcsolatot a WNT- β -catenin jelátviteli út és a PACAP jelátvitel között (Yu R. et al. 2014.), ami tovább erősíti a hipotézisünket, hogy a PACAP szerepet játszik a megfelelő csontképződés és kallusz képződés kiegyensúlyozott folyamatában. A BMP fehérjék a kallusz kialakulásnak fontos indikátorai, vizsgálatainkban a BMP2, 4 és 6 expresszióját vizsgáltuk, amik bizonyítottan fontos szerepet játszanak a csont remodellációs folyamatában (Das A. et al. 2016., Li W. et al. 2015.). A BMP fehérjék mRNA expressziója csökkent volt, ez a látszólagos ellentétes momentum a PACAP posztranszkripció hatásával magyarázható (Juhász T. et al. 2014., 2015.). A BMP2 expressziója alacsonyabb volt a PACAP KO egerek kallusz mintáiban, azonban a WT egerek tibia és femur mintáiban szignifikánsan emelkedett expressziót észleltünk. A BMP4 fehérje expressziója magasabb volt a WT típusú egerek

mintáiban, azonban a csontgyógyulás során nagyon korai csökkenést detektáltunk a PACAP KO egerek kalluszában. A BMP6 az egyik legfontosabb BMP fehérje, ami fontos szereppel bír a homeosztázis fenntartásában a csontgyógyulás során (Beederman et al. 2013.). A WT egerek kalluszában a BMP6 expressziója fokozatosan emelkedett, de korai csökkenést figyeltünk meg a PACAP KO egerek kalluszában, ami a regeneráció végére tovább csökkent. Ezzel ellentétben a Smad1 expresszió emelkedett volt a csontgyógyulás végső fázisában. Ez az eredmény rámutat a PACAP BMP független Smad1 aktivációra a csont regenerációja során (Juhász T. et al 2014.). A PACAP hiányában a normál BMP felszabadulás zavart szenvedett és fokozta a korai regenerációt a BMP4 és 6 expressziójának növekedésével. Ezen citokinek aktivitását nem segíti elő a PACAP hiánya, de végeredményképp késleltetve aktiválja a PACAP független Smad jelátviteli útvonalat. Az így kapott eredmények alapján következtethetünk, hogy a PACAP a BMP jelátviteli útvonalon keresztül játszik meghatározó szerepet a megfelelő csontgyógyulás folyamatában. Kísérleteink során kidolgoztunk egy jól és könnyen reprodukálható törés modellt, ami lehetővé tette a csontgyógyulás molekuláris szintű vizsgálatait. Ennek köszönhetően összehasonlítottuk a WT és a PACAP KO egerek törésgyógyulását. Kísérleteink során bizonyítottuk, hogy a PACAP KO egerek csontfejlődése és kallusz képződése károsodott volt, ezek alapján elmondható, hogy a PACAP fontos szerepet játszik a megfelelő csont újraképződésében a törésgyógyulás folyamatában.

Klinikai tanulmány

A gyermekkori distalis harmadi alkar törések előfordulása gyakori, a kezelése szerteágazó. A dolgozatban a distalis harmadi alkar törés és az izolált distalis harmadi radius törés különböző operatív kezelési lehetőségeit vizsgáltuk. A retrospektív vizsgálat 9 év beteganyagát tekintette át.

Vizsgálatunk során a nemek közti megoszlás a nemzetközi adatokhoz hasonlóan azt mutatta, hogy a fiúk háromszor gyakrabban sérültek, mint a lányok (Rockwood és Wilkins 2010., Ács G. et al. 2001.).

A törések nagy részét tűződróttal rögzítettük, ami alátámasztja azt a tényt, hogy a gyermekkori disztális radius törések gold standard műtéti megoldása a tűződrótos oszteoszintézis (Lieber J. et al. 2006., Satish BR. et al. 2014., Sano K. et al. 2013., Parikh Sn. et al. 2013., Lee SC. et al. 2013). Számos variációja ismert a tűződrótos rögzítésnek, hazánkban a Kapandji és a Müller technika terjedt el (Fadgyas B. et al. 2018.). Legnagyobb előnye, hogy minimális műszerezettséget igényel, könnyen és gyorsan elvégezhető minimál invazív eljárás. A leggyakrabban alkalmazott technika esetén is kialakulhatnak szövődmények, ami miatt más műtéti megoldások is kidolgozásra kerültek. A leggyakrabban előforduló szövődmények a következők: a tűződrót elvándorlás, a drótvég okozta bőr irritáció, a perforáció és a növekedési zóna sérülés (Varga M. et al. 2017., Fadgyas B. et al. 2018., Tosti R. et al. 2015., Subramanian P. et al. 2012., Abzug JM. et al. 2014., Boyden EM. et al. 1991., Pritchett JW. et al. 1994.). Egyes szerzők a törés jellege, lokalizációja miatt a transzsepifizeális dróttűzést javasolják (Lieber J. et al. 2006., Satish BR. et al. 2014., Sano K. et al. 2013.), míg mások a növekedési zóna sérülése és a későbbi növekedési zavar kialakulása miatt nem javasolják a fizis áttűzést (Varga M. et al. 2017., Ács G. et al. 2001.). A nem megfelelő stabilitás miatt kiegészítő gipszrögzítésre van szükség. Mindkét alkarcsont sérülése esetén hosszú felső végtagi, míg izolált disztális radius törés esetén rövid gipszsin szükséges (Lieber J. et al. 2006., 2011., Satish BR. et al. 2014.). A retrospektív vizsgálat eredményei alapján a tűződrótos oszteoszintézis alkalmazásakor készítettük a legtöbb posztoperatív röntgent, csak itt mértünk 10°-nál nagyobb tengelyeltérést a fémkivétel után. A fémkivétel átlagos ideje ennél a rögzítés típusnál volt a legrövidebb, illetve az ízfelszíntől mért töréstávolság is itt volt a legkisebb. A nagyobb visszamaradó tengelyeltérés egyik oka az lehet, hogy a tűződrótok eltávolítása korábban történt meg, mint az elasztikus szegek eltávolítása, így a gyermekkorban jól ismert remodeláció még nem következhetett be, így a későbbi nyomonkövetés során nagy valószínűséggel kisebb tengelyeltéréseket mértünk volna.

Az elasztikus velőűrszegezés két évtizede ismert és alkalmazott módszer hazánkban, azonban a rövid elasztikus szegezés mindössze öt éve alkalmazott technika, ezzel magyarázható az alacsony esetszám. A gyermekek közel negyedében a disztális radius törés fixálása dorzálisan bevezetett elasztikus szeggel történt. A módszer előnye, hogy minimál invazív, nagyobb stabilitást ad, mint a tűződrótos oszteoszintézis, de számos szerző ennek ellenére javasolja a külső rögzítést (Joulié S. et al. 2011., Ge YH. et al. 2010.). Hátránya, hogy a túl hosszán visszahagyott elasztikus szeg a bőr irritációját és perforációját alakíthatja ki, míg a túl röviden az extensor inak alatt visszavágott szegvég az ín, leggyakrabban az EPL szakadását okozhatja (Fadgyas B. et al. 2018., Bukvic N. et al. 2015., Nisar A. et al., Brooker B. et al. 2014., Stahl S. et al. 2007.). A velőűrszeg bevezetése során a fizis megkímélésre kerül, így a fizis károsodás előfordulása minimalizálható (Varga M. et al. 2017., Schimttenebecher P. et al. 2005.).

A dorzálisan bevezetett velőűrszeggel kezelt gyermeknél készítettük a legkevesebb posztoperatív röntgent, illetve itt mértük a legnagyobb töréstávolságot az ízfelszíntől.

A short TEN technika lényege, hogy két előre meghajlított rövid elasztikus szeget vezetünk a radiusba. A módszer előnye, hogy kellőstabilitást ad és külső rögzítésre az esetek döntő többségében nincs szükség, a bevezetési pontok respektálják a fizist, így a növekedési zóna sérülése elkerülhető. Az eljárás hátránya, hogy két bevezetési ponton történik a szegek bevezetése, a dorzális behatolás során sérülhet az EPL, a radialis szeg bevezetése kapcsán a nervus radialis érző ága (Varga M. et al. 2017., Fadgyas B. et al. 2018). A rövid elasztikus szegezéssel kezelt gyermekek esetén a posztoperatív röntgenek száma és az ízfelszíntől mért töréstávolság az előző két műtétechnika értékei közé esett. Az elasztikus szegek eltávolítása később történt meg, mint a tűződrótoké.

A radius és a radius ulna együttes átmérőjének, valamint a törési rés ízfelszínhez való viszonyát korábbi közleményekben nem közölték. A preoperatív röntgenfelvételeken végzett retrospektív mérések alapján a törés magassága a disztális radius törések esetén meghatározhatja a választott műtétet.

Amennyiben a törési rés a distalis radius epifízis átmérő alapján szerkesztett kis négyszögön belül helyezkedett el, úgy tűződrótos oszteoszintézist végeztünk. Az ulna és a radius distalis epifízisének együttes átmérője alapján szerkesztett nagy négyszögön kívül, proximálisan elhelyezkedő törésnél Slongo TEN-nel történt a fixálás. Abban az esetben, ha a törési rés a kis négyszögön kívül, de a nagy négyszögön belül volt, a törés

rögzítése mindhárom műtétechnikával történt. A rövid elasztikus szegezést azonban csak az átmeneti zóna sérülései esetén alkalmaztunk.

Az egyértelműen elmondható, hogy a dia- metafízis határon lévő törések kezelése a mai napig vitatott és komoly problémát, kihívást jelent az ellátó orvosnak. A tűződróttal történő kezelés esetén sok a szövődmény és a rediszlokáció, ennek ellenére a leggyakrabban alkalmazott műtéti technika (Lieber J. et al. 2006., Varga M. et al. 2017.). A dorzális ESIN technika alkalmazása során a szegvég okozta bőrirritáció és az EPL ruptura komoly komplikációt jelent, így alkalmazása széles körben nem terjedt el. A rövid elasztikus szegezés egy új műtéti eljárás, ami a dia- metafízis határán lévő törések stabil rögzítésére ad lehetőséget. Az új módszerrel szerzett kezdeti tapasztalataink jók, a szegek bevezetési pontjain a szövődmény kialakulásának esélye fokozott, így a technika kivitelezése nagy tapasztalatot igényel. Az átmenti zóna törések fixálási módszereinek biomechanikai vizsgálata a későbbiekben tervezett, ami segítségével a 3D nyomtatott csontokon a stabilitási sorrend felállítható.

7. Összefoglalás

Munkánk során a következő új eredményeket mutattuk ki a PACAP-génhiányos és vad típusú egerek femur csontjainak vizsgálatára, a csontgyógyulásának összehasonlítására és a klinikai retrospektív vizsgálat során:

1. A WT és a PACAP KO egerek femurjainak morfológiai mérései során jelentős eltérést nem találtunk, azonban egyenetlen kalcium foszfát eloszlást észleltünk a PACAP KO egerek femur diafizis egyes részein. A femur diafizis disztális részén magasabb, míg a proximális részén alacsonyabb kalcium foszfát szintet észleltünk a PACAP KO egerek femur mintáiban. Az elülső kortikális a PACAP KO egerek mintáiban, míg a hátsó kortikális a WT egerek mintáiban volt vastagabb. A velőüreg átmérője a WT egerek mintáiban szélesebb volt. Ezek következtében a csontok törési együtthatói romlottak.
2. Az ALP mRNS expressziója a PACAP génhiányos egerekben jelentősen alacsonyabb volt, mint a WT egerek kalluszában. A WT kallusz mintákban emelkedett ALP fehérje expressziót mutattunk.
Alacsony mRNS expressziót észleltünk a WT egerek kalluszában, míg a PACAP KO egerekben magasabb I-es típusú kollagén expressziót észleltünk.
A WT egerek mintáiban szignifikánsan emelkedett BMP2 expressziót észleltünk, míg a PACAP KO egerek kallusz mintáiban a fehérje expressziója alacsonyabb volt.
3. A CT mérések alapján a PACAP KO egerek kalluszában emelkedett csontdenzitást mértünk a vad-típusú egerek kalluszához képest.
4. A komplett diafizis femur törés kialakításhoz szükséges erő szignifikánsan alacsonyabb volt a PACAP KO egerek mintáiban.
5. Vizsgálatunk alapján elmondható, amennyiben a törési rés a distalis radius epifízis átmérő alapján szerkesztett kis négyszögön belül helyezkedett el, úgy tűződrótos oszteoszintézis javasolt. Az ulna és a radius distalis epifízisének együttes átmérője alapján szerkesztett nagy négyszögön kívül, proximálisabban elhelyezkedő törések javasolt műtéti megoldása a Slonigo TEN-nel történő fixálás.
6. A legnagyobb visszamaradó tengelyeltérést a tűződrótos rögzítést követően mértünk. Ennek egyik magyarázata lehet, hogy a tűződrótok eltávolítása

2 hónappal korábban történt, mint az elasztikus szegek eltávolítása, így a remodelláció a másik két műtét technika alkalmazása esetén tovább érvényesülhetett.

7. A retrospektív mérések alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a törés magassága a disztális radius törések esetén meghatározza a választott műtétet.

8. Irodalomjegyzék

- Abzug JM**, Little K, Kozin SH (2014) Physeal arrest of the distal radius. *J Am Acad Orthop Surg.* 22:381-9.
- Agarwal A**, Halvorson LM, Legradi G (2005) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) mimics neuroendocrine and behavioral manifestations of stress: Evidence for PKA-mediated expression of the corticotropin-releasing hormone (CRH) gene. *Mol Brain Res.* 138:45-57.
- Ahnaou A**, Yon L, Arluison M, Vaudry H, Hannibal J, Hamon M, Adrien J, Bourgin P (2006) Immunocytochemical distribution of VIP and PACAP in the rat brain stem: implications for REM sleep physiology. *Ann N Y Acad Sci.* 1070:135-142.
- Andrew JG**, Andrew SM, Freemont AJ, Marsh DR (1994) Inflammatory cells in normal human fracture healing. *Acta Orthop Scand.* 65:462–466.
- Arimura A**, Somogyvári-Vigh A, Miyata A, Mizuno K, Coy DH, Kitada C (1991) Tissue distribution of PACAP as determined by RIA: highly abundant in the rat brain and testes. *Endocrinology.* 129:2787-2789.
- Arimura A** (2007) PACAP: the road to discovery. *Peptides.* 28:1617-1619.
- Ács G**, Hargitai E (2001) *Gyermektraumatológia*, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest
- Bae DS**, Waters PM (2006) Pediatric distal radius fractures and triangular fibrocartilage complex injuries. *Hand Clin.* 22:43-53
- Balogh B**, Juhász L, Vizi A, Bán Gy, Kovács T (2015) Infekciós ráta gyermekkorban epicutan hagyott tűződrót esetén. *Magyar Traumatológia Ortopédia Kézsebészet Plasztikai Sebészet* 58:27-32.
- Bastian O**, Pillay J, Alblas J, Leenen L, Koenderman L, Blokhuis T (2011) Systemic inflammation and fracture healing. *J Leukoc Biol.* 89:669–673.
- Beederman M**, Lamplot JD, Nan G, Wang J, Liu X, Yin L, Li R, Shui W, Zhang H, Kim SH, Zhang W, Zhang J, Kong Y, Denduluri S, Rogers MR, Pratt A, Haydon RC, Luu HH, Angeles J, Shi LL, He TC (2013) BMP signaling in mesenchymal stem cell differentiation and bone formation. *J. of Biomed, Sci. and Eng.* 6:32-52.
- Borbély É**, Scheich B, Helyes Z (2013) Neuropeptides in learning and memory. *Neuropeptides.* 47:439-450.
- Botz B**, Bölcskei K, Kereskai L, Kovács M, Németh T, Szigeti K, Horváth I, Máthé D, Kovács N, Hashimoto H, Reglődi D, Szolcsányi J, Pintér E, Mócsai A, Helyes Zs (2014) Differential regulatory role of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the serum-transfer arthritis model. *Arthritis Rheumatol.* 66:2739-50.

- Bourgault S**, Vaudry D, Botia B, Couvineau A, Laburthe M, Vaudry H, Fournier A (2008) Novel stable PACAP analogs with potent activity towards the PAC1 receptor. *Peptides*. 29:919-932.
- Boyden EM**, Peterson HA (1991) Partial premature closure of the distal radial physis associated with Kirschner wire fixation. *Orthopedics*. 14:585-588.
- Brooker B**, Harris PC, Donnan LT, Graham HK (2014) Rupture of the extensor pollicis longus tendon following dorsal entry flexible nailing of radial shaft fractures in children. *J Child Orthop*. 8:353-357.
- Bukvić N**, Marinović M, Bakota B, Bosak A, Karlo R, Kvesić A, Gusić N, Bukvić MC (2015) Complications of ESIN osteosynthesis-Experience in 270 patients. *Injury*. 46:40-43.
- Cai H**, Wang Z, Cai H (2014) Prebending of a titanium elastic intramedullary nail in the treatment of distal radius fractures in children. *Int Surg*. 99:269-275.
- Claes L**, Recknagel S, Ignatius A (2012) Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol*. 8:133–143.
- Chen W**, Inui T, Hachiya T, Ochi Y, Nakajima Y, Kajita Y (1993) Stimulatory action of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) on thyroid gland. *Biochem Biophys Res Commun*. 194:923-929.
- Cho TJ**, Gerstenfeld LC, Einhorn TA (2002) Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. *J Bone Min Res*. 17:513–520.
- Chung R**, Cool JC, Scherer MA, Foster BK, Xian CJ (2006) Roles of neutrophil-mediated inflammatory response in the bony repair of injured growth plate cartilage in young rats. *J Leukoc Biol*. 80:1272–1280.
- Das A**, Fishero BA, Christophel JJ, Li CJ, Kohli N, Lin Y, Dighe AS, Cui Q (2016) Poly(lactic-co-glycolide) polymer constructs cross-linked with human BMP-6 and VEGF protein significantly enhance rat mandible defect repair. *Cell Tissue Res*. 364:125-35.
- de Crombrughe B**, Lefebvre V, Behringer RR, Bi W, Murakami S, Huang W (2000) Transcriptional mechanisms of chondrocyte differentiation. *Matrix Biol*. 19:389–94.
- Ehlen HW**, Buelens LA, Vortkamp A (2006) Hedgehog signaling in skeletal development. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 78:267–79.
- Emmanuel G**, Laura Y, Lu KN, Stuart BG (2017) Inflammation, ageing, and bone regeneration *J Orthop Translat*. 10:28–35.

- Fadgyas B**, Józsa G, Varga R, Czene D, Varga M, Kelemen M, Wéber G, Kassai T (2018) A gyermekkori distalis alkar- és radius törések minimál invazív kezelési lehetőségei Három módszer adatainak retrospektív vizsgálata három gyermek-traumatológiát ellátó intézetben. *Magyar Traumatológia Ortopédia Kézsebészet Plasztikai Sebészet* 61:79-85.
- Farkas J**, Sándor B, Tamás A, Kiss P, Hashimoto H, Nagy AD, Fülöp BD, Juhász, T, Manavalan S, Reglődi D (2017) Early Neurobehavioral Development of Mice Lacking Endogenous PACAP. *J Mol Neurosci.* 61:468-478
- Filipsson K**, Sundler F, Hannibal J, Ahrén B (1998) PACAP and PACAP receptors in insulin producing tissues: localization and effects. *Regul Pept.* 74:167-175.
- Forlino A**, Marini JC (2016) Osteogenesis imperfecta. *Lancet* 387:1657-1671.
- Fu R**, Selph S, McDonagh M, Peterson K, Tiwari A, Chou R, Helfand M (2013) Effectiveness and harms of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spine fusion: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 158:890–902.
- Fujisawa H**, Mori Y, Kogure A, Tanaka H, Kamimura M, Masahashi N, Hanada S, Itoi E (2018) Effects of intramedullary nails composed of a new beta-type Ti-Nb-Sn alloy with low Young's modulus on fracture healing in mouse tibiae. *J Biomed. Mat. Res. Part B.*106:2841-2848.
- Fülöp BD**, Sándor B, Szentlélek E, Karanyicz E, Reglődi D, Gaszner B., Zákány R, Hashimoto H, Juhász T, Tamás A (2018) Altered Notch Signaling in Developing Molar Teeth of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide (PACAP)-Deficient Mice. *J Mol Neurosci.* 157:2356-66.
- Gaszner B**, Kormos V, Kozicz T, Hashimoto H, Reglődi D, Helyes Zs (2012) The behavioral phenotype of pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide-deficient mice in anxiety and depression tests is accompanied by blunted c-Fos expression in the bed nucleus of the stria terminalis, central projecting Edinger-Westphal nucleus, ventral lateral septum, and dorsal raphe nucleus. *Neuroscience.* 202:283-299.
- Gaál Cs** (2012) Sebészet, 8. aktualizált és bővített kiadás, Medicina
- Ge YH**, Wang ZG, Cai HQ, Yang J, Xu YL, Li YC, Zhang YC, Chen BC (2010) Pre-bent elastic stable intramedullary nail fixation for distal radial shaft fractures in children. *Orthop Surg.* 2:229-233.
- Gerstenfeld LC**, Cullinane DM, Barnes GL, Graves DT, Einhorn TA (2003) Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem.* 88:873–884.

- Giannoudis PV**, MacDonald DA, Matthews SJ, Smith RM, Furlong AJ, De Boer P (2000) Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Bone Jt Surg Br.* 82:655–658.
- Giunta S**, Castorina A, Marzagalli R, Szychlinska MA, Pichler K, Mobasher A, Musumeci G (2015) Ameliorative effects of PACAP against cartilage degeneration. Morphological, immunohistochemical and biochemical evidence from in vivo and in vitro models of rat osteoarthritis. *Int J Mol Sci.* 16:5922-44.
- Gray SL**, Yamaguchi N, Vencová P, Sherwood NM (2002) Temperature-sensitive phenotype in mice lacking pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Endocrinology.* 143:3946-3954.
- Grøgaard B**, Gerdin B, Reikerås O (1990) The polymorphonuclear leukocyte: has it a role in fracture healing? *Arch Orthop Trauma Surg.* 109:268–271.
- Haffner-Luntzer M.**, Fischer V, Prystaz K, Liedert A, Ignatius A (2017) The inflammatory phase of fracture healing is influenced by oestrogen status in mice. *Eur. J Med Res.* 22:23.
- Hannibal J** (2002) Pituitary adenylate cyclase-activating peptide in the rat central nervous system: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *J Comp Neurol.* 453:389-417.
- Hannibal J** (2006) Roles of PACAP-containing retinal ganglion cells in circadian timing. *Int Rev Cytol.* 251:1-39.
- Hans-Georg D**, Schmittenebecher PP, Slongo T, Wilkins KE (2006) Elastic Stable Intramedullary Nailing (ESIN) in Children. Thieme
- Hargreaves DG**, Drew SJ, Eckersley R (2004) Kirschner wire pin tract infection rates: a randomized controlled trial between percutaneous and buried wires. *J Hand Surg Br.* 29:374-376.
- Hegde V**, Jo JE, Andreopoulou P, Lane JM (2016) Effect of osteoporosis medications on fracture healing. *Osteoporosis Int.* 27:861-871.
- Hohmann EL**, Elde RP, Rysavy JA, Einzig S, Gebhard RL (1986) Innervation of periosteum and bone by sympathetic vasoactive intestinal peptide-containing nerve fibers. *Science.* 232:868–871.
- Hosoya M**, Kimura C, Ogi K, Ohkubo S, Miyamoto Y, Kugoh H, Shimizu M, Onda H, Oshimura M, Arimura A, et al (1992) Structure of the human pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) gene. *Biochim Biophys Acta.* 1129:199-206.
- Hughes-Fulford M**, Li CF (2011) The role of FGF-2 and BMP-2 in regulation of gene induction, cell proliferation and mineralization. *J Orthop Surg Res.* 6:8.

- Ishihara T**, Shigemoto R, Mori K, Takahashi K, Nagata S (1992) Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for vasoactive intestinal polypeptide. *Neuron*. 8:811–819.
- Isoke K**, Tatsuno I, Yashiro T, Nanmoku T, Takekoshi K, Kawakami Y, Nakai T (2003) Expression of mRNA for PACAP and its receptors in intra- and extra-adrenal human pheochromocytomas and their relationship to catecholamine synthesis. *Regul Pept*. 110:213–217.
- Ivic I**, Balaskó M, Fülöp BD, Hashimoto H, Tóth G, Tamás A, Juhász T, Koller Á, Reglődi D, Solymár M (2019) VPAC1 receptors play a dominant role in PACAP-induced vasorelaxation in female mice. *PLoS One*. 25;14(1):e0211433.
- Ivo Dumic-Cule**, Peric M, Kucko L, Grgurevic L, Pecina M, Vukicevic S (2018) Bone morphogenetic proteins in fracture repair *International Orthopedics*. 11:2619–2626.
- Joerring S**, Krogsgaard M, Wilbek H, Jensen LT (1994) Collagen turnover after tibial fractures. *Arch. Orthop Trauma Surg*. 113:334–6.
- Joeris A**, Lutz N, Wicki B, Slongo T, Audigé L (2014) An epidemiological evaluation of pediatric long bone fractures - a retrospective cohort study of 2716 patients from two Swiss tertiary pediatric hospitals. *BMC Pediatr*. 14:314.
- Joulié S**, Laville JM, Salmeron F (2011) Posteromedial elastic stable intra-medullary nailing (ESIN) in volarly displaced metaphyso-diaphyseal distal radius fractures in child. *Orthop Traumatol Surg Res*. 97:330–334.
- Jonason JH**, Xiao G, Zhang M, Xing L, Chen D (2009) Post-translational regulation of Runx2 in bone and cartilage. *J Dent Res*. 88:693–703.
- Joo KM**, Chung YH, Kim MK, Nam RH, Lee BL, Lee KH, Cha CI (2004) Distribution of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide receptors (VPAC1, VPAC2, and PAC1 receptor) in the rat brain. *J Comp Neurol*. 476:388–413.
- Juhász T**, Matta C, Katona É, Somogyi C, Takács R, Gergely P, Csernoch L, Panyi G, Tóth G, Reglődi D, Tamás A, Zákány R (2014) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) signalling exerts chondrogenesis promoting and protecting effects: Implication of calcineurin as a downstream target. *PLoS One*. 9:e91541.
- Juhász T**, Matta C, Katona É, Somogyi C, Takács R, Hajdú T, Helgadottir SL, Fodor J, Csernoch L, Tóth G, Bakó É, Reglődi D, Tamás A, Zákány R (2014) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) signalling enhances osteogenesis in UMR-106 cell line. *J Mol Neurosci*. 54:555–73.

- Juhász T**, Szentlélek E., Somogyi, CS, Takács R, Dobrosi N, Engler M, Tamás A, Reglódi D, Zákány R (2015) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) Pathway is induced by mechanical load and reduces the activity of hedgehog signaling in chondrogenic micromass cell cultures. *Int J Mol Sci.* 16:17344-17367.
- Juhász T**, Tamás A, Zákány R, Reglódi D (2016) Role of PACAP and VIP signalling in regulation of chondrogenesis and osteogenesis. Chapter 20.
- Kapoor V**, Theruvil B, Edwards SE, Taylor GR, Clarke NM, Uglow MG (2015) Flexible intramedullary nailing of displaced diaphyseal forearm fractures in children. *Injury.* 36:1221-1225.
- Kirchberger MC**, Unglaub F, Mühldorfer-Fodor M, Pillukat T, Hahn P, Müller LP, Spies CK (2015) Update TFCC: histology and pathology, classification, examination and diagnostics. *Arch Orthop Trauma Surg.* 135(3):427-37.
- Kon T**, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D (2001) Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *J Bone Min Res.* 16:1004–1014.
- Köves K**, Arimura A, Somogyvári-Vigh A, Vigh S, Miller J (1990) Immunohistochemical demonstration of a novel hypothalamic peptide, pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, in the ovine hypothalamus. *Endocrinology.* 127:264-271.
- Kvárik T**, Mammel B, Reglódi D, Kovács K, Werling D, Bede B, Váczy A, Fábian E, Tóth G, Kiss P, Tamás A, Ertl T, Gyarmati J, Atlasz T (2016) PACAP Is Protective in a Rat Model of Retinopathy of Prematurity, *Journal of Molecular Neuroscience* 60:179-85.
- Lee SC**, Han SH, Rhee SY, Lee HJ, Hong CK (2013) Percutaneous transphyseal pin fixation through the distal physis of the ulna in paediatric distal fractures of the forearm. *J Orthop Trauma.* 27:462-6.
- Lerner UH**, Persson E (2008) Osteotropic effects by the neuropeptides calcitonin gene-related peptide, substance P and vasoactive intestinal peptide. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 8:154–65.
- Lieber J**, Schmid E, Schmittenebecher PP (2010) Unstable distal metaphyseal forearm fractures. transepiphyseal intramedullary Kirschner-wire fixation as a treatment option in children. *Eur J Pediatr Surg.* 6:395-8.
- Li TF**, Dong Y, Ionescu AM, Rosier RN, Zuscik MJ, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Drissi H (2004) Parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) inhibits Runx2 expression through the PKA signaling pathway. *Exp Cell Res.* 299:128–36.

- Li W**, Wei H, Xia C, Zhu X, Hou G, Xu F, Song X, Zhan Y (2015) Gene gun transferring-bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) gene enhanced bone fracture healing in rabbits. *Int J Clin Exp Med.* 8:19982-93.
- Li Z**, Wang W, Xu H, Ning Y, Fang W, Liao W, Zou J, Yang Y, Shao N (2017) Effects of altered CXCL12/CXCR4 axis on BMP2/Smad/Runx2/Osterix axis and osteogenic gene expressions during osteogenic differentiation of MSCs. *Am J Trans Res.* 9:1680-1693.
- Lindén A**, Cardell LO, Yoshihara S, Nadel JA (1999) Bronchodilation by pituitary adenylate cyclase-activating peptide and related peptides. *Eur Respir J.* 14:443-451.
- Lee LT**, Siu FK, Tam JK, Lau IT, Wong AO, Lin MC, Vaudry H, Chow BK (2007) Discovery of growth hormone-releasing hormones and receptors in nonmammalian vertebrates. *Proc Natl Acad Sci.* 104:2133-2138.
- Lu LY**, Loi F, Nathan K, Lin TH, Pajarinen J, Gibon E (2017) Pro-inflammatory M1 macrophages promote osteogenesis by mesenchymal stem cells via the COX-2-Prostaglandin E2 Pathway. *J Orthop Res.* 35:2378-2385.
- Lundberg P**, Lundgren I, Mukohyama H, Lehenkari PP, Horton MA, Lerner UH (2001) Vasoactive intestinal peptide (VIP)/pituitary adenylate cyclase-activating peptide receptor subtypes in mouse calvarial osteoblasts: presence of VIP-2 receptors and differentiation-induced expression of VIP-1 receptors. *Endocrinology.* 142:339-47.
- Lutz EM**, Sheward WJ, West KM, Morrow JA, Fink G, Harmar AJ (1993) The VIP2 receptor: molecular characterisation of a cDNA encoding a novel receptor for vasoactive intestinal peptide. *FEBS Lett.* 334:3-8.
- Majidinia M**, Sadeghpour A, Yousefi B (2018) The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. *J Cell Phys.* 233:2937-2948.
- Madhukar KT**, Gopalkrishna G, Jobin AM (2013) Percutaneous K-wire fixation of distal radius fractures: Our results of leaving the wire outside. *Int J Health & Allied Sci.* 2:23-29.
- Matoba Y**, Nonaka N, Takagi Y, Imamura E, Narukawa M, Nakamachi T, Shioda S, Banks WA, Nakamura M (2016) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide enhances saliva secretion via direct binding to PACAP receptors of major salivary glands in mice. *Anat Rec.* 299:1293-1299.
- Matsuda K**, Maruyama K (2007) Regulation of feeding behavior by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in vertebrates. *Peptides.* 28:1761-1766.

- Matsuda K**, Azuma M, Maruyama K, Shioda S (2013) Neuroendocrine control of feeding behavior and psychomotor activity by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) in vertebrates. *Obes Res Clin Pract.* 7:88.
- Matsuyama S**, Matsumoto A, Hashimoto H, Shintani N, Baba A (2003) Impaired long-term potentiation in vivo in the dentate gyrus of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) or PACAP type I receptor-mutant mice. *Neuroreport.* 14:2095-2098.
- McLauchlan GJ**, Cowan B, Annan IH, Robb JE (2002) Management of completely displaced metaphyseal fractures of the distal radius in children. A prospective, randomised controlled trial. *J Bone Joint Surg Br.* 84:413-7.
- Mészáros I.** (2009) Review of Volkmann's ischaemic contracture. *Orv Hetil.* 150:11-7.
- Miyata A**, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, Culler MD, Coy DH (1989) Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 164:567-574.
- Miyata A**, Jiang L, Dahl RD, Kitada C, Kubo K, Fujino M, Minamino N, Arimura A (1990) Isolation of a neuropeptide corresponding to the N-terminal 27 residues of the pituitary adenylate cyclase activating polypeptide with 38 residues (PACAP38). *Biochem Biophys Res Commun.* 170:643-648.
- Murck H**, Steiger A, Frieboes RM, Antonijevic IA (2007) Pituitary adenylate cyclase activating peptide affects homeostatic sleep regulation in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 292:E853-857.
- Murthy KS**, Jin JG, Grider JR, Makhlouf GM (1997) Characterization of PACAP receptors and signaling pathways in rabbit gastric muscle cells. *Am J Physiol.* 272:1391-1399.
- Nagata A**, Tanaka T, Minezawa A, Poyurovsky M, Mayama T, Suzuki S, Hashimoto N, Yoshida T, Suyama K, Miyata A, Hosokawa H, Nakayama T, Tatsuno I (2009) cAMP activation by PACAP/VIP stimulates IL-6 release and inhibits osteoblastic differentiation through VPAC2 receptor in osteoblastic MC3T3 cells. *J Cell Physiol.* 221:75-83.
- Nisar A**, Bhosale A, Madan SS, Flowers MJ, Fernandes JA, Jones S (2013) Complications of Elastic Stable Intramedullary Nailing for treating paediatric long bone fractures. *J Orthop.* 10:17-24.
- Oberle M**, Schlickewei W (2005) Die intramedulläre Markraumschienung der kindlichen Unterarmfraktur mit TENS. *Unfallchirurg.* 108:235-237.

- Ohtaki H**, Nakamachi T, Dohi K, Shioda S (2008) Role of PACAP in ischemic neural death. *J Mol Neurosci.* 36:16-25.
- Okada R**, Yamamoto K, Ito Y, Mochida H, Tonon MC, Fournier A, Leprince J, Vaudry H, Kikuyama S (2007) VIP and PACAP stimulate TSH release from the bullfrog pituitary. *Peptides.* 28:1784-1789.
- Okura H**, Sato S, Kishikawa S, Kaneto S, Nakashima T, Yoshida N, Takayanagi H, Kiyono H (2014) Runx2-I isoform contributes to fetal bone formation even in the absence of specific N-terminal amino acids. *PLoS One.* 9:e108294.
- Oftadeh R**, Perez-Viloria M, Villa-Camacho JC, Vaziri A, Nazarian A (2015) Biomechanics and mechanobiology of trabecular bone: a review. *J Biomech Eng.* 137:0108021–01080215.
- Ota M**, Takahata M, Shimizu T, Momma D, Hamano H, Hiratsuka S, Amizuka N, Hasegawa T, Iwasaki N (2018) Optimal administration frequency and dose of teriparatide for acceleration of biomechanical healing of long-bone fracture in a mouse model. *J Bone Miner Metab.* 37:256-263 .
- Otto C**, Hein L, Brede M, Jahns R, Engelhardt S, Gröne HJ, Schütz G (2004) Pulmonary hypertension and right heart failure in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type I receptor-deficient mice. *Circulation.* 110:3245-3251.
- Ozcab M**, Memisglu S, Copuroglu C, Saridogan K (2010) Percutaneous Kirschner Wire fixation in distal radius metaphyseal fractures in children: does it change the overall outcome? *Hippokratia.* 14:4.
- Parikh SN**, Jain VV, Youngquist J (2013) Intrafocal pinning for distal radius metaphyseal fractures in children. *Orthopedics.* 36:783-8.
- Persson E**, Lerner UH (2011) The neuropeptide VIP regulates the expression of osteoclastogenic factors in osteoblasts. *J Cell Biochem.* 112:3732–41.
- Pirger Z**, László Z, Kemenes I, Tóth G, Reglódi D, Kemenes G (2010) A homolog of the vertebrate pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide is both necessary and instructive for the rapid formation of associative memory in an invertebrate. *J Neurosci.* 30:13766-13773.
- Pritchett JW** (1994) Does pinning cause distal radial growth plate arrest? *Orthopaedics.* 17:550.
- Pitts RL**, Wang S, Jones EA, Symes AJ (2001) Transforming growth factor-beta and ciliary neurotrophic factor synergistically induce vasoactive intestinal peptide gene expression through the cooperation of Smad, STAT, and AP-1 sites. *J Biol Chem.* 276:19966–73.

- Pountos I**, Georgouli T, Calori GM, Giannoudis PV (2012) Do nonsteroidal anti-inflammatory drugs affect bone healing? A critical analysis. *Sci World J.* 2012:606404.
- Reddi AH**, Huggins C (1972) Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc Natl Acta Sci. USA* 69:1601–1605.
- Reglódi D**, Kiss P, Tamás A, Lengvári I (2003) The effects of PACAP and PACAP antagonist on the neurobehavioral development of newborn rats. *Behav Brain Res.* 140:131-139.
- Reglódi D** (2009) A PACAP neuroprotektív és általános citoprotektív hatásainak vizsgálata in vitro és in vivo modellekben. MTA Doktori értekezés. Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet, Pécs.
- Reglódi D**, Kiss P, Lubics A, Tamás A (2011) Review of the protective effects of PACAP in models of neurodegenerative diseases in vitro and in vivo. *Curr Pharm Des.* 17:962-972.
- Reglódi D**, Tamás A, Koppán M, Szogyi D, Welke L (2012) Role of PACAP in Female Fertility and Reproduction at Gonadal Level - Recent Advances, *Front Endoc.* 3, 155.
- Reglódi D**, Renaud J, Tamás A, Tizabi Y, Socías B, Del-Bel E, Raisman-Vozari R (2015) Novel tactics for neuroprotection in Parkinson's disease: Role of antibiotics, polyphenols and neuropeptides. *Prog Neurobiol.* S0301-0082 (15):00128-8.
- Reglódi D**, Váczy A, Rubio-Beltran E, MaassenVanDenBrink A (2018) Protective effects of PACAP in ischemia. *The J Headache Pain.* 19:19.
- Reglódi D**, Tamás A, Jungling A, Váczy A, Rivnyák A, Fülöp BD, Szabó E, Lubics A, Atlasz T (2018) Protective effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide against neurotoxic agents. *Neurotoxicology.* 66:185-194.
- Reglódi D**, Tóth D, Vicena V, Manavalan S, Brown D, Getachew B, Tizabi Y (2019) Therapeutic potential of PACAP in alcohol toxicity. *Neurochem Int.* 22;124:238-244.
- Renner A** (2011) Traumatológia, Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest,
- Rivnyák A**, Kiss P, Tamás A, Balogh D, Reglódi D, (2018) Review on PACAP-Induced Transcriptomic and Proteomic Changes in Neuronal Development and Repair. *Int J Mol Sci.* 19: 1020.
- Rockwood and Wilkins** (2010) Fractures in children. Seventh edition, Lippincott Williams & Wilkins
- Rudecki AP**, Gray SL (2016) PACAP in the defense of energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 9:620-632.
- Rüedi TP**, Murphy WM Thieme (2007) Stuttgart; New York; Davos Platz: AO principles of fracture management.
- Röhlich P** (2006) Szövektan Tankönyv. Semmelweis kiadó, Budapest.

- Satish BR**, Vinodkumar M, Suresh M, Seetharam PY, Jaikumar K (2014) Closed reduction and K-wiring with the Kapandji technique for completely displaced paediatric distal radial fractures. *Orthopedics*. 37:810-6.
- Sano K**, Hashimoto T, Kimura K, Ozeki S (2013) Percutaneous flexible double pinning (Py-Desmanet's procedure) for paediatric distal radius fractures. *Hand*. 8:392-6.
- Sándor B**, Fintor K, Felszeghy S, Juhász T, Reglődi D, Márk L, Kiss P, Jungling A, Fülöp BD, Nagy AD, Hashimoto H, Zákány R, Nagy A, Tamás A (2014) Structural and morphometric comparison of the molar teeth in pre-eruptive developmental stage of PACAP-deficient and wild-type mice. *J Mol Neurosci*. 54:331-41.
- Sándor K**, Bölcskei K, McDougall JJ, Schuelert N, Reglődi D, Elekes K, Pethő G, Pintér E, Szolcsányi J, Helyes Z (2009) Divergent peripheral effects of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-38 on nociception in rats and mice. *Pain*. 141:143-150.
- Schindeler A**, Morse A, Harry L, Godfrey C, Mikulec K, McDonald M, Gasser JA, Little DG (2008) Models of tibial fracture healing in normal and Nf1-deficient mice. *J Orthop Res*. 26:1053-60.
- Schmittenebecher PP** (2005) State-of-the-art treatment of forearm shaft fractures. *Injury*. 36:A25-34.
- Simmonds MC**, Brown JV, Heirs MK, Higgins JP, Mannion RJ, Rodgers MA et al (2013) Safety and effectiveness of recombinant human bone morphogenetic protein-2 for spinal fusion: a meta-analysis of individual-participant data. *Ann Intern Med*. 158:877–889.
- Shahi M**, A. Peymani, M. Sahmani (2017) Regulation of bone metabolism. *Rep biochem mol boil*. 5:73-82.
- Shioda S**, Zhou CJ, Ohtaki H, Yada T (2003) PACAP receptor signaling. *Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide*. Springer. 95-124. 124.
- Shioda S**, Ohtaki H, Nakamachi T, Dohi K, Watanabe J, Nakajo S, Arata S, Kitamura S, Okuda H, Takenoya F, Kitamura Y (2006) Pleiotropic functions of PACAP in the CNS: neuroprotection and neurodevelopment. *Ann NY Acad Sci*. 1070:550-60.
- Shioda S**, Nakamachi T (2015) PACAP as a neuroprotective factor in ischemic neuronal injuries. *Peptides*. 72:202-207.
- Somogyvari-Vigh A**, Reglődi D (2004) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide: a potential neuroprotective peptide. Review. *Curr Pharm Des*. 10:2861-2889.

Stahl S, Calif E, Eidelman M. Delayed rupture of the extensor pollicis longus tendon following intramedullary nailing of a radial fracture in a child. *J Hand Surg Eur Vol.* 2007;32:67-8.

Strange-Vognsen HH, Arnbjerg J, Hannibal J (1997) Immunocytochemical demonstration of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in the porcine epiphyseal cartilage canals. *Neuropeptides.* 31:137–41.

Subramanian P, Kantharuban S, Shilston S, Pearce OJ (2012) Complications of Kirschner-wire fixation in distal radius fractures. *Tech Hand Up Extrem Surg.* 16:120-3.

Szentágothai J, Réthelyi M (2014) *Funkcionális anatómia.* Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest

Theddy FS (2005) Complications and failures of the ESIN technique. *Injury.* 36:A78-85.

Togari A, Arai M, Mizutani S, Mizutani S, Koshihara Y, Nagatsu T (1997) Expression of mRNAs for neuropeptide receptors and beta-adrenergic receptors in human osteoblasts and human osteogenic sarcoma cells. *Neurosci Let.* 233:125-8.

Toriyama M, Mizuno N, Fukami T, Iguchi T, Toriyama M, Tago K, Itoh H (2012) Phosphorylation of doublecortin by protein kinase A orchestrates microtubule and actin dynamics to promote neuronal progenitor cell migration. *J Biol Chem.* 287:12691-702.

Tosti R, Foroohar A, Pizzutillo PD, Herman MJ (2015) Kirschner wire infections in paediatric orthopaedic surgery. *J Pediatr Orthop.* 35:69-73.

Usdin TB, Bonner TI, Mezey E (1994) Two receptors for vasoactive intestinal polypeptide with similar specificity and complementary distributions. *Endocrinology.* 135:2662-2680.

Varga M, Gáti N, Kalóz E, Bíró Z, Szeverényi C, Kardos D, Józsa G (2017) Ultrasonographic diagnosis of distal pediatric forearm fractures. *Orv Hetil.* 158(24):944-948.

Varga M, Józsa G, Fadgyas B, Kassai T, Renner A (2017) Short, double elastic nailing of severely displaced distal pediatric radial fractures: A new method for stable fixation. *Medicine.* 96(14):e6532.

Vaudry D, Falluel-Morel A, Bourgault S, Basille M, Burel D, Wurtz O, Fournier A, Chow BK, Hashimoto H, Galas L, Vaudry H (2009) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide and its receptors: 20 years after the discovery. *Pharmacol Rev.* 61: 283-357.

Vaudry D, Gonzalez BJ, Basille M, Yon L, Fournier A, Vaudry H (2000) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and its receptors: from structure to functions. *Pharmacol Rev.* 52:269-324.

- Xing Z**, Lu C, Hu D, Yu YY, Wang X, Colnot C (2010) Multiple roles for CCR2 during fracture healing. *Dis Model Mech.* 3:451–458.
- Yang J**, Zhao L, Tian W, Liao Z, Zheng H, Wang G, Chen K (2013) Correlation of WWOX, RUNX2 and VEGFA protein expression in human osteosarcoma. *BMC Med Genomics.* 6:56.
- Yu MD**, Su BH, Zhang X X (2018) Morphologic and molecular alteration during tibia fracture healing in rat. *Eur Rev Med Pharm Sci.* 22:1233-1240.
- Yu, R.**, Cui, Z., Li, M., Yang, Y. & Zhong, J. (2014) Dimer-dependent intrinsic/basal activity of the class B G protein-coupled receptor PAC1 promotes cellular anti-apoptotic activity through Wnt/beta-catenin pathways that are associated with dimer endocytosis. *PloS one.* **9**, e113913.
- Wang L**, Park P, La MF, Than K, Rahman S, Lin CY (2013) Bone formation induced by BMP-2 in human osteosarcoma cells. *Int J Oncol.* 43:1095–102.
- Warren JB**, Donnelly LE, Cullen S, Robertson BE, Ghatei MA, Bloom SR, MacDermot J (1991) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: a novel, long-lasting, endothelium independent vasorelaxant. *Eur J Pharmacol.* 197:131-134.
- Waschek JA** (2002) Multiple actions of pituitary adenylyl cyclase activating peptide in nervous system development and regeneration. *Dev Neurosci.* 24:14-23.
- Watanabe J**, Nakamachi T, Matsuno R, Hayashi D, Nakamura M, Kikuyama S, Nakajo S, Shioda S (2007) Localization, characterization and function of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide during brain development. *Peptides.* 28(9):1713-9.
- Winzell MS**, Ahrén B (2007) Role of VIP and PACAP in islet function. *Peptides.* 28:1805-1813.
- Zákány R**, Szűcs K, Bakó E, Felszeghy S, Czifra G, Biró T, Módis L, GergelyP (2002) Protein phosphatase 2A is involved in the regulation of protein kinase A signaling pathway during in vitro chondrogenesis. *Exp Cell Res.* 275:1–8.
- Zhang R**, Edwards JR, Ko SY, Dong S, Liu H, Oyajobi BO, Papasian C, Deng HV, Zhao M (2011) Transcriptional regulation of BMP2 expression by the PTH-CREB signaling pathway in osteoblasts. *PLoS One.* 6:e20780.
- Zhou W**, Yu L, Fan J, Wan B, Jiang T, Yin J, Huang Y, Li Q, Yin G, Hu Z (2017) Endogenous Parathyroid Hormone Promotes Fracture Healing by Increasing Expression of BMP2 through cAMP/PKA/CREB Pathway in Mice. *Cell phys biochem.* 42(2): 551-563.
- Zhu L**, Tamvakopoulos C, Xie D, Dragovic J, Shen X, Fenyk-Melody JE, Schmidt K, Bagchi A, Griffin PR, Thornberry NA, Sinha Roy R (2003) The role of dipeptidyl

peptidase IV in the cleavage of glucagon family peptides: in vivo metabolism of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide-(1-38). *J Biol Chem.* 278:22418-22423.

9. Ph.D. értekezés alapjául szolgáló saját és egyéb közlemények

9.1. Ph.D. értekezés alapjául szolgáló közlemények

Józsa G, Szegeczki V, Pálfi A, Kiss T, Helyes Z, Fülöp B, Cserhádi C, Daróczi L, Tamás A, Zákány R, Reglődi D, Juhász T (2018) Signalling alterations in bones of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) gene deficient mice. *Int J Mol Sci.* 27;19(9). pii: E2538. doi: 10.3390/ijms19092538 (IF: 3.687)

Varga M, **Józsa G**, Fadgyas B, Kassai T, Renner A (2017) Short, double elastic nailing of severely displaced distal pediatric radial fractures: A new method for stable fixation. *Medicine* 96(14):e6532. (IF: 2.028)

Fadgyas B, **Józsa G**, Varga R, Czene D, Varga M, Kelemen M, Wéber G, Kassai T (2018) A gyermekkori distalis alkar- és radius törések minimál invazív kezelési lehetőségei. Hárommódszer adatainak retrospektív vizsgálata három gyermek-traumatológiát ellátó intézetben. *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet* 61. 1-2.

Józsa G, Fülöp B, Kovács L, Czibere B, Szegeczki V, Kiss T, Hajdú T, Tamás T, Helyes Zs, Zákány R, Reglődi D, Juhász T (2019) Lack of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) disturbs callus formation. *Front Neurosci. Neuroendocrinology* (revision resubmitted)

9.1. Egyéb közlemények

Józsa G, Mohay G, Pintér A, Vástyán A (2011) Congenitalis rekeszsérv vagy hiatus hernia: diagnosztikus problémák öt hónapos csecsemőben *Orvosi Hetilap* 152. évf. 37. sz 1500-1503.

Józsa G, Farkas A (2013) Egyidejű bilaterális avulziós tuberositas tibiae törés ellátása gyermekkorban. *Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet* 56(3):219-224.

Józsa G, Mohay G, Pintér A, Vástyán (2015) A hasi cysták és cystosus képletek differenciáldiagnózisa gyermekkorban [Differential diagnosis of abdominal cysts in children. Case reports]. Orvosi Hetilap 156(37), 1519–1523.(**IF: 0.291**)

Józsa G, Juhász Zs, Kassai T (2015) Az olecranon és a radius fej egyidejű nagy elmozdulással járó törésének kezelése gyermekkorban [Treatment of the dislocated simultaneous olecranon and radial head fracture in children]. Magyar Traumatológia, Ortopédia, Kézsebészet, Plasztikai Sebészet 58. 2-3.

Molnár K, **Józsa G**, Oberitter Z, Cholnoky E, Pankovics P, Reuter G, Tornóczky E (2016) Ujjon lévő cystosus elváltozás háttérében diagnosztizált dirofilariosis. [An unusual cause of the hand cyst: finger dirofilariasis]. Orvosi Hetilap 157(39):1571-1574. (**IF: 0.349**)

Józsa G, Tóth E, Juhász Zs (2017) New dressing combination for the treatment of partial thickness burn injuries in children. Ann. Burns Fire Disasters 30(1): 43–46.

Varga M, Gáti N, Kalóz E, Bíró Zs, Szeverényi Cs, Kardos D, **Józsa G** (2017) Gyermekkori csuklótáji törések diagnosztikája ultrahanggal. [Ultrasonographic diagnosis of distal pediatric forearm fractures]. Orv Hetilap 158(24): 943–947.(**IF: 0.322**)

Józsa G, Kardos D, Oberitter Zs (2017) The Ishiguro technique for the treatment of mallet fingerfracture in adolescent. Novel techniques in arthritis and bone research 1 (1):555552.

Józsa G, Vajda P, Garami A, Csenkey A, Juhász Zs (2018) Treatment of partial thickness hand burn injuries in children with combination of silver foam dressing and zinc-hyaluronic gel. Case reports. Medicine 97:13 (e9991).(**IF: 2.028**)

10. Köszönetnyilvánítás

Hálámat és köszönetemet szeretném kifejezni témaveztőimnek, **Prof. Dr. Reglódi Dóriának** az MTA PACAP Kutatócsoport vezetőjének, a Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar Anatómiai Intézet vezetőjének és **Dr. Juhász Tamásnak**, a Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet **egyetemi adjunktusának**, a támogatásukért és kutatásaim során, valamint dolgozatom elkészítésében nyújtott segítségükért.

Köszönettel tartozom **Bíró Krisztina laborasszisztensnek**, **Dr. Zákány Róza egyetemi docensnek** és **Szegeczki Vincének** a Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetéből; **Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna egyetemi tanárnak** és **Kiss Tamásnak** a Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet és Szentágotthai János Kutatóközpont munkatársainak.

Köszönet illeti az **Anatómiai Intézet minden dolgozójának**, kiváltképpen **Dr. Kovács László egyetemi tanársegédnek**, az állatkísérletek során a közös munkát és a mindenkori támogató együttműködését.

Köszönöm a sok segítséget **Dr. Juhász Zsolt** egyetemi adjunktusnak és **Dr. Varga Rita rezidens orvosnak**, akik a klinikai tanulmány kidolgozásában és ellenőrzésében nyújtottak segítséget.

Szeretném, megköszöni a Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Gyermekklinika **Manuális Tanszék Sebészeti Osztály dolgozóinak** támogatásukat és megértésüket.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni **Feleségemnek**, **Dórinak** és **Gyermekeimnek**, **Zalánnak** és **Daninak** szeretetüket, támogatásukat és türelmüket.

Támogatás: GINOP-2.3.2-15-2016-0050 „PEPSYS”, MTA-TKI 14016