

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



025000200100





Αρ. βιβλίου 512 5.

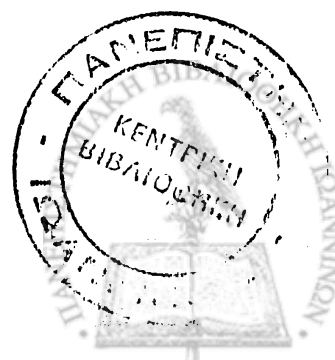
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘ. Π.Ν. ΣΟΥΚΑΚΟΣ

ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ - ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΑΓΩΓΗ ΜΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΠΕΡΗΧΩΝ

ΧΑΝΤΕΣ Η. ΜΙΧΑΗΛ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000



**“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική σχολή, δεν υποδηλώνει
αποδοχή των γνώμών του συγγραφέα”
(Νόμος 5343/32, άρθρο 200, παρ. 2)**



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Επιβλέπων: Παναγιώτης Ν. Σουκάκος: Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Κλινικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.**

**Αλεξάνδρος Μπερής: Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Κλινικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.**

**Κωνσταντίνος Μολύζος: Καθηγητής Ορθοπαιδικής Κλινικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.**



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Παναγιώτης Ν. Σουκάκος: Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Αλέξανδρος Μπερής: Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Κωνσταντίνος Μαλίζος: Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

• **Χρήστος Μασσαλάς:** Καθηγητής Μαθηματικού Τμήματος
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Δημήτριος Γλάρος: Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Αναστάσιος Γεωργούλης: Επίκουρος Καθηγητής Ορθοπαιδικής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Δημήτριος Φωτιάδης: Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Πληροφορικής
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



Στην μνήμη του πατέρα μου
Στην μητέρα μου.

Στην γυναίκα μου Έρρικα
και στον Ηλία



Με βαθιά ευγνωμοσύνη στους δασκάλους μου:

Παναγιώτη Ν. Σουκάκο

Αλέξανδρο Μπερή

Θεόδωρο Ξενάκη

Κωνσταντίνο Μαλίζο

Αναστάσιο Γεωργούλη



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διεκπεραίωση αυτής της διατριβής είναι συνισταμένη των προσπαθειών πολλών ανθρώπων που εργάστηκαν στο συγκεκριμένο θέμα. Είναι λοιπόν υποχρέωσή μου να ευχαριστήσω τους ανθρώπους με τους οποίους συνεργάστηκα στο θέμα αυτό, καθώς επίσης και όλους αυτούς που με βοήθησαν ο καθένας με τον δικό του τρόπο, για τις γνώσεις που απέκτησα μέχρι σήμερα στο αντικείμενο της Ορθοπαιδικής.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή της Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής Κλινικής του Νοσοκομείου Ιωαννίνων, κ. Καθηγητή Παναγιώτη Ν. Σουκάκο για την ανάθεση του θέματος της διατριβής, αλλά και για την πολύτιμη εμπειρία που απέκτησα κατά την διάρκεια της εξειδίκευσής μου στην κλινική του.

Τον αναπληρωτή Καθηγητή της Ορθοπαιδικής κ. Αλέξανδρο Μπερή ευχαριστώ θερμά, ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για τις υποδείξεις του και για τις πολυάριθμες γνώσεις που υπομονετικά με εφοδίασε.

Τον αναπληρωτή Καθηγητή της Ορθοπαιδικής κ. Θεόδωρο Ξενάκη ευχαριστώ ιδιαίτερα, για τις γνώσεις, την εμπειρία και την αγάπη που μου μετέδωσε για το αντικείμενο της Ορθοπαιδικής.

Τον σημερινό Καθηγητή της Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και πρώην επίκουρο Καθηγητή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Κωνσταντίνο Μαλίζο ευχαριστώ θερμά, ως επιβλέποντα της διατριβής αυτής, για τις οδηγίες και κατευθύνσεις που μου έδωσε και την συνεχή καθοδήγησή του πάνω στο θέμα.

Τον επίκουρο Καθηγητή της Ορθοπαιδικής κ. Αναστάσιο Γεωργούλη ευχαριστώ θερμά, για την συμβολή του στις ορθοπαιδικές μου γνώσεις αλλά και στην βοήθεια που μου πρόσφερε γενικότερα.

Τους λέκτορες της Ορθοπαιδικής Κλινικής κ. κ. Γρηγόριο Μητσιώνη και Αναστάσιο Κορομπύλια και τους επιμελητές κ. κ. Κωνσταντίνο Ζαχαρή, Νικόλαο Γεωργακόπουλο, Μάριο Βεκρή και Χρήστο Παπαγεωργίου ευχαριστώ, για την βοήθειά, τις γνώσεις και την συμπαράστασή τους που μου πρόσφεραν. Ένα ιδιαίτερο ευχαριστώ θέλω να απευθύνω στον επιμελητή της κλινικής κ. Αλέξανδρο Μαυροδοντίδη, για την βοήθεια και τον χρόνο που αφιέρωσε στην μελέτη αυτή, καθώς υπήρξε συνερευνητής και συνεργάτης. Ευχαριστώ επίσης τους φίλους και συναδέλφους ειδικευόμενους, με τους οποίους συνεργάστηκα τα χρόνια της ειδίκευσής μου.

Το προσωπικό της Ορθοπαιδικής κλινικής, του Χειρουργείου και την Γραμματέα της κλινικής κ. Παπανικολάου ευχαριστώ, για την βοήθεια και τις λύσεις που μου πρόσφεραν σε πολλά θέματα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης όλους αυτούς, που με την προσωπική τους εργασία συνέβαλαν στην μελέτη αυτή.

Τον Πρύτανη του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Καθηγητή του Μαθηματικού Τμήματος κ. Χρήστο Μασσαλά και τον επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Πληροφορικής κ. Δημήτρη Φωτιάδη ευχαριστώ θερμά σαν επικεφαλείς του



θεωρητικού τμήματος του πειράματος, για την πολύπλευρη υποστήριξη του προγράμματος από την δική τους σκοπιά. Επίσης ευχαριστώ την κ. Μαρίνα Πλησίτη, μεταπτυχιακή φοιτήτρια του Τμήματος Πληροφορικής για την επεξεργασία των ακτινογραφιών με την μέθοδο της υπολογιστικής πυκνομετρίας, την κ. Βασιλική Τσέπη φοιτήτρια του Τμήματος Πληροφορικής και τον κ. Αλέξανδρο Δευτεραίο μέλος του Εργαστηρίου Ιατρικής Τεχνολογίας του Τμήματος Πληροφορικής, για την βοήθειά τους.

Τον κ. Βασίλειο Παπαευθυμίου Καθηγητή του Τμήματος Φυσικής, την κ. Αλίκη Μουκαρίκα επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Φυσικής, τον κ. Θωμά Μπάκα αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Φυσικής, τον κ. Γεώργιο Ευαγγελάκη επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Φυσικής και τον κ. Παναγιώτη Μπενέκο τεχνικό του Τμήματος Φυσικής ευχαριστώ θερμά, για την προετοιμασία και κατασκευή της πειραματικής συσκευής των υπερήχων, που χρησιμοποιήσαμε για την διάγνωση και προαγωγή της οστεογένεσης.

Την αναισθησιολόγο κ. Δήμητρα Νιόκου ευχαριστώ θερμά για την συνεχή προσφορά της και για το ενδιαφέρον που έδειξε για την μελέτη αυτή.

Τον κ. Απόστολο Καραντάνα Διευθυντή του Αξονικού Τομογράφου του Γενικού Κρατικού Νοσοκομείου Λάρισας, ευχαριστώ θερμά για τις αξονικές τομογραφίες που έκανε στα οστά των πειραματόζων, καθώς επίσης και για τις συμβουλές του και την προθυμία που έδειξε.

Τον κ. Θεόφιλο Καραχάλιο επίκουρο Καθηγητή της Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ευχαριστώ για την εμβιομηχανική ανάλυση που πραγματοποίησε στα οστά των πειραματόζων.

Την κ. Αφροδίτη Κατσαράκη ευχαριστώ θερμά για την πολύπλευρη στατιστική ανάλυση των στοιχείων της έρευνας αυτής.

Τον κτηνίατρο κ. Δημήτριο Καραμανίδη, ευχαριστώ για τις συμβουλές και την συνεχή φροντίδα του, για την καλύτερη δυνατή μετεγχειρητική πορεία των ζώων.

Τον κ. Στέφανο Ζώη χειριστή του Ακτινολογικού Τμήματος, ευχαριστώ για την πολύτιμη βοήθειά του στην διενέργεια του ακτινολογικού ελέγχου.

Τους νοσηλευτές κ.κ. Άρη Φωτίου, Παππά Ιωάννη και Μαρία Χατζηαναστασίου, ευχαριστώ για την ενεργό συμμετοχή τους στην-πραγματοποίηση των χειρουργείων.

Τον κ. Βασίλειο Γιούτσο ζωοκόμο, ευχαριστώ για την υπομονή και μεθοδικότητα που είχε στο δύσκολο και καθημερινό έργο της φροντίδας των ζώων.

Τέλος ευχαριστώ ιδιαίτερα την φιλόλογο κ. Αικατερίνη Βάιου, για την γλωσσική επιμέλεια των κειμένων και τον γραφίστα και φίλο Ιωάννη Σιούλη, για την πολύτιμη και πολλαπλή τεχνική βοήθειά του, με σκοπό την όσο το δυνατόν καλή παρουσίαση της συγγραφής αυτής.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ.....	ΣΕΛ.
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΠΩΡΩΣΗ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ	5
Φυσιολογία πώρωσης καταγμάτων	5
Κυτταρική και μοριακή βιολογία της πώρωσης	8
Μηχανικό περιβάλλον και πώρωση	10
Παθοφυσιολογία καθυστερημένης πώρωσης και ψευδάρθρωσης	14
ΔΙΑΤΑΤΙΚΗ ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ	15
Βιολογία διατατικής οστεογένεσης	16
ΠΡΟΑΓΩΓΗ ΠΩΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ	19
Βιολογικές μέθοδοι	
Οστικά μοσχεύματα	19
Μυελός των οστών	20
Οστεοαγώγιμες μέθοδοι	23
Παράγοντες ανάπτυξης	24
Γονιδιακή θεραπεία	29
Βιοφυσικές μέθοδοι	
Παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία	33
ΥΠΕΡΗΧΟΙ	35
Αρχές εφαρμογής υπερήχων	35
Προαγωγή πώρωσης με υπερήχους	39
Διάγνωση οστεογένεσης με υπερήχους	47
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
Σκοπός της μελέτης	55
Υλικό	55
Χειρουργική τεχνική	57
Μέθοδοι	61
Μεθοδολογία διάγνωσης της οστεογένεσης με υπερήχους	66
Αποτελέσματα	70
Αποτελέσματα διάγνωσης της οστεογένεσης με υπερήχους	82
Συζήτηση	85
Συμπεράσματα	89
Περίληψη	90
Summary	91
Βιβλιογραφία	92

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ακόμη και σήμερα, παρά την συνεχή τάση για εξειδίκευση, η έννοια του κατάγματος, είναι ταυτόσημη με την ειδικότητα της Ορθοπαιδικής. Έτσι λοιπόν, αποτελεί πρόταγμα για τον Ορθοπαιδικό ιατρό, να είναι γνώστης των κακώσεων του σκελετικού συστήματος και να παρακολουθεί τις εξελίξεις πάνω στο αντικείμενο αυτό.

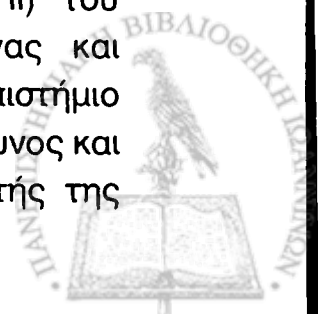
Η πώρωση των καταγμάτων σε αντίθεση με την επούλωση τραυμάτων σε άλλους ιστούς, οδηγεί σε πλήρη αποκατάσταση του προυπάρχοντος οστού, χωρίς τον σχηματισμό ουλής. Με αυτή την έννοια λοιπόν, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η πώρωση των καταγμάτων αποτελεί ένα είδος οστεογένεσης αφού δημιουργείται, "γεννάται", νέο οστόν.

Τα περισσότερα κατάγματα σήμερα πωρώνονται χωρίς προβλήματα. Ένα ποσοστό όμως, της τάξεως του 5-10%, αργούν να πωρωθούν ή δεν πωρώνονται. Εκτός αυτού, η πώρωση ενός κατάγματος είναι μια χρονοβόρα διαδικασία που τις περισσότερες φορές απαιτεί μήνες για την ολοκλήρωσή της, στερώντας έτσι από τον ασθενή τη δυνατότητα για επαγγελματική και κοινωνική δραστηριότητα στο διάστημα αυτό. Η δυνατότητα να επιστρέψει ο ασθενής νωρίς στις καθημερινές δραστηριότητες του και στην δουλειά του συνδυάζει ψυχολογικά και οικονομικά οφέλη. Η επίλυση των προβλημάτων αυτών, η εξασφάλιση δηλαδή της πώρωσης και η επιτάχυνσή της, απασχολούν έντονα την Παγκόσμια Ορθοπαιδική Κοινότητα και αποτελούν αντικείμενο πολλών μελετών. Οι μέθοδοι προαγωγής-επιτάχυνσης της πώρωσης που έχουν αναπτυχθεί σήμερα είναι πολλές και περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα, από την κατηγορία των οστικών μοσχευμάτων μέχρι την γονιδιακή θεραπεία.

Ένα άλλο πρόβλημα που σχετίζεται με τα κατάγματα, είναι η παρακολούθηση της πορείας των καταγμάτων που γίνεται σήμερα με την απλή ακτινογραφία. Έτσι όμως, ο ασθενής επιβαρύνεται με αρκετή ακτινοβολία, με τις όποιες αρνητικές συνέπειες έχει αυτό. Γίνονται λοιπόν από τους ερευνητές προσπάθειες για εξεύρεση εναλλακτικών μεθόδων για την διάγνωση της πορείας του κατάγματος.

Η συγγραφή του πονήματος αυτού, έχει ως βάση μια πειραματική, ερευνητική μελέτη που ασχολήθηκε με την διερεύνηση των προβλημάτων αυτών.

Η εκπόνηση της διατριβής εντάσσεται στα πλαίσια της εκτέλεσης του Επιχειρησιακού Προγράμματος Έρευνας και Τεχνολογίας II (Ε.Π.Ε.Τ II) του Υπουργείου Βιομηχανίας και της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας. Η εκτέλεση του προγράμματος ανατέθηκε στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων μετά από υποβληθείσα πρόταση που έγινε δεκτή. Ο υπεύθυνος και κύριος ερευνητής του έργου, ήταν ο πρώην Επίκουρος Καθηγητής της



Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και νυν Καθηγητής Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Κωνσταντίνος Μαλίζο συγγραφέας συμμετείχε σαν κύριος συνερευνητής. Η συνολική διάρκεια πειράματος ήταν 3.5 έτη (Οκτώβριος 1995-Απρίλιος 1999) και χρηματοδοτήθηκε ολοκλήρου από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα.

Στην μελέτη ερευνήθηκαν οι δυνατότητες των υπερήχων (μιας μεθόδου προαγωγής της οστεογένεσης) στην προαγωγή δυο μορφών οστεογένεσης: πώρωσης (μοντέλο κατάγματος) και της διατατικής οστεογένεσης. Επίσης αναπτύχθηκε ένα σύστημα υπερήχων με σκοπό τη διάγνωση της πορείας της οστεογένεσης μέσω υπερήχων.

Στα πλαίσια του Γενικού μέρους αναπτύσσονται τα δυο είδη της οστεογένεσης που μελετούνται, δηλαδή η πώρωση και η διατατική οστεογένεση. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην πώρωση των καταγμάτων, με αναφορά στη φυσιολογία, μοριακή βιολογία και τις μηχανικές συνθήκες που διέπουν τη διαδικασία της πώρωσης. Στη συνέχεια γίνεται αναφορά σε όλες τις μεθόδους προαγωγής των καταγμάτων, παλιές και σύγχρονες, ώστε ο αναγνώστης να έχει μια σύγχρονη άποψη των μεθόδων αυτών. Στο κεφάλαιο των υπερήχων, αναπτύσσονται οι βασικές αρχές των υπερήχων και αναλύονται οι δυνατότητες των υπερήχων στα θέματα της προαγωγής και διάγνωσης της οστεογένεσης.

Στο Ειδικό μέρος αναλύεται το υλικό, η μεθοδολογία, τα αποτελέσματα της πειραματικής αυτής μελέτης, καθώς επίσης και τα συμπεράσματα που προκύπτουν.

Η έρευνα και η μελέτη της προαγωγής και της διάγνωσης της οστεογένεσης, με μη επεμβατικά μέσα είναι θέματα εξαιρετικά ενδιαφέροντα. Ελπίζω το ίδιο ενδιαφέρον να αποδειχθεί και η ανάγνωση αυτής της συγγραφής.



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΠΩΡΩΣΗ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ

Η πώρωση του κατάγματος είναι μια πολύπλοκη φυσιολογική διαδικασία, η οποία οδηγεί σε ίαση του οστού, ώστε αυτό να αποκτήσει ξανά τις φυσιολογικές του ιδιότητες για τη μεταφορά φορτίων.

Σε αντίθεση με τη διαδικασία ίασης των άλλων ιστών, η οποία οδηγεί σε ουλώδη ιστό με φτωχές ιδιότητες, η πώρωση του κατάγματος αποτελεί κυριολεκτικά μια αναγεννητική διαδικασία που αποκαθιστά πλήρως τον τραυματισμένο ιστό.

Πολλές από τις κυτταρικές και βιοχημικές διεργασίες που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της πώρωσης, παρατηρούνται επίσης και στην αναπτυξιακή πλάκα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του οστού.

Οι ομοιότητες αυτές και η ροή γνωσσιακών πληροφοριών από τη μια διεργασία στην άλλη, διευκόλυνε την ερευνητική κατανόηση και των δυο διαδικασιών.

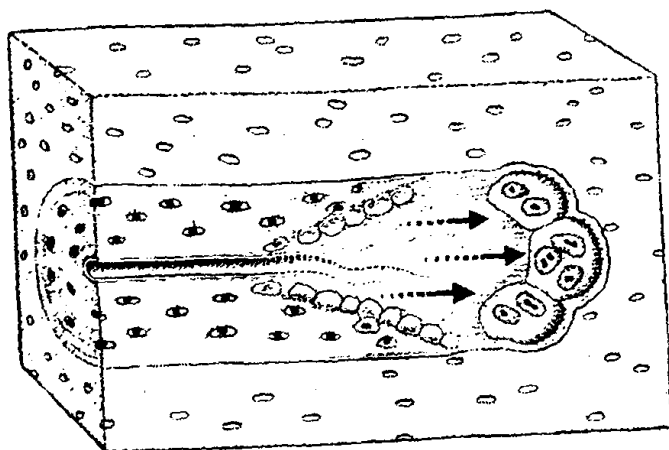
Παρά το γεγονός ότι τα τελευταία 25 χρόνια στον τομέα της Ορθοπαιδικής και με τη βοήθεια της ιατρικής τεχνολογίας έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος, ορισμένα κατάγματα αργούν να πωρωθούν και άλλα καταλήγουν σε ψευδάρθρωση. Εάν λάβουμε υπόψη ότι από τα 6.000.000 κατάγματα που καταγράφονται ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες ένα ποσοστό 5 με 10% αργούν να πωρωθούν ή ψευδαρθρώνονται, ο αριθμός αυτός ανέρχεται σε 300.000-600.000 κατάγματα ετησίως^{41,42}. Η ανάγκη επομένως για τη βαθύτερη κατανόηση της διαδικασίας της πώρωσης των καταγμάτων παραμένει, ώστε: α) να διασαφηνιστούν τα αίτια εκείνα που οδηγούν στην καθυστέρηση της πώρωσης ή στη δημιουργία ψευδάρθρωσης και β) να εξευρεθούν τρόποι για την προαγωγή και επιτάχυνση της πώρωσης των καταγμάτων.

Φυσιολογία της πώρωσης των καταγμάτων

Είναι γνωστό ότι η πώρωση των καταγμάτων, ανάλογα με τις μηχανικές συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή του κατάγματος, μπορεί να συμβεί με δύο τρόπους:

1. Πρωτογενής πώρωση (primary bone healing) η οποία επιτυγχάνεται, όταν μετά από χειρουργική επέμβαση, τα οστικά άκρα του κατάγματος βρίσκονται σε απόλυτη επαφή και συγκρατούνται σταθερά μεταξύ τους με συμπιεστική οστεοσύνθεση και διακαταγματική συμπίεση¹⁰⁶. Μόνο η οστεοσύνθεση με πλάκα και βίδες επιτρέπει τέτοιου είδους συνθήκες. Η πρωτογενής πώρωση, ιδιαίτερα μετά την έμφαση που δόθηκε στη βιολογική οστεοσύνθεση, είναι σπάνια.

Στην πρωτογενή πώρωση πρέπει ο φλοιός (πεταδιώδες οστόν) από τη μια πλευρά, να πωρωθεί με το φλοιό της απέναντι πλευράς. Έτσι, λοιπόν, οστεοκλάστες από την ίδια μεριά απορροφούν οστόν και προχωρούν κάθετα στην εστία του κατάγματος, δημιουργώντας κωνικά ρήγματα (cutting cones), τα οποία χρησιμεύουν σαν δίοδοι για τη διείσδυση νεόπλαστων αγγείων που



Εικόνα 1: Πρωτογενής πώρωση.
Σχηματικό διάγραμμα των κωνικών
ρηγμάτων (cutting cones) που
δημιουργούνται από τους οστεοκλάστες.

αργότερα μεταφέρουν ενδοθηλιακά και μεσεγχυματικά κύτταρα. Τα προαναφερθέντα κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοπρογονικά κύτταρα και τελικά σε οστεοβλάστες¹⁰⁶ (ΕΙΚΟΝΑ1).

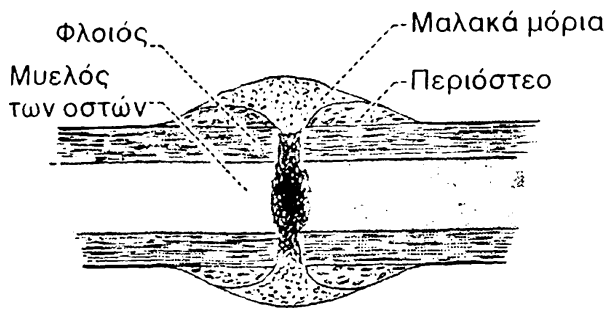
2. Δευτερογενής πώρωση (secondary bone healing), η οποία συμβαίνει όταν μετά από συντηρητική ή χειρουργική θεραπεία (ενδομυελική ήλωση, εξωτερική οστεοσύνθεση, οστεοσύνθεση με πλάκα γεφύρωσης), υπάρχει κάποιος βαθμός κίνησης στην εστία του κατάγματος.

Η συντριπτική πλειοψηφία των καταγμάτων σήμερα, πωρώνεται με δευτερογενή πώρωση και αυτό περιλαμβάνει ένα συνδυασμό ενδομεμβρανώδους και ενδοχόνδρινης οστεοποίησης.

Στο εξής, όταν θα αναφερόμαστε στις διαδικασίες της πώρωσης, θα εννοούμε τη δευτερογενή πώρωση. Υπάρχουν τουλάχιστον έξι στάδια στη διαδικασία της πώρωσης. Αυτά περιλαμβάνουν ένα αρχικό στάδιο δημιουργίας αιματώματος και φλεγμονής, ένα δεύτερο στάδιο δημιουργίας χόνδρου και αγγειογένεσης, στη συνέχεια τρία στάδια "επεξεργασίας" του χόνδρου (ασβεστοποίηση, απόπτωση και δημιουργία οστού) και τέλος, ένα μακροπρόθεσμο στάδιο ανακατασκευής (remodeling) του οστού⁴¹.

Τέσσερις διακριτικοί μακροσκοπικοί παράγοντες της περιοχής του κατάγματος συμβάλλουν στην πώρωση. Ο μυελός των οστών, ο φλοιός, το περίοστεο και τα γύρω μαλακά μόρια (Εικόνα 2). Ανάλογα με τον τύπο του κατάγματος, την εντόπιση και τη θεραπεία που ακολουθείται ένας ή περισσότεροι από τους παραπάνω παράγοντες μπορούν να δράσουν και να οδηγήσουν στο επιθυμητό αποτέλεσμα.

Υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών που αφορούν στην αντίδραση του μυελού των οστών στο κάταγμα. Μία από αυτές⁷² έχει δείξει ότι μέσα σε λίγες ώρες μετά το κάταγμα συμβαίνει καταστροφή της αρχιτεκτονικής του μυελού των οστών, καταστροφή των αγγείων στη γειτονική περιοχή και αναδιοργάνωση του κυτταρικού πληθυσμού σε περιοχές υψηλής και χαμηλής κυτταρικής πυκνότητας. Στις περιοχές υψηλής κυτταρικής πυκνότητας φαίνεται ότι συμβαίνει μια μετατροπή των



Εικόνα 2: Τα τέσσερα διαφορετικά είδη ιστών που συμμετέχουν στην πώρωση.

ενδοθηλιακών κυττάρων σε πολυμορφικά κύτταρα και αυτά τα κύτταρα 24 ώρες μετά το κάταγμα μετατρέπονται σε οστεοβλάστες και αρχίζουν να παράγουν οστούν.

Αν και ο McKibbin¹⁰⁶ συνιστά ότι η συμβολή του μυελού των οστών είναι μικρή, η προηγούμενη μελέτη⁷² αποδεικνύει ότι ο μυελός των οστών συμβάλλει στη δημιουργία οστού στις πρώτες φάσεις της πώρωσης. Οι δραστηριότητες του μυελού των οστών είναι βασικά ανεξάρτητες από τις μηχανικές συνθήκες.

Στην πρωτογενή πώρωση, ο φλοιός του οστού συμβάλλει με το μηχανισμό που αναπτύχθηκε παραπάνω.

Ίσως η πιο σημαντική αντίδραση είναι αυτή του περιοστέου. Εδώ, οστεοπρόδρομα κύτταρα της περιοχής και αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα, συμβάλλουν στην πώρωση σχηματίζοντας οστούν με ενδομεμβρανώδη και ενδοχόνδρινη οστεοποίηση. Το οστούν που σχηματίζεται με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση, βρίσκεται σχετικά μακριά από την εστία του κατάγματος και σχηματίζει τον λεγόμενο σκληρό πόρο (hard callus), ενώ το οστούν που σχηματίζεται με ενδοχόνδρινη οστεοποίηση βρίσκεται στην κεντρική περιοχή (εστία) του κατάγματος, όπου η πίεση του οξυγόνου (O_2) είναι χαμηλή και σχηματίζει τον λεγόμενο μαλακό πόρο (soft callus), που στην αρχή συνίσταται από χόνδρο και σταδιακά αντικαθίσταται από οστούν⁴¹.

Η αντίδραση του περιοστέου είναι κεφαλαιώδους σημασίας για την πώρωση του κατάγματος και φαίνεται ότι προάγεται με τις μικροκινήσεις στην εστία του κατάγματος και αναστέλλεται από την άκαμπτη (rigid) οστεοσύνθεση¹⁰⁶. Είναι γρήγορη, ικανή να γεφυρώνει κενά μέχρι το μισό της διαμέτρου του οστού και είναι ανεξάρτητη από τα γύρω μαλακά μόρια.

Η αντίδραση τέλος, των μαλακών μορίων είναι επίσης σημαντική και οδηγεί σε γρήγορη κυτταρική δραστηριότητα και το σχηματισμό ενός γεφυρωτικού πόρου που σταθεροποιεί τα οστικά άκρα. Η διαδικασία αυτή, συνδέεται ευθέως με τις μηχανικές συνθήκες και φαίνεται να μειώνεται με την υπερβολική κίνηση καθώς επίσης και την άκαμπτη οστεοσύνθεση. Είναι σημαντική πηγή προσφοράς αδιαφοροποίητων μεσεγχυματικών κυττάρων τα οποία σχηματίζουν οστούν με ενδοχόνδρινη οστεοποίηση και η προσφορά αυτή εξαρτάται άμεσα από το βαθμό του τραυματισμού που έχουν υποστεί τα μαλακά μόρια.

Κυτταρική και μοριακή βιολογία της πώρωσης των καταγμάτων

Πρόσφατες έρευνες έχουν αποδείξει ότι το αιμάτωμα που δημιουργείται μετά το κάταγμα, αποτελεί μια πηγή μορίων τα οποία εκλύονται από τα κύτταρα της περιοχής και έχουν την ικανότητα να διεγείρουν την έναρξη του "καταρράκτη" των κυτταρικών αντιδράσεων που είναι σημαντικές στην πορεία της πώρωσης⁸.

Τα φλεγμονώδη κύτταρα (μακροφάγα, μονοκύτταρα) απελευθερώνουν κυτοκίνες όπως η IL-1 που εκλύεται από τα μονοκύτταρα και έχει δράση όχι μόνο τοπική, αλλά και συστηματική⁶⁴. Η αύξηση της TKE και του πυρετού (μέσω του μεσεγκεφάλου) που συμβαίνει μερικές φορές μετά από κατάγματα σε μακρά οστά, είναι αποτέλεσμα δράσης της IL-1. Τοπικά, αυξάνει τα επίπεδα των προσταγλαδινών PGE₁, PGE₂ από τους παρακείμενους μυς³³. Η PGE₂ έχει μόνο οστεοαπορροφητικές ικανότητες in vitro⁹². Στο ζωντανό οστόν όμως, η απορρόφηση (σε μικρή έκταση) των νεκρών οστικών καταγματικών άκρων είναι η προϋπόθεση για τη δημιουργία νέου οστού^{48,52}. Άλλωστε το αρνητικό αποτέλεσμα στην οστεογένεση που έχει η χορήγηση ινδομεθακίνης^{19,43,90} (ισχυρός αναστολέας έκλυσης των προσταγλαδινών) είναι η καλύτερη απόδειξη ότι οι προσταγλαδίνες έχουν σαφώς θετική επίδραση στην πώρωση των καταγμάτων. Τα αιμοπετάλια του θρόμβου απελευθερώνουν ουσίες όπως η TGFβ, PDGF, aFGF, bFGF και BMP^{15,17,82,85} (βλ. πίνακα συντομογραφιών).

Πίνακας 1. Επεξήγηση συντομογραφιών

TGFβ	Transforming growth factor-beta (αυξητικός παράγων μετατροπής-βήτα)
PDGF	Platelet derived growth factor (παράγων ανάπτυξης αιμοπεταλίων)
FGF	Fibroblast growth factor (παράγων ανάπτυξης ινοβλαστών)
BMP	Bone morphogenic proteins (οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες)

Αυτές οι ουσίες είναι γνωστές με τον όρο "μοριακοί διαμεσολαβητές" (modolecular mediators) και είναι αυτές που ευθύνονται για τα βήματα της επαγωγής (induction) του κατάγματος. Αυτή η διαδικασία της επαγωγής περιλαμβάνει μια συνεχή αλυσίδα αντιδράσεων (φαινόμενο καταρράκτη) που είναι υπεύθυνες για την χημειοταξία, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των αδιαφοροποίητων πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων (pluripotent mesenchymal cells)^{129,131,132}. Η μέγιστη συγκέντρωση και ο πολλαπλασιασμός των μεσεγχυματικών κυττάρων, όπως έχει αποδειχθεί από μελέτες που χρησιμοποιούν ραδιοσημασμένο DNA, συμβαίνει την 3η ημέρα μετά το κάταγμα¹²⁹. Ταυτόχρονα, στο ίδιο διάστημα, όπως απέδειξαν οι Yang και Jin¹⁶⁵ ανιχνεύονται στην εστία του κατάγματος οι B.M.P. (με τεχνικές αντισωμάτων έναντι των B.M.P.).

Η επίδραση των "μοριακών διαμεσολαβητών" από εδώ και πέρα είναι σημαντική

στη διαφοροποίηση των προγονικών μεσεγγυματικών κυττάρων και είναι το πρώτο βήμα στη δημιουργία χόνδρου και τελικά οστού που είναι και το επιθυμητό αποτέλεσμα. Οποιαδήποτε αποτυχία στη διαδικασία αυτή, θα οδηγήσει σε μη δημιουργία οστού και τελικά στο σχηματισμό ψευδάρθρωσης.

Τα πρώτα σημάδια διαφοροποίησης των αρχέγονων κυττάρων είναι εμφανή την 5η ημέρα μετά το κάταγμα, ενώ ο πολλαπλασιασμός φθάνει στο μέγιστο την 8η ημέρα^{129, 130}.

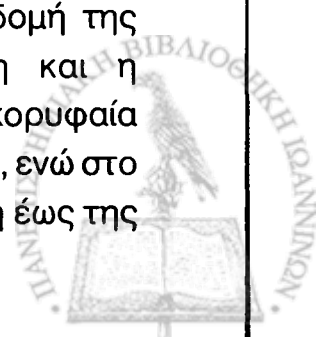
Ο McKibbin¹⁰⁶ έχει περιγράψει ένα μοντέλο δημιουργίας πώρου από δυο πηγές κυττάρων: η μία δημιουργεί οστούς με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση από κύτταρα που εδρεύουν στο περιόστεο (DOPC-determined osteoprogenitor cells) (σκληρός πώρος) και η άλλη δημιουργεί οστούς με ενδοχόνδρινη οστεοποίηση από κύτταρα που εδρεύουν σε μυελό, περιόστεο και μαλακά μόρια (IOPC-inducible osteoprogenitor cells) (μαλακός πώρος). Το οστούς που θα σχηματισθεί δια της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης είναι αυτό που θα γεφυρώσει τελικά το κάταγμα και όχι αυτό που σχηματίζεται από την αρχική αντίδραση του περιοστέου (σκληρός πώρος), που σχηματίζει τα όρια πάνω στα οποία θα πορευθεί ο μαλακός πώρος ενώ παράλληλα, προσφέρει και μια αρχική μηχανική συγκράτηση.

Στην πλευρά του μαλακού πώρου η διαφοροποίηση των μεσεγγυματικών κυττάρων σε χονδροβλάστες, είναι όπως προαναφέρθηκε εμφανής την 5η ημέρα ενώ ο πολλαπλασιασμός τους είναι έντονος από την 7η ως 14η ημέρα και σταματά βαθμιαίως πριν την 28η ημέρα⁹⁶. Αντίθετα στον σκληρό πώρο ο πολλαπλασιασμός είναι έντονος μεταξύ 3ης και 7ης ημέρας και σταματά πριν από την 14η ημέρα.

Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν από τους Iwaki και συν⁷⁹, και δείχνουν ότι οι διαδικασίες πολλαπλασιασμού των μεσεγγυματικών κυττάρων αρχίζουν σχεδόν ταυτόχρονα το σκληρό και μαλακό πώρο αλλά διαρκούν πολύ περισσότερο στο μαλακό πώρο.

Όσον αφορά στη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας, αυτή αλλάζει σταδιακά με την πρόοδο της πώρωσης. Στην αρχή ανιχνεύεται κολλαγόνο τύπου V και XI (ήσσονος σημασίας), η παρουσία των οποίων όμως όπως έχει προταθεί, είναι σημαντική επειδή ρυθμίζουν την παραγωγή και τον προσανατολισμό του κολλαγόνου I και II^{14, 107}. Μετά την 5η ημέρα αρχίζει η παραγωγή κολλαγόνου II με κορυφή την 9η ημέρα, παύει όμως να παράγεται μετά την 14η ημέρα. Η αύξηση αυτή του κολλαγόνου II συμπίπτει με την παρουσία της aggrecan (ουσίας που προκαλεί συμπλοκοποίηση και σύνδεση των κολλαγόνων ινιδίων)^{71, 83, 144}.

Από τις άλλες μη κολλαγονικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη δομή της εξωκυττάριας ουσίας, καλύτερα έχουν μελετηθεί η οστεονεκτίνη και η οστεοκαλσίνη. Οι Jíngushí και συν.⁸³ στη μελέτη τους παρατήρησαν ότι η κορυφαία συγκέντρωση της οστεονεκτίνης στο μαλακό πώρο συμβαίνει την 9η ημέρα, ενώ στο σκληρό πώρο υπάρχει μια παρατεταμένη υψηλή συγκέντρωση από την 9η έως της



15η ημέρα. Επειδή η παρουσία της οστεονεκτίνης είναι έντονη στο σκληρό και μαλακό πόρο, πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της πώρωσης. Η οστεοκαλσίνη, μια πρωτεΐνη που παράγεται από οστεοβλάστες, δεν ανιχνεύεται στο μαλακό πόρο παρά μόνο στο σκληρό μεταξύ 9ης και 11ης ημέρας.

Μετά από δύο εβδομάδες, ο πολλαπλασιασμός των χονδροκυττάρων μειώνεται με αποτέλεσμα να κυριαρχούν στην περιοχή του πόρου τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα. Από αυτό το σημείο και πέρα αρχίζει η προετοιμασία της εξωκυτταρικής ουσίας για τη μετάλλωσή της. Έρευνες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα (και αργότερα οι οστεοβλάστες) περιέχουν στη μεμβράνη τους κυστικά σωματίδια, τα οποία απελευθερώνουν στην εξωκυττάρια ουσία⁷⁰. Αυτά τα σωματίδια μεταφέρουν ουδέτερες πρωτεάσες και αλκαλική φωσφατάση, ένζυμα τα οποία ελαττώνουν τις πρωτεογλυκίνες στην εξωκυτταρική ουσία και την προετοιμάζουν για τη μετάλλωσή της. Πράγματι η συγκέντρωση της αλκαλικής φωσφατάσης, παρουσιάζει την κορυφαία συγκέντρωση την 17η μέρα μετά το κάταγμα ενώ παράλληλα, τα κύτταρα του πόρου αρχίζουν να παράγουν κολλαγόνο τύπου I (βασικό δομικό στοιχείο του οστίτη ιστού) τα οποία διατάσσονται αφήνοντας μεταξύ τους διαστήματα (hole zones) για την εναπόθεση των αλάτων ασβεστίου³⁹. Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα τα οποία περικλείονται από ασβεστοποιημένη εξωκυττάρια ουσία υφίστανται σ' αυτό το στάδιο, όπως έχει προταθεί από τους Lee και συν.⁹⁶, έναν προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) σύμφωνα με ιστολογικές μελέτες (κυτταροπλασματική εκφύλιση) και αντικαθίστανται από οστεοβλάστες.

Από τη στιγμή που γίνεται η ασβεστοποίηση των χόνδρινων υπερτροφικών κυττάρων, ο πόρος γίνεται στόχος για την ανάπτυξη αγγείων τα οποία φέρνουν στην περιοχή προγονικά κύτταρα (προοστεοβλάστες) που αντικαθιστούν τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα και η διαδικασία πλέον συνεχίζεται απρόσκοπτα με τη μετάλλωση και τη μετατροπή του άναρχου (woven) οστού σε πεταλιώδες οστόν (lamellar bone).

Το τελευταίο στάδιο είναι αυτό της ανακατασκευής (remodelling) του οστού, το οποίο είναι το πιο χρονοβόρο (70% του συνολικού χρόνου) και διαρκεί δύο χρόνια μετά τη λεγόμενη κλινική και ακτινολογική πώρωση.

Μηχανικό περιβάλλον και πώρωση

Είναι γνωστό ότι οι μηχανικές συνθήκες στην περιοχή του κατάγματος επηρεάζουν τα μέγιστα την πορεία της πώρωσης. Επίσης είναι αποδεκτό ότι η ελαστική οστεοσύνθεση οδηγεί σε δευτερογενή πώρωση, η οποία περνά από διάφορα στάδια (βλ. Φυσιολογία της πώρωσης).

Οι μελέτες του Sarmiento¹⁴⁶ απέδειξαν ότι η ελεγχόμενη φόρτιση έχει θετικό αποτέλεσμα στην πορεία της πώρωσης. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε πολλούς ερευνητές στη διεξαγωγή πειραμάτων, ώστε να διαπιστωθεί πώς και υπό ποιές

συνθήκες το μηχανικό περιβάλλον επηρεάζει την πώρωση ενός κατάγματος. Γενικά μια άκαμπτη οστεοσύνθεση ελαχιστοποιεί τη διακαταγματική κίνηση (interfracture motion) και προκαλεί μικρότερο ερεθισμό του πώρου¹²¹, ενώ μια πιο ελαστική οστεοσύνθεση οδηγεί σε προαγωγή της πώρωσης μέσω του μεγαλύτερου μηχανικού ερεθισμού που προκαλεί^{22,58}. Ένας άλλος σημαντικός μηχανικός παράγοντας όπως περιγράφεται σε μια άλλη μελέτη, είναι το μέγεθος του κενού μεταξύ των δύο καταγματικών άκρων (fracture gap)²⁰. Ενώ μικρά οστικά κενά είναι ωφέλιμα για γρήγορη και ασφαλή πώρωση, μεγαλύτερα κενά έχουν αρνητικό αποτέλεσμα.

Ποιοί όμως είναι οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων δρα το μηχανικό περιβάλλον αρνητικά ή θετικά στην πορεία της πώρωσης; Ποιές είναι οι ιδεώδεις μηχανικές συνθήκες κάτω από τις οποίες ευοδώνεται η πώρωση;

Σ' αυτά τα ερωτήματα καλείται να απαντήσει η επιστήμη που ονομάζεται Μηχανοβιολογία (mechanobiology).

Μηχανοβιολογία είναι εκείνη η επιστήμη που μελετά πώς οι μηχανικές ή φυσικές συνθήκες επηρεάζουν τις βιολογικές διαδικασίες. Οι συνθήκες του μηχανικού περιβάλλοντος επηρεάζουν τα όργανα, τους ιστούς, τα κύτταρα και τα μόρια. Για παράδειγμα στην περίπτωση ενός κατάγματος μπορεί να λεχθεί ότι η αστάθεια σε επίπεδο οργάνου (οστού) οδηγεί σε ψευδάρθρωση, σε επίπεδο ιστού οδηγεί σε αυξημένη τάση στην περιοχή με αποτέλεσμα αδυναμία διαφοροποίησης του χόνδρινου ιστού σε οστίτη ιστό και σε κυτταρικό επίπεδο σε αλλαγή του σχήματος και της πίεσης των κυττάρων. Σε μοριακό επίπεδο η αλλαγή αυτή του σχήματος των κυττάρων, λόγω της αλλοίωσης των κυτταρικών οργανυλίων, οδηγεί σε παραγωγή π.χ. μιας πρωτεΐνης, η οποία στην κλινική πράξη οδηγεί σε ψευδάρθρωση¹⁶.

Πολλές προσπάθειες έχουν γίνει, ώστε να συσχετισθούν τα είδη των δυνάμεων (μηχανικά φορτία) και η βιολογική ανταπόκριση στα πρώιμα στάδια της διαδικασίας της πώρωσης ως προς το είδος του ιστού που παράγεται (16) (Πίνακας 2). Γενικά, μπορεί να λεχθεί ότι στα αρχικά στάδια της πώρωσης η χαμηλή πίεση οξυγόνου και οι διακοπτόμενες (μη συνεχείς) συμπιεστικές δυνάμεις έχουν θετικό αποτέλεσμα στη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χονδροβλάστες ενώ η υψηλή πίεση οξυγόνου και οι διατμητικές δυνάμεις οδηγούν σε δημιουργία ινώδους ιστού⁴.



Σχέση μεταξύ μηχανικού φορτίου και σχηματισμού οστού

Μη συνεχείς συμπιεστικές δυνάμεις	→	Ενδοχόνδρινη οστεοποίηση
Ελκτικές δυνάμεις	→	Ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση
Συνεχείς συμπιεστικές δυνάμεις	→	Σχηματισμός χόνδρου
Διατμητικές δυνάμεις	→	Σχηματισμός ινώδους ιστού

Εικόνα 3: Είδη ιστού που παράγονται ανάλογα με τον τύπο των μηχανικών φορτίων.

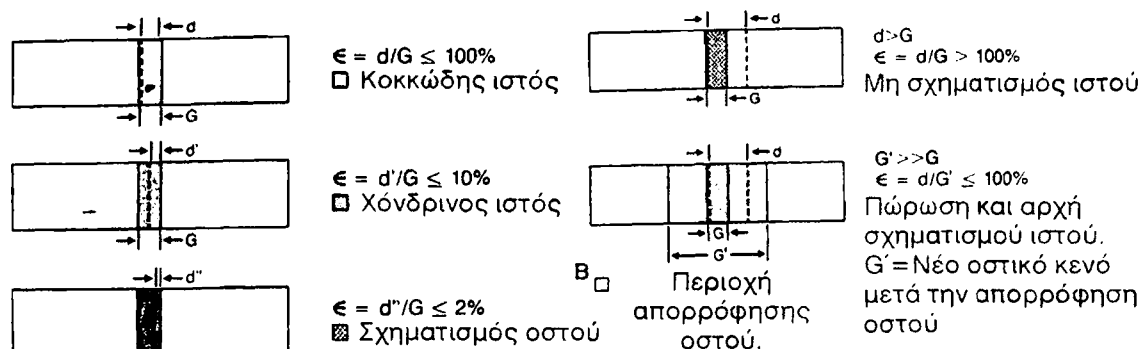
Δυστυχώς όλες αυτές οι θεωρίες δεν μπορούν να συσχετισθούν με την ακριβή κυτταρική δραστηριότητα. Χωρίς μια βαθύτερη κατανόηση της επίδρασης του μηχανικού περιβάλλοντος στον κυτταρικό μηχανισμό και πώς αυτός ανταποκρίνεται στην παραγωγή μοριακών διαμεσολαβητών ή άλλων μορίων που οδηγούν ή επιταχύνουν την πώρωση, θα είναι πολύ δύσκολο να εκμεταλλευόμαστε πάντα τις θετικές επιδράσεις των μηχανικών παραγόντων.

Έτσι λοιπόν, οι περισσότερες γνώσεις μας σήμερα προέρχονται από πειραματικές και κλινικές μελέτες οι οποίες προσπαθούν να εξακριβώσουν εμπειρικά το ωφέλιμο μηχανικό περιβάλλον για τη χωρίς διακοπή επιτάχυνση της διαδικασίας της πώρωσης ώστε να δώσουν απάντηση στο δεύτερο ερώτημα. Μια τέτοια βασική μελέτη έγινε από τον Perren το 1979 και ονομάστηκε θεωρία της ενδοκαταγματικής πίεσης (IFS= interfragmentary strain)¹²². Ως ενδοκαταγματική πίεση ορίζεται το πηλίκο της κίνησης των καταγματικών άκρων προς την απόσταση (gap) των καταγματικών άκρων και προβλέπει ότι η πώρωση συντελείται, όταν αυτό το πηλίκο είναι λιγότερο (σε ποσοστιαία έκφραση) του 2%. (Εικόνα 4) Παρόλα αυτά διάφορες μελέτες απέδειξαν ότι και με μεγαλύτερες ενδοκαταγματικές πιέσεις τα αποτελέσματα είναι καλά^{22,38}.

Η θεωρία της ενδοκαταγματικής πίεσης αναφέρεται μόνο σε αξονικές φορτίσεις στον επιμήκη άξονα, χωρίς να λαμβάνει υπόψη την τρισδιάστατη έννοια της κίνησης των καταγματικών άκρων, όπως επίσης και το μήκος του κενού του κατάγματος.

Αν και μια τέτοια θεώρηση απλοποιεί τα πράγματα, η βασική ιδέα ότι το μηχανικό περιβάλλον αποτελεί πρωταρχικό παράγοντα στη διαφοροποίηση των ιστών και στην πορεία της πώρωσης, χρησιμοποιήθηκε για πιο εκτεταμένες έρευνες.

Οι Claes και συν.²¹ σε μία πειραματική μελέτη (οστεοτομία μεταταρσίου σε ώριμα πρόβατα) βρήκαν με ιστολογική εξέταση και ανάλυση με πεπερασμένα στοιχεία ότι οι καλύτερες συνθήκες ήταν, όταν η ενδοκαταγματική πίεση ήταν 4% και το οστικό κενό 2mm. Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν και από άλλες μελέτες^{31,38,143} οι οποίες βρήκαν ότι ο προσανατολισμός και η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων στην περιοχή του κατάγματος είναι δοσοεξαρτώμενα φαινόμενα και ότι όταν η ενδοκαταγματική πίεση



Εικόνα 4: Η θεωρία της ενδοκαταγματικής πίεσης του Pereh¹²². (Α) Μετασχηματισμός του ιστού όταν η κίνηση των οστικών άκρων είναι μικρότερη από το σύνολο του καταγματικού κενού. (Β) Μετασχηματισμός του ιστού όταν η κίνηση των οστικών άκρων είναι μεγαλύτερη από το σύνολο του καταγματικού κενού. (C) Η ίδια θεωρία μετασχηματισμού ιστού σε συνθήκες εξωτερικής οστεοσύνθεσης. G = καταγματικό κενό. d, d', d'' = κίνηση καταγματικού κενού.

ϵ = ενδοκαταγματική πίεση.

ξεπερνά το 4% η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων ελαττώνεται, όπως επίσης και η συγκέντρωσή τους, πράγμα που σημαίνει ότι αυτές οι συνθήκες δεν είναι κατάλληλες για οστεοβλαστική δραστηριότητα. Οι Goodship και συν.⁵⁷ προσπαθώντας να απαντήσουν στο ερώτημα ποιός είναι ο κατάλληλος ρυθμός εφαρμογής της ενδοκαταγματικής πίεσης, βρήκαν (πειραματική μελέτη σε πρόβατα) ότι η άμεση και σε υψηλούς ρυθμούς (40mm/sec) εφαρμογή της ενδοκαταγματικής πίεσης είχε τα καλύτερα αποτελέσματα. Αντίθετα, όταν η ίδια ενδοκαταγματική πίεση εφαρμοζόταν εβδομάδες μετά ή άμεσα σε χαμηλούς ρυθμούς (2mm/sec), τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά. Σε ορισμένες δε περιπτώσεις παρατηρήθηκε μη επίτευξη της πώρωσης.

Είναι κατανοητό από τα παραπάνω, ότι το μηχανικό περιβάλλον μπορεί να επηρεάσει την πώρωση με πολλούς τρόπους και δεν υπάρχει σαφής απόδειξη ποιος δρόμος μηχανικής παρέμβασης είναι ο καλύτερος. Αυτό μπορεί να γίνει μόνο όταν κατανοηθούν πλήρως οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ εμβιομηχανικής και βιολογίας με πειράματα που θα χρησιμοποιήσουν γενετικές τεχνικές, ώστε η ανάλυση του DNA να δείξει τις μεταβολές που συμβαίνουν σε κυτταρικό επίπεδο.

Παθοφυσιολογία καθυστερημένης πώρωσης και ψευδάρθρωσης

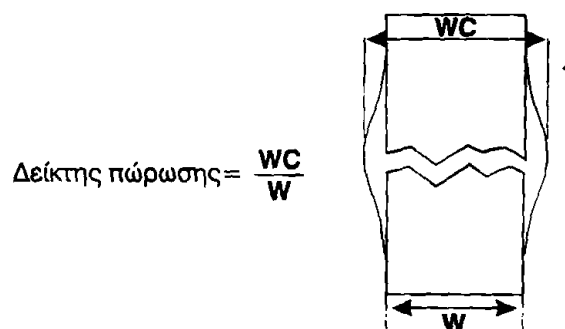
Το ποσοστό των καταγμάτων που οδηγείται σε καθυστερημένη πώρωση και ψευδάρθρωση υπολογίζεται σε 5-10%^{4, 14}. Οι επιβαρυντικοί παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν σε ψευδάρθρωση είναι πολλοί και η ανάλυσή τους ξεφεύγει από τα πλαίσια του παρόντος πονήματος. Αναφορικά μπορούμε να πούμε ότι σ' αυτούς περιλαμβάνονται: μεγάλη ηλικία, κακή διατροφή, υψηλής ενέργειας κάταγμα με συνοδές βλάβες των μαλακών μορίων, θέση και είδος του κατάγματος, χρήση αντιφλεγμονωδών και κορτικοειδών φαρμάκων, το κάπνισμα κ.ά.

Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου είναι η κατανόηση των δυσκολιών ως προς τον ορισμό της ψευδάρθρωσης και της καθυστερημένης πώρωσης και της έγκαιρης αναγνώρισης και αντιμετώπισης αυτών.

Οι προσπάθειες των ερευνητών σήμερα κατευθύνονται, τόσο στη θεραπεία της εγκατεστημένης ψευδάρθρωσης όσο και στην αναγνώριση εκείνων των καταγμάτων που θα οδηγήσουν σε ψευδάρθρωση ή καθυστερημένη πώρωση, ώστε οι θεραπευτικές παρεμβάσεις να γίνουν σε πρώιμο στάδιο με απώτερο στόχο την όσο το δυνατόν ταχύτερη επανένταξη του ασθενούς στις δραστηριότητές του. Δυστυχώς, σήμερα δεν υπάρχει ακριβής ορισμός της ψευδάρθρωσης με την έννοια του χρόνου που απαιτείται για την πώρωση του κάθε κατάγματος.

Προκύπτει λοιπόν, η ανάγκη για αντικειμενικά κριτήρια είτε ιστολογικά, είτε ακτινολογικά, είτε εμβιομηχανικά που θα καθορίζουν την πώρωση ώστε ο κλινικός γιατρός να μπορεί εύκολα να πάρει την απόφαση π.χ. για την αφαίρεση της εξωτερικής οστεοσύνθεσης σε ένα κάταγμα κνήμης. Οι Ohi και συν.¹⁵ βρήκαν ότι ένα τέτοιο ακτινολογικό κριτήριο σε κατάγματα κνήμης ήταν ο δείκτης πώρωσης, (Εικόνα 5) ο οποίος στις 10 εβδομάδες συσχετιζόταν ισχυρά με την ακαμψία (stiffness) που θα αποκτούσε το οστόν στη συνέχεια και κατ' επέκταση την πορεία που θα ακολουθούσε (πώρωση ή ψευδάρθρωση). Από ιστολογικής άποψης στη φυσιολογική πορεία της πώρωσης η παρουσία χονδροκυττάρων και η παραγωγή κολλαγόνου ακολουθούν μια ανιούσα πορεία με κορύφωση στις 3 εβδομάδες και στη συνέχεια αρχίζει η μετάλλωση του οστού. Στις ψευδαρθρώσεις φαίνεται ότι η παραγωγή κολλαγόνου παρατείνεται για 7 εβδομάδες(58) και μετά σταθεροποιείται σε χαμηλότερους ρυθμούς^{6, 9}. Η έντονη παρουσία χονδροκυττάρων και κολλαγόνου στην περιοχή του κατάγματος 12 εβδομάδες μετά σημαίνει ότι η κατάσταση είναι μη αναστρέψιμη (με τις κρατούσες συνθήκες).

Η καλύτερη αξιολόγηση όμως, φαίνεται ότι προκύπτει από την εμβιομηχανική



Εικόνα 5: Υπολογισμός του δείκτη πώρωσης. WC=πλάτος του οστού και του πώρου μαζί. W=πλάτος μόνο του οστού.

ανάλυση. Ο Marsh¹¹ σε μια σειρά 45 καταγμάτων κνήμης βρήκε ότι αυτά τα κατάγματα που στις 10 εβδομάδες είχαν επίπεδο ακαμψίας τουλάχιστον 7N-m per degree πωρώνονταν χωρίς προβλήματα. Αυτά που φθάνουν σ' αυτό το επίπεδο στις 20 εβδομάδες είχαν μια πορεία καθυστερημένης πώρωσης, ενώ αυτά που δεν αποκτούσαν αυτό το επίπεδο (7N-m per degree) στις 20 εβδομάδες κατέληγαν σε ψευδάρθρωση. Στην ίδια μελέτη επίσης φάνηκε ότι ο δείκτης πώρωσης (βλ. παραπάνω) συνδεόταν ισχυρά με το αποτέλεσμα.

Η φύση έχει εφοδιάσει τον οργανισμό με πολλές δυνατότητες για την πώρωση των καταγμάτων. Απ' αυτές το περιοσότεο φαίνεται ότι είναι η πιο σημαντική και όταν διατηρείται η πώρωση είναι γρήγορη. Όταν αποκολλάται μερικώς, αλλά διατηρείται η ενδομυελική αιμάτωση, η πώρωση (συνεπικουρούμενη και από την ενδοοστική παραόμετρο) είναι πάλι το σύνηθες αποτέλεσμα.

Όταν το περιοσότεο έχει αποκολληθεί σε μεγάλη έκταση, η ενδομυελική αιμάτωση είναι η σημαντικότερη παράμετρος για την πορεία του κατάγματος. Η καθυστερημένη πώρωση δια της ενδοοστικής οδού είναι τότε το σύνηθες αποτέλεσμα και αυτός είναι ο λόγος που πολλά κατάγματα πωρώνονται τελικά με καθυστέρηση, εάν παραμείνουν επί μακρόν σε γύψο¹². Σ' αυτήν την περίπτωση η τοποθέτηση ενός σπογγώδους αυτομοσχεύματος θα επιταχύνει την πώρωση, αλλά αυτή μπορεί να συμβεί και χωρίς αυτή την παρέμβαση.

Όταν κάθε αντίδραση από το περιοσότεο έχει σταματήσει και η ενδομυελική αιμάτωση δεν υφίσταται, τότε η κατάσταση οδηγείται σε ψευδάρθρωση. Εάν προηγήθηκε μία περίοδος κατά την οποία το περιοσότεο προσπάθησε ανεπιτυχώς να γεφυρώσει το οστικό κενό, τότε η μορφολογία της ψευδάρθρωσης είναι υπερτροφική, ενώ αν καμία τέτοια περίοδος δεν υπήρξε, η ψευδάρθρωση ταξινομείται ως ατροφική.

ΔΙΑΤΑΤΙΚΗ ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ

Διατατική οστεογένεση ονομάζεται το βιολογικό φαινόμενο της διαδικασίας παραγωγής νέου οστού από δυο άκρα οστικών επιφανειών, οι οποίες σταδιακά απομακρύνονται η μία από την άλλη.

Η πρακτική εφαρμογή του φαινομένου βρίσκεται σήμερα θέση στην διόρθωση της ανισοσκελίας, στην πλήρωση οστικών ελλειμμάτων μετά από τραυματισμό ή εκτομή όγκου, στην επιμήκυνση κολοβωμάτων για εφαρμογή προθέσεων και στην αύξηση του ύψους σε σπονδυλοπλαστικούς νάνους¹³.

Ο ερευνητής που τεκμηρίωσε και θεμελίωσε τις αρχές της διατατικής οστεογένεσης ήταν ο G. Ilizarov από το Kurgan της Σιβηρίας, την δεκαετία 1950-1960, μετά από μια σειρά πειραμάτων σε 800 σκυλιά. Ο Ilizarov επινόησε μια κυκλική συσκευή εξωτερικής οστεοσύνθεσης με μεταλλικές διοστικές βελόνες στις οποίες

εφαρμόζεται τάση, ενώ ταυτόχρονα, έχει την δυνατότητα διόρθωσης σε πολλά επίπεδα.

Η διατατική οστεογένεση διέπεται από τον νόμο της "διατατικής καταπόνησης" (the tension-stress effect) σύμφωνα με τον οποίο, όταν οι ιστοί υποβάλλονται σε αργή και σταθερή έλξη, ενεργοποιούνται μεταβολικά διεγείροντας τις βιοσυνθετικές και πολλαπλασιαστικές κυτταρικές λειτουργίες τους. Αυτές οι αναγεννητικές λειτουργίες εξαρτώνται από την επάρκεια της αιματικής ροής στους ιστούς και τον ερεθισμό της φόρτισης του σωματικού βάρους^{7 4 7 5}

Εκτός αυτού η ποιότητα και η ποσότητα του παραγόμενου οστού εξαρτάται από τους εξής παράγοντες:

1. Τη σταθερότητα της οστεοσύνθεσης των οστικών τμημάτων
2. Το βαθμό καταστροφής (την στιγμή της οστεοτομίας) του μυελού των οστών, του περιοστέου και της τροφοφόρου αρτηρίας
3. Την ταχύτητα διάτασης (mm/day)
4. Το ρυθμό (συχνότητα) της διάτασης

Βιολογία της διατατικής οστεογένεσης

Στο μέσον της αναγεννώμενης περιοχής εντοπίζεται η ζώνη ανάπτυξης. Σ' αυτή τη ζώνη προκαλείται ενεργός οστεογένεση κατά την διάρκεια της επιμήκυνσης. Η ζώνη επιμήκυνσης οστεοποιείται σταδιακά κατά την διάρκεια της φάσης σταθεροποίησης του πώρου, μετά την περίοδο της επιμήκυνσης.

Υπό την επίδραση της διατατικής καταπόνησης, ινοβλάστες της ζώνης ανάπτυξης, παράγουν ίνες κολλαγόνου οι οποίες προσανατολίζονται παράλληλα με την φορά της τάσεως. Πάνω σ' αυτές τις ίνες κολλαγόνου εναποτίθεται οστεοειδές από τους ινοβλάστες. Το οστεοειδές αναμιγνύεται σταδιακά, με νεοσχηματιζόμενες οστικές δοκίδες στις περιοχές που βρίσκονται κοντά στα άκρα της κορτικοτομής και μακριά από την κεντρική ζώνη ανάπτυξης^{7 4}.

Οι ινοβλάστες που εντοπίζονται στο μέσον της ζώνης ανάπτυξης έχουν επίμηκες σχήμα και προσανατολίζονται κατά μήκος της φοράς της διάτασης. Αυτά τα κύτταρα χαρακτηρίζονται από υπερπλασία του κοκκώδους ενδοπλασματικού δικτύου και των πυρηνίσκων των πυρήνων, τυπικά σημάδια υψηλής βιοσυνθετικής δραστηριότητας (Εικόνα 6).

Η οστεογένεση, υπό την επίδραση της διατατικής καταπόνησης και με την παρουσία σταθερής εξωτερικής οστεοσύνθεσης, προχωρεί με τον συντομότερο δρόμο της ενδομεμβρανώδους οστεοποίησης, παραλείποντας την χόνδρινη φάση, χαρακτηριστική της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης^{7 5}.

Οι οστεοβλάστες που παράγουν οστεοειδές, βρίσκονται υπό μορφή αλύσεων κατά μήκος των ινών κολλαγόνου σχηματίζοντας τον σκελετό για την κατασκευή των

οστικών δοκίδων. Αυτοί οι οστεοβλάστες χαρακτηρίζονται από αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των μιτοχονδρίων και πάχυνση του ενδοπλασματικού δικτύου και από μεγάλες συγκεντρώσεις ριβοσωματίων, ενδείξεις και αυτές αυξημένης μεταβολικής δραστηριότητας και πρωτεϊνοσύνθεσης^{7, 4}.

Ιστοχημικές μελέτες στη ζώνη ανάπτυξης ανέδειξαν επίσης την υψήλη οστεογενετική δραστηριότητα της περιοχής. Η αλκαλική φωσφατάση η οποία συντίθεται από τους ινοβλάστες και παίρνει μέρος στην επιμετάλλωση του κολλαγόνου, αυξάνεται σημαντικά κατά την διάρκεια της διάτασης. Το ίδιο συμβαίνει με το πυρουβικό και το γαλακτικό οξύ, οι συγκεντρώσεις των οποίων αυξάνονται κατά την διάρκεια της διάτασης, αποδεικνύοντας έτσι τις αυξημένες βιοσυνθετικές λειτουργίες των κυττάρων^{7, 5}.

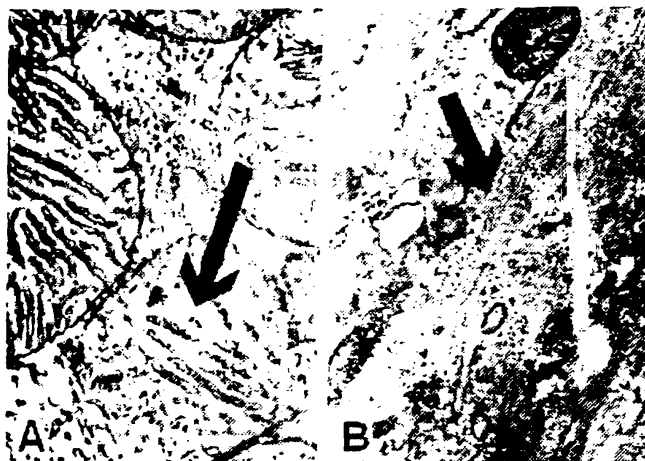
Την 7^η ημέρα της διάτασης, ένα αγγειοινώδες πλέγμα γεφυρώνει το κενό στην εστία της επιμήκυνσης. Σ' αυτή τη χρονική περίοδο δεν υπάρχουν ενδείξεις μετάλλωσης (εναπόθεση αλάτων ασβεστίου) στην οστεογενετική περιοχή.

Την 14^η ημέρα της διάτασης, παρατηρείται για πρώτη φορά νέο οστόν, στα δύο άκρα της κορτικοτομής.

Την 21^η ημέρα της διάτασης, το νέο οστόν έχει διαφοροποιηθεί σε μικροκολώνες με μέγιστη διάμετρο 200 μικρά (Εικόνα 7). Στο κεντρικό τμήμα της οστεογενετικής περιοχής παραμένει μια ενδιάμεση ζώνη ινώδους ιστού, η οποία περιέχει ίχνη ασβεστίου από μη κρυσταλλοποιημένο υδροξυαπατίτη. Αυτή η ενδιάμεση ζώνη παραμένει σταθερή σε μήκος σε όλη την διάρκεια της επιμήκυνσης και είναι της τάξεως των 2-3 mm^{7, 4, 7, 5}.

Την 77^η μετεγχειρητική ημέρα στην οστεογενετική περιοχή έχει γίνει ανακατασκευή και ακτινολογικά παρατηρείται παραγωγή νέου φλοιού.

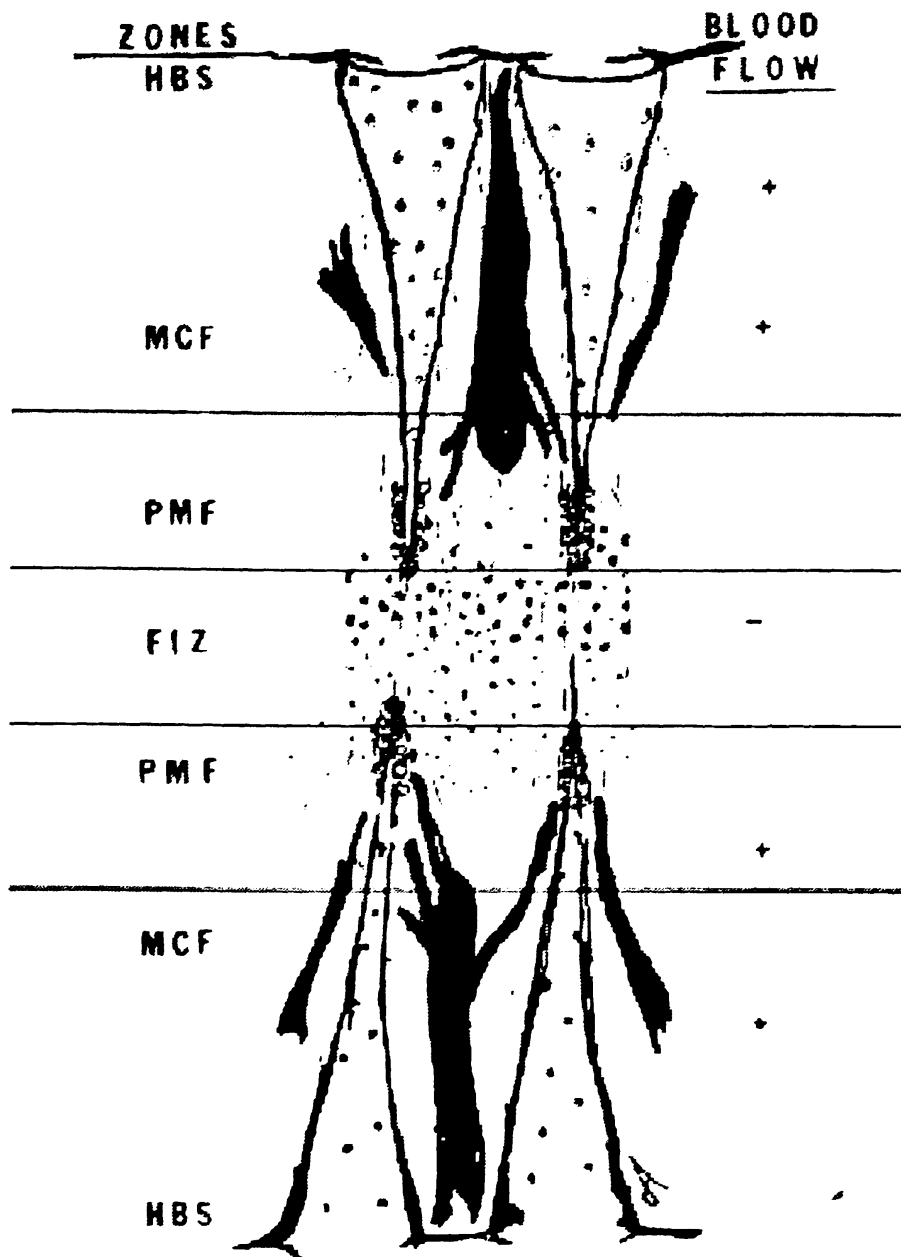
Με βάση ιστολογικές, αγγειακές και ακτινολογικές μελέτες, προτάθηκε ένα μοντέλο της



Εικόνα 6: Δομή ενός ινοβλάστη στη ζώνη διατάσεως. (Α) Υπερπλασία του κοκκώδους ενδοπλασματικού δικτύου (βέλος). (Β) Υπερπλασία μιτοχονδρίων (βέλος).



Εικόνα 7: 21^η ημέρα της διάτασης. Σχηματισμός μικροκολωνών με διάμετρο 200μ.



Εικόνα 8: Μοντέλο διατακτικής οστεογένεσης. Οι διάφορες ζώνες όπως εμφανίζονται ιστολογικά. Η κεντρική ζώνη (FIZ) μήκους 2mm η οποία είναι ακτινοδιαπερατή στις ακτινογραφίες. Η ζώνη επιμετάλλωσης (PMF) χαρακτηρίζεται από αύξηση της πυκνότητας 10-15% σε σχέση με την κεντρική ζώνη. Η ζώνη παραγωγής οστικών μικροκολωνών (MCF) έχει υψηλή αγγείωση (μαύρο) με πυκνότητα 75% σε σχέση με τον οστέινο φλοιό (HBS).

περιοχής της διάτασης (ΕΙΚΟΝΑ 8).

Η μετάλλωση του οστού αυξάνεται προοδευτικά από το κέντρο προς τα δύο άκρα της κορτικοτομής. Όταν οι μηχανικές συνθήκες είναι σταθερές, η ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση προχωρεί απρόσκοπτα καταλαμβάνοντας τελικά και την ζώνη ανάπτυξης.

Αλλαγές παρόμοιες με αυτές που έχουν περιγραφεί, προκαλούνται και στον συνδετικό ιστό των περιτονιών, των τενόντων, του δέρματος, στο περιμύριο των μυών, στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων και στο επινεύριο και περινεύριο των νευραξόνων. Ο αριθμός των ινοβλαστών επίσης αυξάνεται κατά την διάρκεια της διάτασης και οι συνδέσεις μεταξύ τους πολλαπλασιάζονται.

Οι διάφορες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι επιμηκύνσεις με ταχύτητα 1mm την ημέρα και συχνότητα 0.25 mm κάθε 6 ώρες οδηγούσαν στα καλύτερα αποτελέσματα, κανόνες που έχουν καθιερωθεί και σε κλινικό επίπεδο.

ΠΡΟΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΠΩΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ

Η πώρωση ενός κατάγματος είναι μια χρονοβόρα διαδικασία που απαιτεί τις περισσότερες φορές αρκετούς μήνες. Η δυνατότητα να επιστρέψει ένας ασθενής στις καθημερινές δραστηριότητες και στη δουλειά του νωρίς, συνδυάζει οικονομικά οφέλη για την κοινωνία και ομαλή ψυχολογική και κοινωνική δραστηριότητα για τον ασθενή. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη πρώτα απ' όλα νέων τεχνικών που μας βοήθησαν να κατανοήσουμε καλύτερα την κυτταρική και μοριακή βιολογία του κατάγματος, με απώτερο στόχο οι γνώσεις αυτές να εφαρμοσθούν σε μεθόδους προαγωγής καταγμάτων. Σήμερα υπάρχουν πολλές μέθοδοι, άλλες παλιές, άλλες πρόσφατες, που προσπαθούν να επιταχύνουν την πώρωση ενός κατάγματος, να ελαχιστοποιήσουν τις ψευδαρθρώσεις και να τις θεραπεύσουν.

Πολλές απ' αυτές τις μεθόδους είναι ελκυστικές, επειδή δεν απαιτούν χειρουργική επέμβαση ή είναι ελάχιστα επεμβατικές και έτσι γίνονται εύκολα αποδεκτές από τον ασθενή.

Οι μέθοδοι για την προαγωγή της πώρωσης που είναι διαθέσιμες σήμερα μπορούν να χωρισθούν σε τρεις κατηγορίες: α) σ' αυτές που χρησιμοποιούν βιολογικά μέσα, β) σ' αυτές που χρησιμοποιούν βιοφυσικά μέσα και γ) στις μηχανικές μεθόδους.

Στις βιολογικές μεθόδους περιλαμβάνονται τα πάσης φύσεως μοσχεύματα, ο μυελός των οστών, οι διάφοροι παράγοντες ανάπτυξης όπως η TGF και οι BMP και τέλος οι οστεοαγωγιμες ουσίες με προεξάρχον στοιχείο τον υδροξυαπατίτη.

Στις βιοφυσικές μεθόδους περιλαμβάνονται οι υπέρηχοι και τα παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία.

Με τον όρο μηχανικές μέθοδοι στο θέμα της προαγωγής της πώρωσης εννοούμε την επίτευξη των καταλληλότερων μηχανικών συνθηκών με διάφορα μέσα (πλάκα, ήλος, εξωτερική οστεοσύνθεση) που προάγουν τη διαδικασία της πώρωσης.

Παρακάτω θα αναφερθούμε σ' αυτές τις μεθόδους πιο εκτεταμένα στις ευρύτερα χρησιμοποιούμενες και θα κάνουμε μια εισαγωγή στις καινούργιες.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Μοσχεύματα

Τα οστικά μοσχεύματα χρησιμοποιούνται στην ορθοπαιδική παραπάνω από έναν αιώνα. Ο Macewen⁹ χρησιμοποίησε το 1881 αυτομόσχευμα για κάταγμα διάφυσης βραχιονίου σ' ένα νεαρό παιδί και παρατήρησε σχηματισμό νέου οστού στη θέση του μοσχεύματος.

Η κύρια ένδειξη των οστικών μοσχευμάτων, είναι η κάλυψη οστικών κενών και η

προαγωγή της πώρωσης σε περιπτώσεις ψευδαρθρώσεων. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είναι τα σπογγώδη και μετά τα φλοιώδη αυτομοσχεύματα. Λιγότερο χρησιμοποιούνται τα αλλομοσχεύματα και ακόμη πιο σπάνια τα ξενομοσχεύματα.

Οι δυνατότητες του κάθε οστικού μοσχεύματος διαφέρουν. Σύμφωνα με πρόσφατες γνώσεις, η εμφύτευση ενός σπογγώδους ή φλοιώδους αυτομοσχεύματος ακολουθείται από τη δημιουργία αιματώματος το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο στην απελευθέρωση μοριακών διαμεσολαβητών (κυτοκίνες, παράγοντες ανάπτυξης) από τα αιμοπετάλια της περιοχής. Ιδιαίτερα για το σπογγώδες αυτομόσχευμα, αν και τα περισσότερα κύτταρα πεθαίνουν μετά την εμφύτευση, αυτά που παραμένουν ζωντανά έχουν τη δυνατότητα για απευθείας παραγωγή οστού (οστεοεπαγωγή, *osteoiduction*)^{1,3}. Εκτός αυτού, λόγω της πωρώδους επιφάνειας, οι οστεοκλάστες της περιοχής γρήγορα απορροφούν τα νεκρά κύτταρα και η διαδικασία της νεοαγγείωσης προχωρά γρήγορα. Στο διάστημα που ακολουθεί, το μόσχευμα λειτουργεί επίσης ως ικρίωμα για την πλήρη ανάπτυξη των αγγείων τα οποία με τη σειρά τους μεταφέρουν οστεοβλάστες από τη γειτνιάζουσα περιοχή και την παραγωγή οστού. Αυτή η λειτουργία είναι γνωστή ως οστεοαγωγιμότητα (*osteoiduction*) και διαρκεί για το σπογγώδες αυτομόσχευμα περίπου έξι μήνες.

Αντίθετα, τα φλοιώδη αυτομοσχεύματα λόγω της συμπαγούς δομής τους, καθιστούν χρονοβόρα τη διαδικασία της απορρόφησης και νεοαγγείωσης (απαιτεί χρόνια) και η οστεοεπαγωγική και οστεοαγωγιμη δυνατότητά τους υστερεί αρκετά σε σχέση με εκείνη των σπογγωδών αυτομοσχευμάτων. Αυτές οι δυσκολίες έχουν ξεπεραστεί με τη χρήση των αγγειούμενων οστικών φλοιωδών μοσχευμάτων (περόνη, λαγόνια, πλευρά). Μετά από μια επιτυχημένη αναστόμωση τα μοσχεύματα αυτά διατηρούν ζωντανό το 90% του κυτταρικού πληθυσμού και η ενσωμάτωση είναι γρήγορη. Η απαιτητική τεχνική όμως την καθιστά δύσκολη στο μέσο ορθοπαιδικό.

Μεγίστης σημασίας για την ενσωμάτωση του μοσχεύματος στις παραπάνω περιπτώσεις, είναι οι μηχανικές συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή. Η σταθερότητα και η καλή επαφή είναι απαραίτητη για ένα καλό αποτέλεσμα^{1,2,3,150}.

Μειονέκτημα των αυτομοσχευμάτων αποτελεί το πρόσθετο χειρουργικό τραύμα που απαιτείται για τη λήψη τους. Όσον αφορά στα αλλομοσχεύματα το κύριο πρόβλημα που έπρεπε να ξεπεραστεί ήταν ο φόβος των διαφόρων μεταδοτικών νοσημάτων (ηπατίτιδες, AIDS, κ.ά.). Η βαθεία ψύξη (-70 °C) και η ακτινοβολία έχουν πρακτικά εξαλείψει αυτό το πρόβλημα, αλλά αυτές οι μέθοδοι, θανατώνοντας όλα τα οστικά κύτταρα, στερούν από το μόσχευμα κάθε οστεοεπαγωγική δυνατότητα με όποιες αρνητικές συνέπειες σημαίνει αυτό. Έτσι τα αλλομοσχεύματα όπως και τα ξενομοσχεύματα μόνο οστεοαγωγιμότητα μπορούν να προσφέρουν.

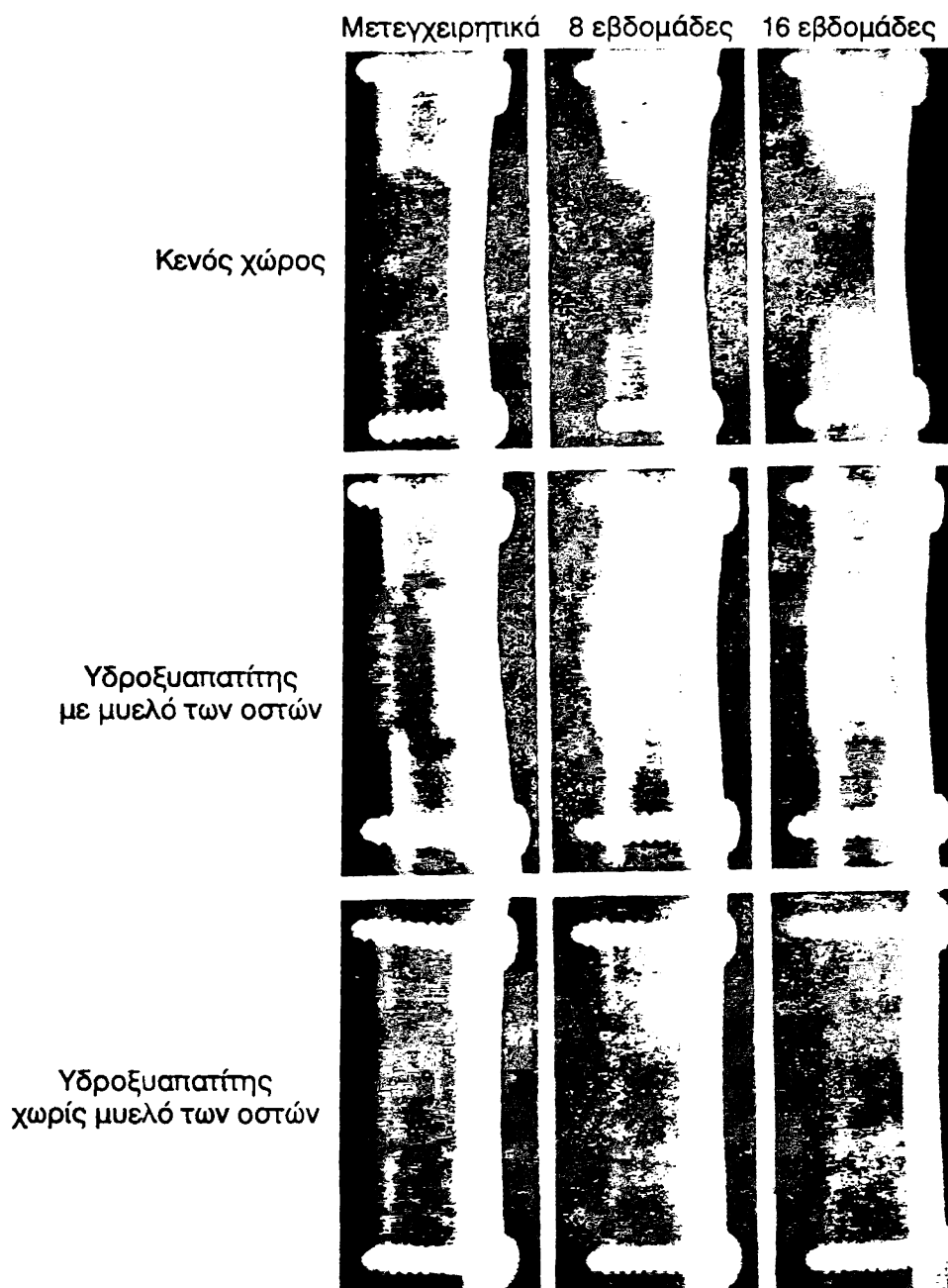


2. Μυελός των οστών

Ο μυελός των οστών περιέχει έναν πληθυσμό αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων τα οποία είναι ικανά να διαφοροποιηθούν σε οστικά, χόνδρινα, τενόντια, μυϊκά ή άλλα κύτταρα του συνδετικού ιστού. Αυτά τα κύτταρα αναφέρονται στην αγγλόφωνη βιβλιογραφία ως Mesenchymal Stem Cells (MSC) και στην ελληνική ως μεσεγχυματικά στελεχιαία (ή αρχέγονα) κύτταρα. Αυτά τα κύτταρα μπορούν να διαχωρισθούν από το υπόλοιπο μυελικό παρέγχυμα και να καλλιεργηθούν με διάφορες τεχνικές^{1,2}. Η ικανότητα του μυελού των οστών να προάγει την οστεογένεση άρχισε να μελετάται πειραματικά το 1982 από τον Connolly, ενώ ο ίδιος συγγραφέας αναφέρει την πρώτη επιτυχή κλινική εφαρμογή διαδερμικής έγχυσης μυελού των οστών σε μια ψευδάρθρωση κνήμης ενός έναν ασθενούς 31 ετών^{3,4}.

Μια καθαρή απόδειξη της οστεοεπαγωγικής δυνατότητας του μυελού των οστών ήρθε από τους Dennis και συν.^{3,4} οι οποίοι τοποθέτησαν υποδορίως (έκτοπη θέση) τμήματα κεραμικού υλικού εμποτισμένα με μυελό των οστών και παρατήρησαν δημιουργία οστού. Σε μια πρόσφατη έρευνα οι Kadiyala και συν.^{8,9} απέδειξαν την υπεροχή του μυελού των οστών στην προαγωγή της οστεογένεσης ανάμεσα σε άλλες μεθόδους. Χρησιμοποίησαν λοιπόν ως μοντέλο, ένα οστικό κενό μήκους 21mm σε μηριαίο οστό των μεγάλων σκυλιών. Στη συνέχεια γέμισαν το κενό, αφού προηγουμένως σταθεροποιούσαν το κατάγμα με πλάκα και βίδες, με κύλινδρο υδροξυαπατίτη, κύλινδρο υδροξυαπατίτη εμπλουτισμένο με μυελό των οστών ή το άφηναν ως έχει, δημιουργώντας έτσι 3 ομάδες προς έλεγχο. Παρατήρησαν λοιπόν ότι 16 εβδομάδες μετά (εξέταση ακτινολογική και ποσοτική ιστομορφομετρία) ότι στις περιπτώσεις που δεν τοποθετούσαν τίποτα το αποτέλεσμα ήταν ψευδάρθρωση και μη παραγωγή οστού όταν το κεραμικό υλικό τοποθετούνταν μόνο του. Αντίθετα, στις περιπτώσεις που τοποθετούνταν κεραμικός κύλινδρος εμπλουτισμένος με μυελό των οστών το αποτέλεσμα ήταν ένας εντυπωσιακός σχηματισμός περισστικού πώρου στις 4 εβδομάδες και πλήρης πώρωση και ενσωμάτωση του μοσχεύματος στις 16 εβδομάδες (ΕΙΚΟΝΑ 9).

Από κλινικής άποψης ο Connolly^{2,6} αναλύοντας μια σειρά 100 ασθενών με ανοιχτά κατάγματα κνήμης σε μια περίοδο 10 ετών, αναφέρει ότι η αποτελεσματικότητα της μεθόδου, σε συνδυασμό βέβαια με την απαραίτητη σταθεροποίηση του κατάγματος, φθάνει το 80%. Ενδιαφέρον είναι επίσης ότι ο ίδιος συγγραφέας^{2,5} και άλλοι^{9,1} βασιζόμενοι στην παρατήρηση ότι μια βασική αιτία ψευδάρθρωσης είναι το μεγάλο καταγματικό κενό που προκύπτει μετά από χειρουργική αφαίρεση των απαγγειούμενων οστικών τεμαχίων, προτείνουν σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους, να αφήνονται αυτά όπως είναι και να εμποτίζεται αργότερα η καταγματική εστία με μυελό των οστών. Οι παραπάνω σειρές αναφέρουν με την εφαρμογή αυτής της μεθόδου ιδιαίτερα ικανοποιητικά



Εικόνα 9: Ακτινολογική εικόνα της πύρωσης σε οστικό κενό 21mm. Στα ζώα που δεν χρησιμοποιήθηκε τίποτε, το αποτέλεσμα ήταν ψευδάρθρωση στις 16 εβδομάδες. Στα ζώα που χρησιμοποιήθηκε κύλινδρος υδροξυαπατίτη εμπλουτισμένος με μυελό των οστών, υπήρχε πλήρη ενσωμάτωση και ανακατασκευή του κυλίνδρου του υδροξυαπατίτη. Στα ζώα που χρησιμοποιήθηκε μόνο κύλινδρος υδροξυαπατίτη η πύρωση απέτυχε όπως φαίνεται από την απορρόφηση του υλικού.

αποτελέσματα ενσωμάτωσης των απαγγειούμενων οστικών τεμαχίων και πύρωση των καταγμάτων σε υψηλό ποσοστό.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι η διαδερμική έγχυση του μυελού των οστών είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος στη θεραπεία των καταγμάτων ή ψευδαρθρώσεων. Οι ερευνητικές προσπάθειες συγκεντρώνονται τώρα στην τελειοποίηση των τεχνικών για την απομόνωση των MSC, επειδή η συγκέντρωσή τους είναι μικρή (1/100.000 κύτταρα) στον κυτταρικό πληθυσμό του μυελού των οστών. Μ' αυτό τον τρόπο η δράση τους θα είναι πιο αποτελεσματική, ενώ θα αυξήσει και την οστεογενετική ικανότητα ατόμων στα οποία αυτή είναι μειωμένη, λόγω μεγάλης ηλικίας, οστεοπόρωσης ή άλλων παθολογικών καταστάσεων. Έτσι,

ακόμα και σ' αυτούς τους ασθενείς η απομόνωση, διατήρηση και καλλιέργεια την MSC θα μπορεί να δώσει τη δυνατότητα για την απορόσκοπη πώρωση καταγμάτων, θεραπεία ψευδοarthρώσεων ή ακόμη και κάλυψη οστικών κενών¹¹.

- 3. Οστεοαγωγικές μέθοδοι

Όταν ένα οστικό μόσχευμα τοποθετηθεί σ' ένα οστικό περιβάλλον, τότε ο ξενιστής εισβάλλει στην πορώδη επιφάνεια του μοσχεύματος μέσω των οστεοκλαστών και δημιουργεί δόδους για τη νεοαγγείωση μέσω της οποίας ρθάνουν στην περιοχή οστεοπροσγωγικά κύτταρα. Αυτά διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, οι οποίοι παράγουν καινούριο οστόν που θα αντικαταστήσει το οστικό μόσχευμα.

Στο διάστημα αυτό το μόσχευμα παίζει τον παθητικό υποστηρικτικό ρόλο του κολώματος (scaffold). Συζητάμε για πορώδη επιφάνεια των μοσχευμάτων, επειδή η παραπάνω διαδικασία είναι πολύ πιο σύντομη όταν το μόσχευμα διαθέτει τέτοια επιφάνεια, αλλά δεν εξαρτάται αποκλειστικά απ' αυτόν τον παράγοντα.

Η διαδικασία αυτή, όπως προαναφέρθηκε, ονομάζεται οστεοαγωγικότητα και βρίσκει την τέλεια εφαρμογή της στις περιπτώσεις σπογγώδους αυτομοσχεύματος. Βασίζόμενοι στο γεγονός ότι η αρχιτεκτονική δομή (πορώδης) του μοσχεύματος, διευκολύνει και επιταχύνει τη διαδικασία της οστεοαγωγικότητας, σε συνδυασμό με το ότι η λήψη μοσχεύματος απαιτεί μια δεύτερη επέμβαση, οι ερευνητές προσπάθησαν επιτυχώς να δημιουργήσουν ουσίες που να έχουν παρόμοιες φυσικές και χημικές ιδιότητες με το σπογγώδες οστόν. Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώθηκαν κυρίως γύρω από υλικά όπως ο υδροξυαπατίτης, ενώσεις υδροξυαπατίτη με tricalcium phosphate (Collagraft, Collagen Corporation, Palo Alto, California), συνδυασμό αλάτων ασβεστίου κ.ά.

Η μικροπορώδης επιφάνεια των οστών αυτών παρομοιάζεται μ' αυτήν του σπογγώδους οστού με διάμετρο πόρων από 220-260μm¹².

Πειραματικές και κλινικές μελέτες με κεραμικό υλικό που έχει ως βάση τον υδροξυαπατίτη, έδειξαν ότι η διαδικασία της οστεοαγωγικότητας είναι σχεδόν παρόμοια μ' αυτήν χωρίς αντιδράσεις από την πλευρά του ξενιστή. Η μηχανική αντοχή τους όμως είναι αρχικά τουλάχιστον, μικρότερη απ' αυτήν του αυτομοσχεύματος. Αυτός ίσως είναι ένας λόγος που η χρησιμοποίησή τους σε διαφυσικά ελλείμματα ήταν ανεπιτυχής¹³.

Ο υδροξυαπατίτης χρησιμοποιείται ευρέως και στα εμφυτεύματα ολικών αρθροπλαστικών του ισχίου. Οι Engh και συν.¹⁴ όμως έδειξαν ότι για να είναι επιτυχής η ανάπτυξη οστού πάνω στην πρόθεση χρειάζεται καλή σταθερότητα τα πρώτα χρόνια. Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα όμως, αρκετά ερωτήματα παραμένουν, ιδιαίτερα όσον αφορά στο αν οι ουσίες αυτές απορροφούνται τελείως και με ποιο ρυθμό, πώς επηρεάζεται η ανακατασκευή του οστού αν δεν απορροφούνται και τέλος πόσο καλά οι μηχανικές ιδιότητές τους πράγματι

υποστηρίζουν την κατασκευή του νέου οστού.

Μια οστεοαγώγιμη ουσία που περιέχει κολλαγόνο, σε συνδυασμό με υδροξυαπατίτη και tricalcium phosphate και που πρόσφατα έχει εγκριθεί από το FDA για κλινική χρήση στις ΗΠΑ είναι το Collagraft. Έρευνες έδειξαν ότι, όταν η ουσία αυτή συνδυάζεται με μυελό των οστών, έχει ιδιαίτερα καλά αποτελέσματα^{8, 9, 10}. Ίσως ένα επιπρόσθετο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το κολλαγόνο αποτελεί ένα εξαίρετο έδαφος για τη μετάλλωση του νέου οστού και πιθανόν το πρωτεϊνικό του υπόστρωμα προσφέρει και χημικές εκτός από οστεοαγώγιμες ιδιότητες.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ (Growth factors)

Με τον όρο παράγοντες ανάπτυξης (στα πλαίσια πάντα της πώρωσης των καταγμάτων) εννοούμε μια ομάδα ουσιών, οι οποίες με "ορμονικό" τρόπο δράσης επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων και την παραγωγή και μετάλλωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.

Οι ουσίες αυτές έχουν οστεοαγώγιμες ιδιότητες (osteoinductive substances) και σε αντίθεση με τις οστεοεπαγωγικές ουσίες, μπορούν να δημιουργήσουν οστούς ακόμα και σε έκτοπες (εξωοστικές) εστίες. Το ερευνητικό ενδιαφέρον για τις ουσίες αυτές και ο ρόλος που διαδραματίζουν στην πώρωση των καταγμάτων, είναι έντονο τα τελευταία 10 χρόνια.

Οι παράγοντες ανάπτυξης που σήμερα είναι γνωστοί και έχουν μελετηθεί είναι η οικογένεια του αυξητικού παράγοντα μετατροπής-βήτα TGF-β (transforming growth factor-beta) που περιλαμβάνει και τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες BMP (bone morphogenetic protein), ο παράγων ανάπτυξης ινοβλαστών FGF (fibroblast growth factor), ο ινσουλινοειδής παράγοντας ανάπτυξης IGF (insulinlike growth factor) και τέλος ο παράγοντας ανάπτυξης των αιμοπεταλίων PDGF (platelet derived growth factor).

TGF-β αυξητικός παράγων μετατροπής-βήτα

Ο αυξητικός παράγων μετατροπής-βήτα (TGF-β) είναι μια μεγάλη ομάδα - οικογένεια - που περιλαμβάνει διάφορες ουσίες (Πίνακας 2). Εκτός των πέντε αυξητικών παραγόντων μετατροπής-βήτα περιλαμβάνει επίσης τις μορφογενετικές πρωτεΐνες, διαφοροποιητικούς παράγοντες, ανασταλτικούς παράγοντες κ.ά. Πιο συγκεκριμένα, οι πέντε TGF-β είναι πολυπεπίδια με στενή γενετική αλληλουχία (64-82% ομοιότητα στην αλληλουχία των αμινοξέων) με ένα ευρύ πεδίο δράσης στην ανάπτυξη των ιστών, καθώς και στην ανάπτυξη των οστών στην πώρωση των καταγμάτων⁵. Αν και οι TGF-β παράγονται από πολλά κύτταρα η συγκέντρωσή τους είναι 100 φορές μεγαλύτερη στους οστεοβλάστες^{1, 9, 10, 11, 12, 13, 14}. Τα αιμοπετάλια επίσης είναι μια σημαντική πηγή παραγωγής TGF-β. Το μόριό τους αποτελείται από δυο

αλυσίδες 112 αμινοξέων και η συγκέντρωσή τους σε επίπεδο πικογραμμαρίων (pg) είναι αρκετή για να εκδηλωθεί η δράση τους^{4,5}.

Οι TGF-β βρίσκονται σε ανενεργή (λανθάνουσα) μορφή, στα κύτταρα και μπορούν να ενεργοποιηθούν σε περιβάλλον με όξινο PH ή δια μέσου μιας πρωτεάσης (ενεργοποιητής πλασμινογόνου)^{4,5}. Σε συνθήκες κατάγματος οι οστεοκλάστες με την απορρόφηση οστού που προκαλούν, δια μέσου της οξικής υδρόλυσης, ενεργοποιούν τους TGF-β⁺. Έτσι λοιπόν, παρόλο που οι οστεοκλάστες απορροφούν οστική ουσία, στα αρχικά στάδια του κατάγματος βοηθούν με την απελευθέρωση των TGF-β την πορεία της πώρωσης. Με την ανάπτυξη τεχνικών για την αναγνώριση των ουσιών αυτών, σε μικρή συγκέντρωση κατά την πώρωση του κατάγματος, έγινε (μερικώς τουλάχιστον) κατανοητή η δράση των ουσιών αυτών. Οι τεχνικές αυτές χρησιμοποιούν κυρίως μονοκλωνικά αντισώματα, μεθόδους ανοσοϊστοχημείας, ράδιοσημασμένο RNA, Northern analysis κλπ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. Μέλη της οικογένειας του αυξητικού παράγοντα βήτα (TGF-b)

Υποομάδα αυξητικού παράγοντα βήτα

- Αυξητικός παράγων βήτα-1
- Αυξητικός παράγων βήτα-2
- Αυξητικός παράγων βήτα-3
- Αυξητικός παράγων βήτα-4 (κοτόπουλο)
- Αυξητικός παράγων βήτα-5

Υποομάδα οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών

- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-2
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-3
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-4
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-5
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-6
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-7 (γνωστή και ως οστεογενετική πρωτεΐνη-1)
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-8 (γνωστή και ως οστεογενετική πρωτεΐνη-2)
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-9
- Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-10

Υποομάδα διαφοροποιητικών παραγόντων

- Αναπτυξιακός και διαφοροποιητικός παράγων-1
- Διαφοροποιητικός παράγων Δροσόφιλας 60⁺

Υποομάδα ανασταλτικών παραγόντων

- Ανασταλτικός παράγων-α
- Ανασταλτικός παράγων-β_α
- Ανασταλτικός παράγων-β_β



Γενικά η πλειονότητα των πειραματικών μελετών δείχνει ότι οι TGF-β αυξάνουν τη συγκέντρωση παραγόντων οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, όπως το κολλαγόνο τύπου I, η οστεονεκτίνη, η αλκαλική φωσφατάση^{7,8,9} καθώς επίσης συμβάλλουν στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των αρχέγονων κυττάρων^{2,3,7}.

Το επίπεδο συγκέντρωσης του κάθε TGF-β είναι διαφορετικό στα στάδια της πώρωσης. Έτσι, όσον αφορά στον TGF-β 1 στην αρχή (2η-4η ημέρα) η συγκέντρωσή του είναι ελάχιστη ενώ ανεβαίνει αργότερα (7η-14η ημέρα). Αντίθετα ο TGF-β 2 και λιγότερο ο TGF-β 3 βρίσκονται σε υψηλές συγκεντρώσεις τις πρώτες ημέρες^{3,5}.

Έτσι λοιπόν, φαίνεται ότι ο ρόλος του κάθε TGF-β είναι διαφορετικός έχοντας ο καθένας άλλο στόχο στα διάφορα στάδια της πώρωσης.

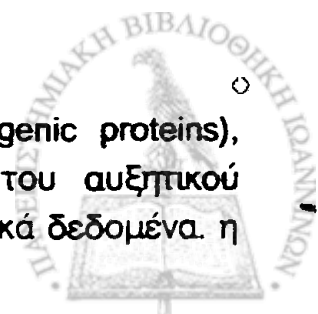
Για να ερευνήσουν την ικανότητα των TGF-β στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίηση των κυττάρων οι Joyce και συν.¹⁰ έκαναν το εξής πείραμα: χορήγησαν με υποπεριοστική ένεση σε μηριαία νεογνώντων ποντικών TGF-β 1 και TGF-β 2 και παρατήρησαν τη δημιουργία μιας μεγάλης υποπεριοστικής μάζας χόνδρινων κυττάρων τα οποία γρήγορα διαφοροποιήθηκαν σε οστίτη ιστό επιταχύνοντας έτσι τη διαδικασία της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης. Σε άλλες μελέτες^{11,12} ο ίδιος συγγραφέας έδειξε ότι η προσθήκη TGF-β σε κυτταρικές καλλιέργειες αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την παραγωγή κολλαγόνου τύπου I και II.

Ο Nielsen και συν.¹³ έδειξαν ότι οι TGF-β έχουν τη δυνατότητα να προάγουν την πώρωση. Χρησιμοποιώντας σαν μοντέλο ένα κάταγμα κνήμης σε ποντίκι (σταθεροποίηση με ενδομυελικό ήλο) χορηγούσαν κάθε δεύτερη ημέρα 4 και 40 mg TGF-β σε δύο ομάδες ζώων. Η εμβιομηχανική ανάλυση έδειξε ότι η ομάδα που έλαβε μεγαλύτερη δόση είχε μεγαλύτερη ακαμψία στα πωρωθέντα οστά και ογκωδέστερα πόρο. Άλλες μελέτες έδειξαν την ικανότητα την TGF-β να γεφυρώνουν οστικά κενά^{14,15}.

Οι αποδείξεις λοιπόν για τον ρόλο των TGF-β στην πώρωση των καταγμάτων είναι πολλές. Παρόλα αυτά πολλά σημεία παραμένουν σκοτεινά και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για την καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους.

BMP-Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMP bone morphogenic proteins), ανήκουν, όπως προαναφέρθηκε, στην ευρύτερη οικογένεια του αυξητικού παράγοντα μετατροπής βήτα TGF-β. Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, η



διαφορά τους φαίνεται να έγκειται στο γεγονός ότι η δράση του TGF- β επηρεάζει τη διαφοροποίηση και ανάπτυξη πολλών ιστών, μεταξύ των οποίων και ο οστίτης ιστός, ενώ οι BMP έχουν μια πιο ειδική δράση στον οστίτη ιστό. Το χαρακτηριστικό των BMP είναι ο πλειοτροπισμός. Πλειοτροπισμός είναι η ιδιότητα μιας ουσίας (πρωτεΐνης) να δρα με ποικίλους τρόπους στα διάφορα στάδια της κυτταρικής λειτουργίας. Έτσι λοιπόν οι BMP δρουν στη χημειοταξία, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση των κυττάρων, ενώ παράλληλα ενεργοποιούν την παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας και την απόπτωση (θάνατο) των ώριμων χονδροκυττάρων.

Ο Urist^{1,6} το 1965 ήταν αυτός που έκανε την ανακάλυψη κλειδί, ότι δηλαδή η απομεταλλοποιημένη οστική ουσία είναι ικανή να παράγει οστούς, όταν τοποθετηθεί σε έκτοπες θέσεις και συγκεκριμένα σε ενδομυϊκούς θυλάκους στα κουνέλια. Θεώρησε λοιπόν, ότι κάποια ειδική ουσία (πρωτεΐνη) που εμπεριέχεται στην απομεταλλοποιημένη οστική ουσία είχε αυτές τις οστεοεπαγωγικές δυνατότητες και την ονόμασε οστική μορφογενετική πρωτεΐνη (bone morphogenic protein). Αργότερα βέβαια, διαπιστώθηκε ότι η πρωτεΐνη αυτή δεν είναι μόνο μία αλλά πολλές (16 γνωστές μέχρι σήμερα) και συνιστούν την οικογένεια των BMP.

Όπως θα γίνει φανερό παρακάτω, οι BMP έχουν έναν κριτικό ρόλο στα πρώτα στάδια της πώρωσης, κατά τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χόνδρινα κύτταρα κατά τη διαδικασία της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης. Για να δράσουν οι BMP απαιτείται η παρουσία ειδικών υποδοχέων που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη και ονομάζονται μοριακοί διαβιβαστές (signaling molecules-Smad). Αυτοί είναι υπεύθυνοι για την ασφαλή μεταφορά των BMP στον πυρήνα του κυττάρου για να παραχθεί στη συνέχεια η συγκεκριμένη πρωτεΐνη που αντιστοιχεί στην εκάστοτε BMP^{1,2,8}. Πιο πολύ από όλες τις BMP έχουν μελετηθεί οι BMP2, BMP4 και BMP7. Οι Bostrom και συν.⁹ χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα που να συνδέονται με τις BMP2 και BMP4, κατάφεραν να αναγνωρίσουν την έκφραση και συγκέντρωση των συγκεκριμένων BMP σε ένα μοντέλο κατάγματος ποντικίου. Αρχικά λοιπόν κατά το στάδιο του αιματώματος η συγκέντρωσή τους είναι ελάχιστη και αναγνωρίζεται σε λίγα μεσεγχυματικά κύτταρα. Καθώς τα κύτταρα αυτά πολλαπλασιάζονται μετά την 3η ημέρα η συγκέντρωση των BMP αυξάνεται. Κατά το στάδιο της χονδρογένεσης (6η-14η ημέρα) οι BMP έχουν μια έντονη παρουσία στην περιοχή του κατάγματος, με την πιο υψηλή συγκέντρωση ακριβώς πριν την ωρίμανση των χονδροκυττάρων. Καθώς τα οστεοκύτταρα της περιοχής αρχίζουν να παράγουν άναρχο -πρώιμο (woven) οστό η συγκέντρωσή τους σταδιακά ελαττώνεται. Κατά την αντικατάσταση του άναρχου από πεταλιώδους οστού η συγκέντρωσή τους πέφτει ραγδαία.

Τα παραπάνω μαρτυρούν ότι είναι το αρχικό στάδιο της πώρωσης εκείνο που οι BMP έχουν σπουδαίο ρόλο ενώ κατά το στάδιο της παραγωγής lamellar οστού και

κατά το στάδιο της ανακατασκευής ο ρόλος τους περιορίζεται στο ελάχιστο. Η παραγωγή των BMP μέσω μοριακής κλωνοποίησης, έδωσε τη δυνατότητα στους ερευνητές να πειραματιστούν, ώστε να ελέγξουν τις δυνατότητές τους στην πώρωση των καταγμάτων.

Οι Yasko και συν.^{1 6} σε μια πειραματική εργασία με σκοπό τον έλεγχο της οστεοεπαγωγικής ικανότητας της BMP2, δημιούργησαν σε μηριαία ποντικών, ένα οστικό κενό 5 mm το οποίο σταθεροποιούσαν στη συνέχεια με πλάκα και βίδες. Χορήγησαν στη συνέχεια στην εστία του κατάγματος BMP2 σε δύο ομάδες ζώων, σε διαφορετικές δόσεις, 1.4 μ g και 11.0 μ g αντίστοιχα, ενώ μια τρίτη ομάδα χρησίμευε σαν ομάδα ελέγχου. Ο ακτινολογικός και ιστολογικός έλεγχος καθώς και η εμβιομηχανική μελέτη έδειξαν ότι η BMP2 προήγαγε την πώρωση με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Ακτινολογική πώρωση είχαν 8 από τα 10 ζώα στα οποία χορηγήθηκε μεγάλη δόση BMP, ενώ όλα τα ζώα των άλλων ομάδων οδηγήθηκαν σε ψευδάρθρωση.

Ο Einhorn⁴ έδειξε ότι αρκεί μια δόση BMP2 για να ευεργετηθεί η πώρωση. Σε μια σειρά 288 πειραματόζωων (ποντικών) ορίστηκαν 3 ομάδες με 96 ζώα η κάθε σειρά. Στην μια ομάδα 8 ώρες μετά το κάταγμα γινόταν υποδορίως ένεση με διάλυμα BMP, στη δεύτερη ενιόνταν ουδέτερο διάλυμα, ενώ η τρίτη αφηνόταν ως έχει. Η εμβιομηχανική ανάλυση έδειξε ότι την 14η και 28η μετεγχειρητική ημέρα υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην ακαμψία των οστών που έλαβαν BMP, σε σχέση με τις άλλες ομάδες που δεν είχαν διαφορά μεταξύ τους.

Από κλινικής άποψης αρκετές μελέτες είναι σε εξέλιξη και τα πρώιμα αποτελέσματα που ανακοινώνονται είναι νωρίς για να κριθούν. Μια κλινική μελέτη^{8 4} με μικρό follow-up (1983-1994) αφορά 28 ασθενείς με επίμονες ψευδαρθρώσεις διαφόρων οστών στους οποίους τοποθετήθηκε αλλομόσχευμα εμπλουτισμένο με BMP2, BMP4 και BMP7. Το αποτέλεσμα ήταν εντυπωσιακό, καθώς 26 (93%) πωρώθηκαν, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλεργικές αντιδράσεις, φλεγμονές ή ανάπτυξη όγκων, γεγονός που ως ένα βαθμό δείχνει και την ασφάλεια της μεθόδου. Οι οστεοεπαγωγικές δυνατότητες των BMP πιστεύεται ότι έχουν θέση, πέρα από την πώρωση των καταγμάτων και στη θεραπεία παθήσεων όπως η ινώδης δυσπλασία ή να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση των μεγάλων οστικών κενών στις αναθεωρήσεις των ολικών αρθροπλαστικών του ισχίου. Τέλος, λόγω του ότι οι BMP έχουν τη δυνατότητα να παράγουν οστούς σε έκτοπες θέσεις, πιστεύεται ότι παίζουν κάποιο ρόλο στη δημιουργία έκτοπης οστεοποίησης σε ασθενείς με κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις. Η χρήση λοιπόν αντισωμάτων έναντι των BMP σε τέτοιες καταστάσεις, πιστεύεται ότι ίσως μελλοντικά βοηθήσει στη λύση τέτοιων προβλημάτων.

FGF, IGF, PDGF

Στην κατηγορία των παραγόντων ανάπτυξης ανήκουν επίσης και οι FGF, IGF και



PDGF. Αυτοί οι παράγοντες έχουν μελετηθεί λιγότερο από τον TGF- β και τις BMP, έχει βρεθεί όμως ότι έχουν κάποια θέση στη διαδικασία της πώρωσης και στην προαγωγή της. Ο FGF έχει βρεθεί ότι έχει μιτογενετικές και αγγειογενετικές ιδιότητες και συμβάλλει στην ανάπτυξη και στον πολλαπλασιασμό ιστών που προέρχονται από το μεσόδερμα και το νευροεκτόδερμα.

Η συγκέντρωσή του είναι υψηλή στον οστίτη ιστό και γι' αυτό το λόγο οι ερευνητές υπέθεσαν ότι μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο στην πώρωση των καταγμάτων. Μια πειραματική εργασία⁸ έδειξε ότι η χορήγηση FGF στην περιοχή του κατάγματος σε ποντίκια οδήγησε σε ταχύτερη και ογκωδέστερη δημιουργία πώρου σε σχέση με τους μάρτυρες. Το φαινόμενο ήταν δοσοεξαρτώμενο. Οι ίδιοι συγγραφείς επίσης βρήκαν ότι ο FGF απέτρεπε την παραγωγή κολλαγόνου II και υπέθεσαν ότι η διαδικασία της οστεοποίησης επιταχύνεται δια του μηχανισμού αυτού.

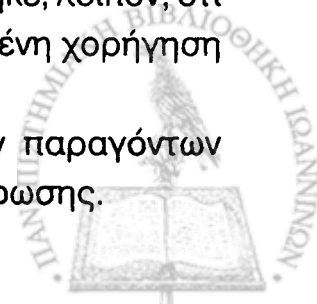
Ο ινσουλινοειδής παράγοντας ανάπτυξης IGF ανήκει στην κατηγορία των σωματομεδινών, τα οποία είναι πεπτίδια που προάγουν τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των κυττάρων. Τα πεπτίδια αυτά έχουν αναβολικές ιδιότητες όπως και η ινσουλίνη. Ο IGF είναι μια ομάδα που αποτελείται από δυο πολυπεπτίδια: IGF-I και IGF II. Ο IGF-I είναι το ενεργό μόριο της αυξητικής ορμόνης που παράγεται στην υπόφυση^{2, 8, 3}. Σύμφωνα με μια θεωρία, όταν ελευθερωθεί η αυξητική ορμόνη στην κυκλοφορία, συνδέεται με υποδοχείς σε όργανα όπως το ήπαρ και δίνει το ερέθισμα για την παραγωγή του IGF-I, ο οποίος μεταφέρεται στη συνέχεια σε κύτταρα στόχους, μεταξύ των οποίων είναι τα χονδροκύτταρα και οι οστεοβλάστες^{7, 1, 5, 5}. Βασιζόμενοι στα παραπάνω διάφοροι ερευνητές χρησιμοποίησαν αυξητική ορμόνη (ή και μόνο IGF-I) για να μελετήσουν την ικανότητα του IGF-I στην προαγωγή της πώρωσης.

Τα αποτελέσματα των εργασιών αυτών (106, 107) είναι αντικρουόμενα και δεν υπάρχουν ακόμη σαφείς ενδείξεις ότι ο IGF-I προάγει σημαντικά την πώρωση^{9, 1, 1, 5, 4}.

Ο PDGF, τέλος, είναι ένα πολυπεπτίδιο το οποίο φαίνεται να αυξάνει τη σύνθεση του κολλαγόνου ενισχύοντας έτσι την αντοχή (tensile strength) των τραυμάτων των ιστών^{1, 2, 4}.

Λαμβάνοντας υπόψη την πολυπλοκότητα της διαδικασίας της πώρωσης θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι είναι δύσκολο η μεμονωμένη δράση ενός παράγοντα ανάπτυξης να έχει πάντα το επιθυμητό αποτέλεσμα. Αυτό αποδεικνύεται από την εργασία των Lynch και συν.^{9, 8} οι οποίοι χρησιμοποίησαν σε ένα μοντέλο κατάγματος IGF-I και PDGF και μεμονωμένα και σε συνδυασμό. Βρέθηκε, λοιπόν, ότι τα καλύτερα αποτελέσματα παρατηρούνταν όταν γινόταν συνδυασμένη χορήγηση IGF-I και PDGF.

Αυτή η μελέτη είναι μια ένδειξη ότι ίσως ο συνδυασμός των παραγόντων ανάπτυξης είναι αναγκαίος και ιδανικός για την ιδανική πορεία της πώρωσης.



Αρχές και ρόλος της γονιδιακής θεραπείας στην προαγωγή της πώρωσης των καταγμάτων

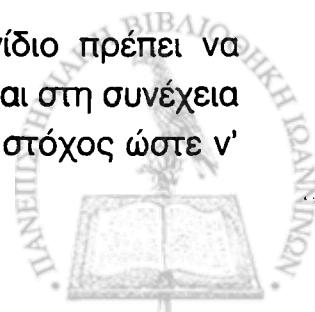
Πολλές πρωτεΐνες, όπως έχει αποδειχθεί, έχουν τη δυνατότητα να επηρεάζουν και να προάγουν την πώρωση των καταγμάτων. Αν και αυτοί που έχουν μελετηθεί πιο πολύ είναι οι παράγοντες ανάπτυξης (growth factors) υπάρχουν εντούτοις και άλλοι όπως οι αγγειογενετικοί παράγοντες, οι υποδοχείς κυτοκινών, που επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο. Η γονιδιακή θεραπεία (gene therapy) προσφέρει τη δυνατότητα να επιτυγχάνονται θεραπευτικά επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών στην εστία του κατάγματος για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα.

Ένα πρόβλημα που προκύπτει με την εξωγενή χορήγηση των παραγόντων ανάπτυξης στην εστία του κατάγματος είναι ότι η συγκέντρωσή τους παραμένει υψηλή για μικρό μόνο χρονικό διάστημα, ακριβώς γιατί ο χρόνος ημίσειας ζωής αυτών των παραγόντων είναι μικρός. Ακόμη ο εξωγενής τρόπος χορήγησης δεν είναι θα λέγαμε απόλυτα "βιολογικός", όπως θα ήταν αν οι παράγοντες αυτοί παράγονταν από τα κύτταρα στην εστία του κατάγματος⁴. Έτσι για παράδειγμα, εξηγείται το γεγονός ότι η παραγωγή του ανταγωνιστή της κυτοκίνης III (III^{Ra}) μέσω γονιδιακής θεραπείας έχει καλύτερα "αντιαρθρικά" αποτελέσματα από ότι η εξωγενής χορήγηση του παραπάνω παράγοντα σε γόνατα κουνελιών, παρόλο που οι συγκεντρώσεις και των δύο ήταν παρόμοιες^{11 8}.

Οι παράγοντες ανάπτυξης όπως και οι άλλες πρωτεΐνες, συντίθενται από τον οργανισμό, χρησιμοποιώντας πληροφορίες που είναι κωδικοποιημένες στο DNA ορισμένων γονιδίων. Όταν λοιπόν ένα γονίδιο που περιέχει τις πληροφορίες για ένα συγκεκριμένο παράγοντα ανάπτυξης απομονωθεί και μεταφερθεί με το σωστό τρόπο σ' ένα κύτταρο, αυτό θα αρχίσει να παράγει τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Αν το κύτταρο αυτό βρίσκεται για παράδειγμα στην εστία του κατάγματος και τη δουλειά αυτή κάνουν πολλά κύτταρα μαζί, η συγκέντρωση του παράγοντα αυτού θα είναι υψηλή για αρκετό χρονικό διάστημα^{11 4}. Έτσι λοιπόν μια επιτυχημένη γονιδιακή θεραπεία απαιτεί τη γνώση και απομόνωση των γονιδίων που φέρουν τις πληροφορίες για τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη, τη μεταφορά τους στα κύτταρα στόχους και την παραγωγή από αυτά της συγκεκριμένης πρωτεΐνης.

Σήμερα έχουν αποκωδικοποιηθεί τα υπεύθυνα γονίδια για την παραγωγή των διαφόρων παραγόντων ανάπτυξης. Πιο πολλά προβλήματα ανακύπτουν στον τρόπο μεταφοράς των γονιδίων και την παραγωγή της πρωτεΐνης από τα κύτταρα στόχους σε ικανές ποσότητες^{4 5}.

Όσον αφορά τη μεταφορά, πρέπει να τονισθεί ότι το γονίδιο πρέπει να διεισδύσει στο κύτταρο, να αποφύγει τη λυσοσωματική εκφύλιση και στη συνέχεια να εισχωρήσει στον πυρήνα του κυττάρου που είναι και ο τελικός στόχος ώστε ν' αρχίσει η παραγωγή της πρωτεΐνης^{11 4}.

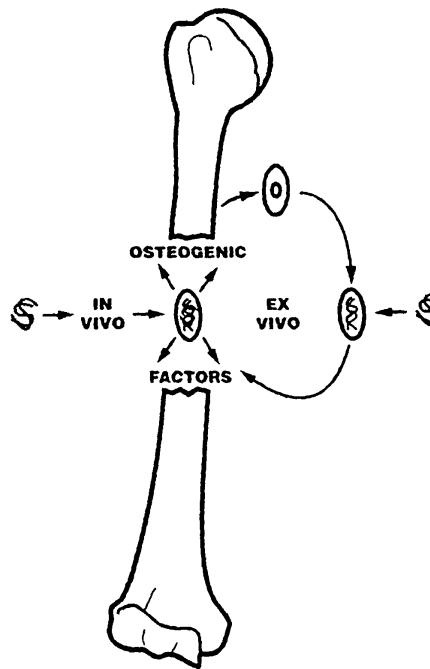


Χωρίς τη βοήθεια κάποιου "φορέα" αυτά είναι μια αναποτελεσματική διαδικασία, όσον αφορά στην τελική έκφραση, την παραγωγή δηλαδή της πρωτεΐνης. Παρόλα αυτά, η τεχνική αυτή του γυμνού DNA (naked DNA) είναι πιο φθηνή και ασφαλής και χρησιμοποιείται σε λίγες περιπτώσεις⁴.

Οι φορείς που χρησιμοποιούνται λοιπόν σήμερα για τη μεταφορά του DNA είναι τα λυσοσώματα και οι ιοί όπως ρετροϊοί ή αδενοϊοί αφού υποστούν κατάλληλη και πολύπλοκη επεξεργασία. Η

συχνότερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι αυτή των ιών που είναι πιο χρονοβόρα και ακριβή αλλά πιο αποτελεσματική. Υπάρχουν δυο τρόποι μεταφοράς των γονιδίων (με φορέα ή όχι) στα κύτταρα στόχους: ο πρώτος απαιτεί τη λήψη κυττάρων από τον οργανισμό, όπως για παράδειγμα κύτταρα του μυελού των οστών, το γενετικό χειρισμό και τροποποίησή τους στο εργαστήριο όπου εισάγεται το DNA με κάποιο φορέα και την επιστροφή τους στον οργανισμό στην επιθυμητή θέση (Ex vivo delivery). Με τη δεύτερη μέθοδο το γονίδιο μέσω ενός φορέα εισάγεται απευθείας στον οργανισμό (In vivo delivery)¹¹ (ΕΙΚΟΝΑ 10). Ο δεύτερος τρόπος (In vivo delivery) είναι πιο απλός και πιο φθηνός, αλλά ο πρώτος (Ex vivo delivery) είναι πιο ασφαλής και επιτρέπει τη μεταφορά γονιδίων που για διάφορους λόγους δεν μπορούν να μεταφερθούν με την in vivo μέθοδο. Οι πειραματικές εργασίες που μαρτυρούν την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής θεραπείας στην πώρωση των καταγμάτων είναι αρκετές^{3, 4, 7, 9, 7}.

Σε μια από αυτές οι Lieberman και συν⁹ χρησιμοποιώντας ex vivo μέθοδο, μετέφεραν κύτταρα με κωδικοποιημένο DNA για την παραγωγή BMP2 στην εστία του κατάγματος και βρήκαν ότι η πώρωση ήταν ταχύτερη στα ζώα που έλαβαν γονιδιακή θεραπεία. Μια ενδιαφέρουσα εργασία είναι αυτή του Baltzer(121) και συν³, η οποία σαν σκοπό είχε να ερευνήσει τη συγκέντρωση πρωτεϊνών που παράγονται στην εστία του κατάγματος και σε άλλους ιστούς, σε σχέση με το χρόνο μετά από γονιδιακή θεραπεία, με άλλα λόγια την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της μεθόδου. Δημιούργησαν λοιπόν ένα οστικό κενό 1,3 cm σε μηριαία κουνελιών, τα οποία σταθεροποιούσαν με πλάκα και βίδες. Στη συνέχεια το κενό ενίωνταν με



Εικόνα 10: Στρατηγική για την εισαγωγή γονιδίων στην εστία του κατάγματος. Η μεταφορά γονιδίων μπορεί να γίνει με απευθείας εισαγωγή (ένεση) στην εστία του κατάγματος (in vivo delivery), είτε με γενετικό χειρισμό και τροποποίηση των κυττάρων στο εργαστήριο και επιστροφή τους στην εστία του κατάγματος.

ουδέτερο διάλυμα, με γονίδια μεταφερόμενα σε αδενοϊούς (ex vivo) και με γονίδια μεταφερόμενα με κολλαγόνο. Οι κωδικοποιημένες πρωτεΐνες στο γονίδιο ήταν η β-γαλακτοσιδάση (lac-Z) και η λουσιφεράση. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν το πλεονέκτημα της εύκολης αναγνώρισης με ιστοχημικές μεθόδους και ενζυμικό υπολογισμό και χρησιμοποιούνται γενικά σαν δείκτες (markers) ώστε να ελέγχεται η αποτελεσματικότητα μιας τεχνικής. Βρήκαν λοιπόν ότι: α) η καλύτερη μέθοδος, που επιτύγχανε υψηλές συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών ήταν αυτή που σαν φορέας χρησιμοποιούνταν ο αδενοϊός, β) η συγκέντρωση των πρωτεϊνών ήταν υψηλή τις πρώτες 2 εβδομάδες και στη συνέχεια μειώνονταν σταδιακά έως την 6η εβδομάδα και γ) ότι εκτός από μικρές συγκεντρώσεις στο ήπαρ τις πρώτες 5 ημέρες οι πρωτεΐνες αυτές δεν ανιχνεύονταν στους πνεύμονες ή τον σπλήνα και τέλος δεν υπήρχαν ενδείξεις φλεγμονής από τον ιό.

Το κεφάλαιο της γονιδιακής θεραπείας στην ενίσχυση της πώρωσης των καταγμάτων βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο και πολλά τεχνικά προβλήματα πρέπει να ξεπερασθούν και να διευκρινισθούν διάφορα ζητήματα. Για παράδειγμα ποια είναι η ιδανική χρονική διάρκεια της παραγωγής των συγκεκριμένων πρωτεϊνών

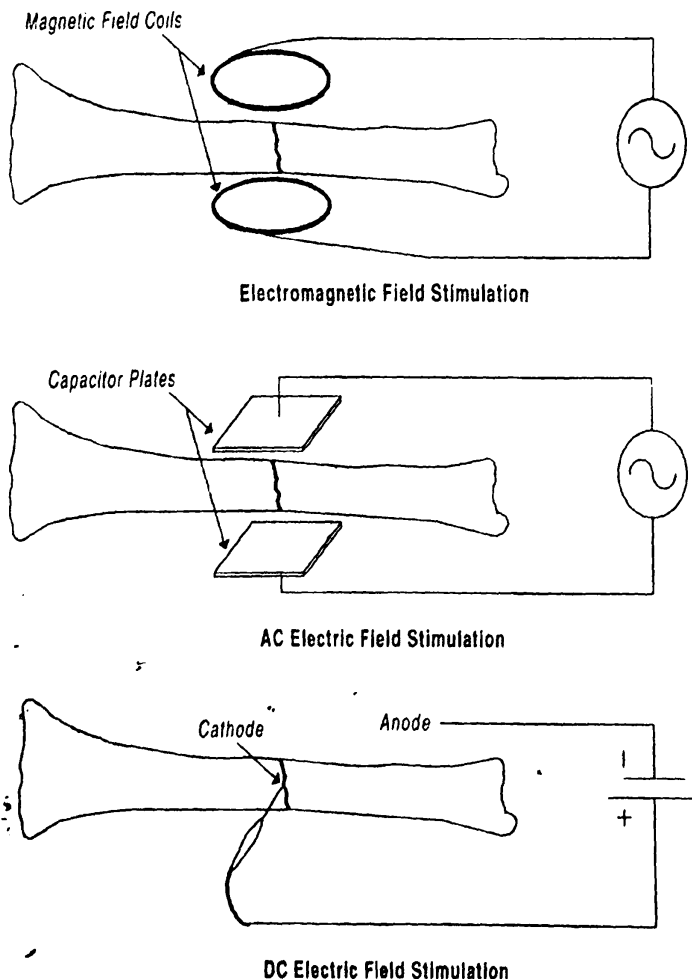


ΒΙΟΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

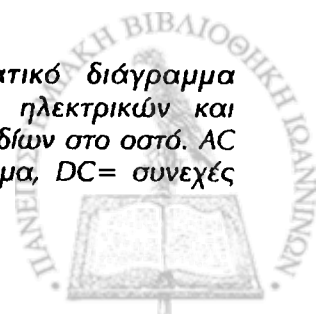
Παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία
pulsed electromagnetic fields-PEMF

Η χρήση των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στην Ιατρική χρονολογείται από τον 15ο αιώνα. Από τότε οι κατά καιρούς ανακοινώσεις υπόσχονταν θεραπεία με τη χρήση των ηλεκτρικών ή ηλεκτρομαγνητικών πεδίων για την επιληψία, τη διάρροια μέχρι τη φαλάκρα και τον καρκίνο^{1, 9}.

Το κεφάλαιο της χρήσης των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στην Ορθοπαιδική ανοίγει το 1957 όταν οι Fukada και Yasuda από την Ιαπωνία ανακοινώνουν ότι, όταν φορτισθεί μηχανικά το ξηρό (dry) οστόύν, τότε δημιουργείται ένα ηλεκτρικό φορτίο^{5, 3}. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο. Μεταγενέστερες μελέτες^{5, 2} απέδειξαν ότι αυτό ισχύει και στο ζωντανό οστόύν και ονόμασαν τα φορτία αυτά βιοηλεκτρικό δυναμικό (bioelectric or streaming potentials). Η υπόθεση λοιπόν που προέκυψε από αυτές τις μελέτες, ήταν ότι η δημιουργία αυτών των ηλεκτρικών δυναμικών είναι ένα σήμα για αλλαγές στις κυτταρικές λειτουργίες οι οποίες με τη σειρά τους θα μπορούσαν ίσως να επηρεάσουν την πώρωση των καταγμάτων και την ανακατασκευή του οστού^{1, 2, 6} (ΕΙΚΟΝΑ 11).



Εικόνα 11: Σχηματικό διάγραμμα τεχνικών εφαρμογής ηλεκτρικών και ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στο οστό. AC = εναλλασσόμενο ρεύμα, DC = συνεχές ρεύμα.



Είναι γνωστό ότι οι πρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης ανταλλάσσουν συνεχώς ιόντα (κυρίως Νατρίου και Καλλίου) και διατηρούν έτσι ένα δυναμικό 40 με 70 mV κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης. Το δυναμικό αυτό είναι βασικό για την κυτταρική λειτουργία και οι μεταβολές του (αποπόλωση ή υπερπόλωση) επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία⁴. Είναι λοιπόν λογικό να υποθέσει κανείς ότι η εφαρμογή εξωτερικών ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, μπορεί να επηρεάσει την κυτταρική λειτουργία και των οστικών κυττάρων. Ήδη ο Yasuda⁶ έδειξε το 1953 ότι η εφαρμογή ηλεκτρικού ρεύματος για 3 εβδομάδες στο μηριαίο κουνελιού είχε σαν αποτέλεσμα σχηματισμό νέου οστού. Ο ίδιος ερευνητής βρήκε ότι, σύμφωνα με την αρχή του πιεζοηλεκτρικού φαινομένου, η πλευρά του οστού που δέχεται συμπιεστικές δυνάμεις αναπτύσσει ένα αρνητικό ηλεκτρικό δυναμικό που ερεθίζει τους οστεοβλάστες για την παραγωγή νέου οστού, ενώ η πλευρά του οστού που δέχεται ελαστικές δυνάμεις αναπτύσσει θετικά φορτία που ερεθίζει τους οστεοκλάστες με αποτέλεσμα απορρόφηση οστού^{6,7}. Αυτή είναι και η αρχή στην οποία στηρίζεται η διαδικασία της ανακατασκευής (remodeling) του οστού.

Βασιζόμενοι στα παραπάνω οι Tabrah και συν^{1,5,2} βρήκαν ότι η επίδραση των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων (πιθανόν σαν ισοδύναμο μηχανικής φόρτισης), αυξάνει την οστική πυκνότητα και ελαττώνει την οστεοπόρωση.

Παρόλο όμως που πολλές πειραματικές και κλινικές μελέτες έχουν αποδείξει τη χρησιμότητα του PEMF στη θεραπεία των ψευδαρθρώσεων και την ενίσχυση της πώρωσης ο μηχανισμός δράσης τους είναι κατά βάση άγνωστος. Έχει προταθεί ότι η αύξηση του PH και η χαμηλή πίεση O₂ με την εφαρμογή του PEMF (η κάθοδος καταναλώνει τοπικά O₂ και ελευθερώνει υδροξύλια) ευνοεί τον σχηματισμό οστού.

Μια άλλη θεωρία⁴ υποστηρίζει ότι η επίδραση των PEMF αυξάνει την έκκριση του IGF, ενός αυξητικού παράγοντα που προάγει την πώρωση. Άλλοι ερευνητές τέλος υποστηρίζουν ότι η επίδραση των PEMF αυξάνει τη συγκέντρωση των TGF-β και BMP οι οποίοι με τη σειρά τους προάγουν την ενδοχόνδρινη οστεοποίηση^{1,11}.

Ίσως αυτό να είναι μια λογική εξήγηση, επειδή η πλειονότητα των δημοσιευμένων κλινικών μελετών εστιάζεται στη θεραπεία των ψευδαρθρώσεων (στάδιο κατά το οποίο έχει ανασχεθεί η διαφοροποίηση σε οστίτη ιστό) με την επίδραση των PEMF.

Οι Brighton και συν.¹⁰ αναφέρουν ποσοστό πώρωσης 78% σε μια πολυκεντρική μελέτη που περιελάμβανε 258 ασθενείς, ποσοστό που είναι όπως τονίζεται από τους συγγραφείς, συγκρίσιμο μ' αυτό που επιτυγχάνεται μετά από θεραπεία ψευδαρθρώσεων με οστικό μόσχευμα.

Οι Heckman και συν.⁶ επίσης αναφέρουν υψηλό ποσοστό (64%), σε μια σειρά 149 ασθενών 2,5 χρόνια κατά μέσο όρο μετά τον αρχικό τραυματισμό.

Η επίδραση των PEMF στην προαγωγή της πώρωσης μελετήθηκε από τους Mammi και συν.^{10,2} σε μια μελέτη που περιελάμβανε 40 ασθενείς με οστεοτομίες

κνήμης για θεραπεία αρθρίτιδας του γόνατος. Η οστεοτομία σταθεροποιούνταν με μια αγκράφα και μετεγχειρητικά, οι μισοί ασθενείς υποβλήθηκαν σε θεραπεία με PEMF για 8 ώρες καθημερινά για διάστημα 3 μηνών και μισοί σε placebo θεραπεία. Ο ακτινολογικός έλεγχος έδειξε ότι στο 72% των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με PEMF οι οστεοτομίες πωρώθηκαν 60 μέρες μετεγχειρητικά ενώ μόνο στο 26% των ασθενών που έλαβαν placebo θεραπεία.

Τέλος, μόνο μια μελέτη^{4,6} υπάρχει όσον αφορά τη δράση των PEMF στη διατακτική οστεογένεση, σε μια σειρά 13 ασθενών. Η μελέτη έδειξε ότι δεν υπήρξε διαφορά, μεταξύ των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με PEMF κατά τη διάρκεια της επιμήκυνσης του άκρου και αυτών που δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία, όσον αφορά στο χρόνο της πώρωσης. Οι ασθενείς όμως που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με PEMF είχαν λιγότερη οστεοπενία στο αναγεννηθέν οστόν.

Σε όλες τις παραπάνω μελέτες η ένταση των PEMF ήταν πολύ μικρή (της τάξεως του mV σε συχνότητες 10-100 KHz), επειδή βρέθηκε ότι αυτά τα επίπεδα είναι αρκετά για να επηρεάσουν την κυτταρική δραστηριότητα^{1,5,8}.

Συμπερασματικά λοιπόν, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η επίδραση των PEMF έχει καλά αποτελέσματα στη θεραπεία των ψευδαρθρώσεων ιδιαίτερα των υπερτροφικών και λιγότερο των ατροφικών¹¹. Όσον αφορά στην επίδρασή τους στην πώρωση των καταγμάτων και την κατανόηση του μηχανισμού δράσης τους, χρειάζονται περισσότερες μελέτες που θα απαντήσουν σε ερωτήματα όπως εάν ενδείκνυται η χρήση τους σε φρέσκα κατάγματα και σε ποια, η ασφάλεια της χρήσης τους και τέλος, η χρησιμότητά τους σε σύγκριση με παρόμοιες μορφές θεραπείας.

ΥΠΕΡΗΧΟΙ

Γενικές αρχές εφαρμογής υπερήχων

Οι υπέρηχοι δεν είναι τίποτε άλλο παρά υψηλής συχνότητας ακουστικά κύματα τα οποία δεν μπορεί να συλλάβει το ανθρώπινο αυτί. Φυσιολογικά το αυτί μας μπορεί να συλλάβει ήχους στις συχνότητες μεταξύ 16 και 20.000 Hertz (Hz). Οι ήχοι πάνω από 20.000 Hz αποτελούν το φάσμα των υπερήχων.

Οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται στην Ιατρική ευρύτατα σαν διαγνωστικό αλλά και θεραπευτικό μέσο. Ειδικά τα τελευταία 20 χρόνια η ευρεία χρήση τους έχει καταστήσει σαν την δεύτερη, μετά από την απλή ακτινογραφία, πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο για απεικονιστικούς σκοπούς^{1,4,8}.

Είναι ενδιαφέρον εδώ να αναφέρουμε ότι, αν και οι υπέρηχοι είναι γνωστοί από την εποχή των ακτίνων Χ, η χρήση τους στην Ιατρική συμπίπτει με το τέλος του Β' Παγκοσμίου Πολέμου^{1,4,8}. Κατά την διάρκεια αυτή, χρησιμοποιήθηκαν για την αναγνώριση υποβρυχίων, οπότε η εκτεταμένη μελέτη τους από την πολεμική

βιομηχανία μας εφοδίασε με τις αρχικές βασικές γνώσεις.

Οι υπέρηχοι, στις συσκευές ιατρικών χρήσεων, παράγονται από τον μεταλλάκτη (transducer). Ο μεταλλάκτης είναι μια συσκευή που μετατρέπει ένα είδος ενέργειας σε ένα άλλο. Το βασικό συστατικό του μεταλλάκτη είναι ο πιεζοηλεκτρικός κρύσταλλος ο οποίος έχει την ιδιότητα, όταν παραμορφωθεί με ηλεκτρικό ρεύμα να παράγει ένα υπερηχητικό κύμα, φαινόμενο το οποίο είναι γνωστό ως πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο. Αντιστρόφως, όταν ένα υπερηχητικό κύμα κατά την ανάκλαση του χτυπήσει πάνω στον μεταλλάκτη, τότε θα δημιουργήσει ηλεκτρικό ρεύμα το οποίο με κατάλληλη επεξεργασία μετατρέπεται σε φωτεινό σήμα το οποίο μπορεί να καταγραφεί σε οθόνη³.

Έτσι λοιπόν, κάθε φορά που εφαρμόζεται στιγμιαία ηλεκτρικό ρεύμα στον μεταλλάκτη, εκπέμπεται ένα υπερηχητικό κύμα το οποίο ακολουθεί τους κανόνες που διέπουν την Ηχητική. Προχωρεί δηλαδή ευθύγραμμα και όταν προσπέσει σε μια επιφάνεια, μπορεί να ανακλαστεί, να διαθλαστεί (περαιτέρω διάδοση του κύματος) ενώ ένα μέρος απορροφάται (μετατρέπεται σε θερμική ενέργεια). Η γωνία ανακλάσεως είναι ίση με την γωνία προσπτώσεως. Το ανακλώμενο κύμα προσκρούει στον πιεζοηλεκτρικό κρύσταλλο που στο μεταξύ ηρεμεί, δημιουργεί ηλεκτρικό ρεύμα το οποίο καταγράφεται και μετατρέπεται σε φωτεινό σήμα.

Το υπερηχητικό κύμα που παράγεται, είναι μια μορφή ενέργειας που έχει σαν χαρακτηριστικό την περιοδική εναλλαγή πυκνωμάτων και αραιώσεων των μορίων του υλικού (μέσου) που διαδίδεται. Αυτή η διαδοχική μπρος-πίσω κίνηση των μορίων επαναλαμβάνεται συνεχώς (με την μορφή κύματος) κατά την διάδοση των υπερήχων σε ένα μέσο.

Ως πλήρης κύκλος, ορίζεται κάθε επανάληψη αυτής της μπρος-πίσω κίνησης των μορίων (πυκνωμάτων και αραιώσεων). Η απόσταση που απαιτείται για να ολοκληρωθεί αυτός ο κύκλος είναι το μήκος κύματος (λ). Ως περίοδος (T), ορίζεται ο χρόνος που χρειάζεται για να ολοκληρωθεί ένας πλήρης κύκλος. Ως συχνότητα (Frequency) ορίζεται ο αριθμός των κύκλων που παράγονται από τον μεταλλάκτη ανά δευτερόλεπτο και έχει ως μονάδα μέτρησης το Hertz (Hz). Ένα Hz είναι ένας κύκλος ανά δευτερόλεπτο. Το ένα MHz είναι 1.000.000 c/sec. Ο όρος Hertz δόθηκε προς τιμήν του διάσημου Γερμανού φυσικού Heinrich R. Hertz που πέθανε το 1894.

Η ένταση τέλος του υπερηχητικού κύματος, εξαρτάται από το πόσο έντονα συμπιέζονται (δονούνται) και αποσυμπιέζονται τα μόρια του μέσου κατά την αγωγή του κύματος και εκφράζεται σε Watt ανά τετραγωνικό εκατοστό (W/cm^2). Όσο λοιπόν μεγαλύτερη είναι η δύναμη κρούσης, τόσο μεγαλύτερη η ένταση του υπερηχητικού κύματος. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι η ενέργεια που μεταβιβάζεται στο μέσον είναι πολύ μεγαλύτερη σε ένα υψηλής εντάσεως υπερηχητικό κύμα σε σχέση με ένα χαμηλής εντάσεως υπερηχητικό κύμα. Αυτό έχει, όπως θα δούμε παρακάτω, πρακτική εφαρμογή στην θεραπευτική χρήση των υπερήχων.

Μεγάλη σημασία για την "συμπεριφορά" του υπερηχητικού κύματος έχει το μέσον που αυτό μεταβιβάζεται. Έτσι π.χ η ταχύτητα διάδοσης του ήχου διαφέρει τα μέγιστα από υλικό σε υλικό. Στον πίνακα 3 αναγράφονται οι τιμές της ταχύτητας μετάδοσης του ήχου σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς. Η ταχύτητα του ήχου είναι ανεξάρτητη από την συχνότητα του υπερηχητικού κύματος και εξαρτάται κυρίως από την πυκνότητα του υλικού που αυτό μεταδίδεται³.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. Ταχύτητα του ήχου σε διάφορα υλικά

ΥΛΙΚΟ	TACHYTHTA (m/sec)
Αέρας	331
Λίπος	1450
Νερό (50° C)	1500
Υδράργυρος	1540
Εγκέφαλος	1542
Ήπαρ	1550
Αίμα	1570
Μύες	1585
Οστό (κρανίο)	4080
Αλουμίνιο	6400

Η διαγνωστική ικανότητα των υπερήχων στηρίζεται στο φαινόμενο της ανάκλασης (βλ. παραπάνω). Το ποσοστό του ανακλώμενου κύματος εξαρτάται από δυο παράγοντες: α) την ακουστική εμπέδηση (Z) (acoustic impedance) των ιστών και β) την γωνία προσπτώσεως του ηχητικού κύματος.

Η ακουστική εμπέδηση (Z) είναι θεμελιώδης ιδιότητα στην ηχητική και υπολογίζεται από το γινόμενο της πυκνότητας (ρ) του μέσου που διαδίδεται ο ήχος και την ταχύτητα (V) διάδοσης του ήχου στο συγκεκριμένο ιστό $Z = \rho \cdot V$. Για παράδειγμα η ακουστική εμπέδηση του νερού (δοθείσης ότι η ταχύτητα είναι $V = 154.000 \text{ cm/sec}$ και η πυκνότητα $\rho = 1 \text{ g/cm}^3$) είναι $Z = 154.000 \text{ g/cm}^2 \cdot \text{sec}$. Επειδή αυτό είναι μεγάλο νούμερο, διαιρούμενο διά του 100.000 μας δίνει μια τιμή 1,54 Rayl ($\text{g/cm}^2 \cdot \text{sec}$) όπου Rayl είναι η μονάδα μέτρησης της ακουστικής εμπέδησης. Ο πίνακας 4 μας δίνει τις τιμές της ακουστικής εμπέδησης διαφόρων ιστών. Καθώς το ηχητικό κύμα περνά από τον έναν ιστό στον άλλον, το ποσό της ανάκλασης προσδιορίζεται από την διαφορά της ακουστικής εμπέδησης μεταξύ των δυο ιστών με τον τύπο $R = \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1}$ όπου R είναι το ανακλώμενο ποσό του ηχητικού κύματος.



ΠΙΝΑΚΑΣ 4. Τιμές ακουστικής εμπίδησης διφόρων υλικών

ΥΛΙΚΟ	ΑΚΟΥΣΤΙΚΗ ΕΜΠΕΔΗΣΗ ($\text{Rayl} \cdot \text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec} \times 10^5$),
Αέρας	0.0004
Λίπος	1,38
Νερό (50° C)	1.54
Υδράργυρος	1.97
Εγκέφαλος	1.58
Ήπαρ	1.65
Αίμα	1.61
Μύες	1.70
Οστό (κρανίο)	7.80
Αλουμίνιο	40.20

Σημειώστε ότι οι διαφορές μεταξύ των διαφόρων ιστών εκτός του αέρα και του οστού είναι πολύ μικρές. Έτσι για παράδειγμα, η ενδιάμεση επιφάνεια αέρα-δέρματος, σύμφωνα με τον παραπάνω τύπο, θα ανακλά πάνω από το 99% του ηχητικού κύματος και δεν θα υπήρχε διαθέσιμο ποσό για την αναπαραγωγή εικόνας, εάν υποθέσουμε ότι τοποθετούσαμε την ηχοβόλο κεφαλή σε κάποια απόσταση από το προς εξέταση σημείο. Αυτός είναι και ο λόγος που ο μεταλλάκτης τοποθετείται κατευθείαν πάνω στο δέρμα με την παρεμβολή γλοιώδους υλικού.

Η γωνία προσπτώσεως του ηχητικού κύματος, είναι ο δεύτερος παράγοντας που καθορίζει το ποσοστό του ανακλώμενου κύματος. Η γωνία προσπτώσεως και ανακλάσεως είναι ίδια, όπως συμβαίνει και με τους νόμους που διέπουν την μετάδοση του φωτός. Επίσης, καθώς ο ήχος μεταδίδεται από το ένα μέσο στο άλλο, ένα ποσοστό διαθλάται (μετάδοση δηλαδή του ηχητικού κύματος σε άλλον ιστό). Για να υπολογιστούν όλα τα παραπάνω χρειάζονται επιπλέον μαθηματικοί τύποι (νόμος του Snell) η ανάλυση των οποίων ξεφεύγει από τα όρια του παρόντος πονήματος^{3,7}.

Με τα σύγχρονα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για την απεικονιστική υπερηχοτομογραφία, η εικόνα δεν είναι σκέτο άσπρο-μαύρο αλλά έχει ενδιάμεσους χαρακτήρες γκριζου. Η μορφή αυτή καταγραφής ονομάστηκε Gray-scale και οι δυνατότητες που έχουν σήμερα τα σύγχρονα μηχανήματα είναι μεγάλες.

Είναι γνωστό σήμερα ότι οι υπέρηχοι ως διαγνωστικό μέσο χρησιμοποιούνται ευρύτατα, λόγω του μη επεμβατικού χαρακτήρα τους, στην Γυναικολογία, Μαιευτική, Καρδιολογία, Ουρολογία, Αγγειοχειρουργική και σε άλλες ειδικότητες. Στην Ορθοπαιδική η χρήση τους επεκτάθηκε την τελευταία δεκαετία και χρησιμοποιούνται με επιτυχία για την διαγνωστική των βλαβών των περιαρθρικών στοιχείων της άρθρωσης του ώμου, του συγγενούς εξάρθρωματος του ισχίου, για τον διαχωρισμό κυστικών και συμπαγών όγκων των μαλακών μορίων, αλλά και για

πληθώρα άλλων παθήσεων (π.χ ρήξη Αχιλλείου τένοντα).

Οι συχνότητες που χρησιμοποιούνται για την διαγνωστική των υπερήχων, κυμαίνονται από 1 έως 10 MHz ενώ η έντασή τους είναι χαμηλή ($1-50 \text{ mW/cm}^2$) ακριβώς για να μην προκαλούν βλάβη στους ιστούς γιατί αυτά τα επίπεδα θεωρούνται ασφαλή^{1,2}.

Αντίθετα, οι υπέρηχοι που χρησιμοποιούνται για θεραπευτικούς σκοπούς είναι πολύ πιο υψηλής έντασης. Για παράδειγμα, η χρήση τους για ανακούφιση από τον μυϊκό σπασμό, τον πόνο και την βελτίωση της κινητικότητας μιας άρθρωσης, φθάνει μεταξύ 1 και 3 W/cm^2 ³⁷. Η διάσπαση λίθων, η απομάκρυνση τσιμέντου στις αναθεωρήσεις ολικών αρθροπλαστικών του ισχίου και η θεραπεία του καταρράκτη απαιτούν εντάσεις μεταξύ $5-300 \text{ W/cm}^2$ ¹⁵⁹. Ακόμη υψηλότερες εντάσεις $300-2000 \text{ W/cm}^2$ χρησιμοποιούνται για την θεραπεία της υπερτροφίας του προστάτη. Τελευταία οι υπέρηχοι υψηλής έντασης άρχισαν να χρησιμοποιούνται και στην Χειρουργική Ογκολογία για την καταστροφή των όγκων^{4,5}.

Η φιλοσοφία για ορισμένες από τις παραπάνω θεραπευτικές ενότητες, βασίζεται στο γεγονός ότι η τοπική έκθεση του παθολογικού ιστού σε υπερήχους υψηλής έντασης προκαλεί τοπικά μεγάλη αύξηση της θερμοκρασίας ($43-45^\circ$ ή $70-90^\circ$) ανάλογα με την ένταση που χρησιμοποιείται με συνέπεια τον θάνατο των παθολογικών κυττάρων, ενώ η θερμοκρασία στους γύρω φυσιολογικούς ιστούς παραμένει σε ασφαλή επίπεδα^{4,5}.

Προαγωγή της πώρωσης (οστεγένεσης) με υπερήχους χαμηλής έντασης.

Η εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης στην εστία του κατάγματος ανήκει, όπως και τα παλλόμενα ηλεκτρομαγνητικά κύματα, στις βιοφυσικές μεθόδους προαγωγής της οστεογένεσης και άρχισε να εφαρμόζεται σε πειραματικό και κλινικό επίπεδο την τελευταία 20ετία.

Αν και οι βιολογικές μέθοδοι που αναφέρθηκαν είναι υποσχόμενες, το μεγάλο ερωτηματικό είναι κατά πόσον επηρεάζουν σημαντικά την πολύπλοκη διαδικασία της πώρωσης στα διάφορα στάδια, μιας και η παρέμβασή τους εστιάζεται σε κάποιο στάδιο ή σε κάποιο μηχανισμό της διαδικασίας αυτής. Για παράδειγμα, η εισαγωγή μιας μορφογενετικής πρωτεΐνης ή ενός γονιδίου στην εστία του κατάγματος την 5^η μετατραυματική ημέρα, πόσο μπορεί να επηρεάσει την μετάλλωση του ανώριμου οστού; Ένα υποκατάστατο οστικού μοσχεύματος επηρεάζει την ικανότητα της πώρωθής της περιοχής για ανακατασκευή; Πέρα από αυτό, τεχνικά προβλήματα που συνδέονται με την ασφαλή πρόσληψη μιας πρωτεΐνης ή ενός γονιδίου και την επιβίωσή τους, η ασφάλειά τους, όσον αφορά την τοξικότητά τους, είναι θέματα τα οποία δεν έχουν αποσαφηνισθεί πλήρως. Αυτός άλλωστε είναι και ο λόγος που οι

μέθοδοι αυτοί δεν έχουν πάρει έγκριση από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (F.D.A) για κλινική εφαρμογή.

Οι βιοφυσικές μέθοδοι από την άλλη μεριά, με την δυνατότητα της συνεχούς εφαρμογής στην εστία του κατάγματος με μη επεμβατικό τρόπο, μπορούν να επηρεάζουν την διαδικασία της πώρωσης σε διάφορα στάδια καθ'όλη την πορεία αυτής. Εκτός από τους επιμέρους μηχανισμούς της πώρωσης που επηρεάζουν αυτές οι μέθοδοι, προσφέρουν δια της ενέργειας που μεταβιβάζουν μηχανικό ερεθισμό της περιοχής, ο οποίος σύμφωνα με τον νόμο του Wolff βοηθά την οστεογένεση και που τώρα δεν υπάρχει λόγω του τραύματος^{6,3}.

Η εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης στην εστία του κατάγματος, είναι η μόνη παρεμβατική μέθοδος που έχει πάρει έγκριση από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (F.D.A) για την προαγωγή της πώρωσης σε φρέσκα κατάγματα^{5,1}.

Η χρήση των παλλόμενων ηλεκτρομαγνητικών πεδίων επιτρέπεται μόνο σε θεραπεία εγκατεστημένων ψευδαρθρώσεων 9 μήνες μετά το κάταγμα^{6,3}. Αυτό βέβαια, δεν σημαίνει ότι οι υπέρηχοι είναι πανάκεια στο συγκεκριμένο ζήτημα, αλλά τουλάχιστον ότι υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις και αποδείξεις από πολλές πειραματικές και κλινικές μελέτες, ότι οι υπέρηχοι έχουν ισχυρή επίδραση στην προαγωγή και επιτάχυνση της πώρωσης.

Το επίπεδο της έντασης των υπερήχων που χρησιμοποιήθηκε στις μελέτες αυτές, κυμαίνεται στο επίπεδο των 30mW/cm^2 στην πλειονότητα των περιπτώσεων, ίδιο δηλαδή με αυτό που χρησιμοποιείται για διαγνωστικούς σκοπούς και που έχει αποδειχθεί ότι είναι ασφαλές.

Από ιστορικής άποψης, πρέπει να πούμε ότι οι πρωτοπόροι στο θέμα αυτό ήταν οι Xavier και Duarte δυο επιστήμονες από το Sao Paulo της Βραζιλίας. Πρώτοι λοιπόν το 1983 αναφέρουν την επιτυχή εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης (30mW/cm^2) στην θεραπεία ψευδαρθρώσεων^{1,6,3}. Την ίδια χρονιά ο Duarte^{3,6} χρησιμοποιώντας ιστολογικά και ακτινολογικά κριτήρια αναφέρει επιτάχυνση της πώρωσης σε οστεοτομία περόνης σε κουνέλια μετά από εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης (49mW/cm^2) διάρκειας 15 λεπτών καθημερινώς.

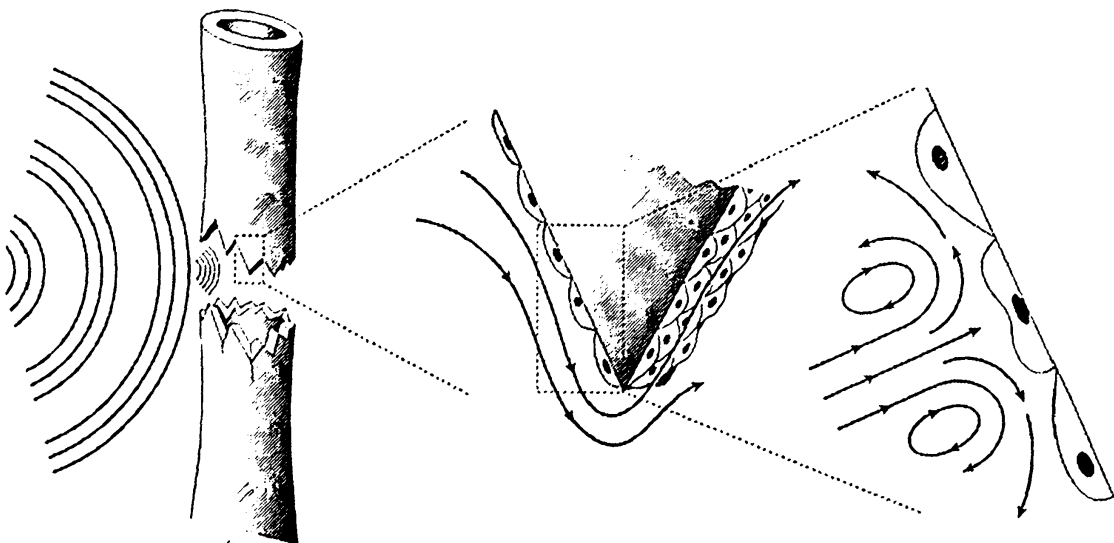
Ο Pilla και συν^{1,2,5} χρησιμοποιώντας σαν μοντέλο οστεοτομία περόνης σε κουνέλια και καθημερινή έκθεση της οστεοτομίας σε υπερήχους χαμηλής έντασης - 30mW/cm^2 και συχνότητας 1.5MHZ 20 λεπτά καθημερινώς, αποδεικνύουν με εμβιομηχανικά κριτήρια την επιτάχυνση της πώρωσης στα ζώα που έλαβαν θεραπεία με υπερήχους. Την 17^η μετεγχειρητική ημέρα, τα οστά των ζώων που έλαβαν θεραπεία ήταν το ίδιο δυνατά με την άθικτη περόνη του άλλου σκέλους. Αντίθετα, χρειάστηκαν 28 ημέρες για να επιτευχθεί το ίδιο αποτέλεσμα στα ζώα που δεν έλαβαν θεραπεία.

Οι Wang και συν.^{1,5} στην μελέτη τους ερεύνησαν το αποτέλεσμα της εφαρμογής

υπερήχων χαμηλής έντασης με διαφορετικές συχνότητες. Χρησιμοποίησαν λοιπόν ως μοντέλο οστεοτομία μηριαίου άμφω σε 3 ομάδες ποντικών. Μια ομάδα έλαβε θεραπεία με υπερήχους καθημερινώς για 20 λεπτά εντάσεως 30mW/cm^2 και συχνότητας 0.5MHz , η δεύτερη με την ίδια ένταση και συχνότητα 1.5MHz και η τρίτη καθόλου. Την 21^η μετεγχειρητική ημέρα, η εμβιομηχανική ανάλυση έδειξε ότι η αντοχή των οστών της δεύτερης ομάδος (1.5MHz) ήταν 22.5% μεγαλύτερη από το αντίθετο άκρο, της πρώτης (0.5MHz) 22.1%, ενώ στην τρίτη (μη θεραπεία) δεν υπήρχε διαφορά. Τα αποτελέσματά τους λοιπόν, έδειξαν ότι η θεραπεία με υπερήχους χαμηλής έντασης επιταχύνει την πώρωση, αλλά οι διαφορετικές συχνότητες δεν είχαν στατιστικώς σημαντική επίδραση στο τελικό αποτέλεσμα.

Αυτές οι μελέτες μαζί με άλλες κατοπινές^{7,8} αποτέλεσαν την πειραματική θεμελίωση ότι οι υπέρηχοι έχουν την δυνατότητα να επιταχύνουν την οστεογένεση. Ωστόσο, παρά τα παραπάνω καλώς τεκμηριωμένα παραδείγματα, ο μηχανισμός δράσης των υπερήχων χαμηλής έντασης παραμένει κατά βάση άγνωστος.

Ένας πιθανός μηχανισμός είναι αυτός που προτείνεται στην εικόνα 12. Καθώς οι υπέρηχοι περνάνε δια των ιστών, ένα ποσοστό της ενέργειας αυτής απορροφάται αναλόγως της πυκνότητας του ιστού. Αυτή η διαφορά στην απορρόφηση, πιθανώς παίζει έναν σημαντικό ρόλο ώστε να συγκεντρώνει το κύμα των υπερήχων στην καταγματική περιοχή που έχει χαμηλότερη πυκνότητα από το οστόύν. Η απορρόφηση της ενέργειας αυτής συμβάλλει στην αλλαγή του κυτταρικού σχήματος, του δυναμικού της μεμβράνης και τελικά σε διαφορετική κυτταρική



Εικόνα 12: Διάγραμμα που εξηγεί τον πιθανό μηχανισμό με τον οποίο ερεθίζονται μηχανικά τα κύτταρα από το υπερηχητικό κύμα. Από τα αριστερά προς τα δεξιά: Καθώς το υπερηχητικό κύμα προσκρούει στο οστό επικεντρώνεται στην εστία του κατάγματος (αριστερά) λόγω της χαμηλότερης πυκνότητας στην περιοχή αυτή, σε σχέση με την υψηλή πυκνότητα του οστού και των μαλακών μορίων. Το υπερηχητικό κύμα καθώς προσκρούει στην περιοχή του κατάγματος (μέσον) ερεθίζει μηχανικά τους ινοβλάστες, χρονοδροβλάστες και οστεοβλάστες της περιοχής. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την παραμόρφωση των κυττάρων (δεξιά) η οποία δρα ως ερέθισμα για μεταβολή της κυτταρικής λειτουργίας.

λειτουργία.

Επίσης, η απορρόφηση της ενέργειας αυτής, οδηγεί εκτός των άλλων σε αύξηση της θερμοκρασίας της περιοχής, η οποία παρόλο που είναι πολύ μικρή ($<1^{\circ}\text{C}$) είναι ικανή να ευαισθητοποιεί ορισμένα ένζυμα (κολλαγενάσες) τα οποία είναι εξαιρετικά ευαίσθητα σε μικρές αλλαγές της θερμοκρασίας^{5,9}. Έτσι λοιπόν είναι πιθανόν ότι οι υπέρηχοι παρεμβαίνουν στην λειτουργία των ενζύμων. Τελικώς οι υπέρηχοι, μέσω της ενέργειας που μεταφέρουν, μπορεί να επιφέρουν αλλαγές σε μοριακό και βιοχημικό επίπεδο και να επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία. Αυτό άλλωστε είναι ένα ερώτημα που μελετάται σήμερα σε πολλά εργαστήρια παγκοσμίως.

Μια τέτοια *in vitro* μελέτη^{1,8} έδειξε ότι οι υπέρηχοι μεταβάλλουν την αναλογία ανταλλαγής ιόντων K^{+} στην μεμβράνη των θυμοκυττάρων του ποντικίου.

Οι Ryaby και συν.^{1,4} αναφέρουν ότι οι υπέρηχοι χαμηλής έντασης, αυξάνουν την σύνθεση του αυξητικού παράγοντα TGF β και την δραστηριότητα της αδενυλκυκλάσης στους οστεοβλάστες. Ο ίδιος συγγραφέας (160) αναφέρει αυξημένη ενσωμάτωση ασβεστίου, σε καλλιέργειες χόνδρινων και οστικών κυττάρων με την εφαρμογή υπερήχων^{1,3,9}.

Τα πειράματα αυτά δείχνουν την ικανότητα των υπερήχων να επηρεάζουν την κυτταρική λειτουργία, με απώτερο στόχο την προαγωγή της πώρωσης. Αν όμως αυτό είναι αλήθεια, θα πρέπει επίσης οι υπέρηχοι να επηρεάζουν την γονιδιακή έκφραση ορισμένων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην διαδικασία της πώρωσης. Πράγματι, οι Wu και συν.^{1,6,2} έδειξαν ότι καλλιέργειες χονδροκυττάρων που υπόκεινται σε έκθεση με υπερήχους χαμηλής έντασης, παράγουν σε αυξημένο ποσοστό μια πρωτεΐνη που ονομάζεται aggrecan. Κατά την διάρκεια της ενδοχόνδρινης οστεοποίησης, αυτή η πρωτεΐνη προκαλεί συγκέντρωση (συμπλοκοποίηση) της υαλουρονιδάσης, ντεκορίνης και των βιογλυκινών, οι οποίες είναι απαραίτητες για την σύνθεση του κολλαγόνου II, μιας πρωτεΐνης κλειδί στα πρώτα στάδια δημιουργίας του πώρου.

Για να επιβεβαιώσουν *in vivo* το παραπάνω εύρημα οι Yang και συν.^{1,6,4} χρησιμοποίησαν σε οστεοτομίες μηριαίου σε ποντίκια (άμφω) υπερήχους χαμηλής έντασης όπου θεραπεία ελάμβανε μόνο το ένα άκρο. Η εμβιομηχανική ανάλυση έδειξε ότι την 21^η ημέρα τα οστά που έλαβαν θεραπεία ήταν πιο ανθεκτικά και επιπλέον ο βιοχημικός έλεγχος, απέδειξε ότι η γονιδιακή έκφραση της πρωτεΐνης που αναφέρθηκε πιο πάνω (aggrecan) ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη ($p=0.033$) την 7^η μετεγχειρητική ημέρα σε αυτά τα οστά.

Λαμβάνοντας υπόψιν τον ρόλο που παίζουν οι πρωτεογλυκάνες στην οργάνωση του χόνδρου και του οστού στα πρώιμα στάδια της πώρωσης αυτό είναι ένα σημαντικό εύρημα.

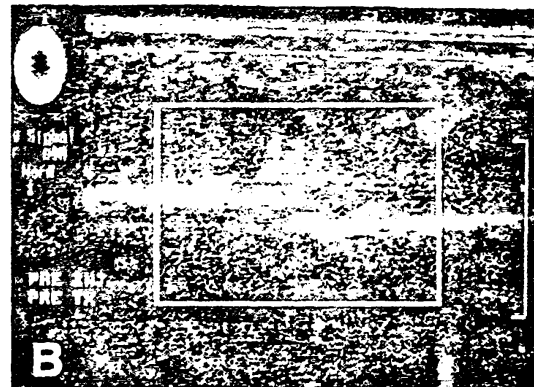
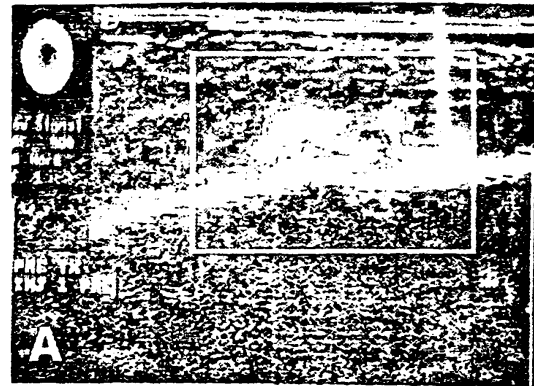
Σε μια άλλη *in vivo* μελέτη οι Hadjiargyrou και συν.^{6,2} βρήκαν (μοντέλο

οστεοτομίας μηριαίου άμφω σε ποντίκια), ότι η γονιδιακή έκφραση της οστεοποντίνης διατηρούνταν σε υψηλά επίπεδα, έως και την 10^η μετεγχειρητική ημέρα στην περιοχή του πώρου σε οστά που έλαβαν θεραπεία με υπερήχους χαμηλής έντασης. Αντίθετα στα οστά μάρτυρες, η έκφραση της πρωτεΐνης αυτής ήταν σαφώς μειωμένη την αντίστοιχη περίοδο.

Ταυτόχρονα, ένας άλλος μηχανισμός δράσης των υπερήχων είναι η ικανότητα που έχουν στην αύξηση της αιματικής ροής στην περιοχή που εφαρμόζονται. Μια πειραματική επιβεβαίωση αυτής της δυνατότητας των υπερήχων, έρχεται από τον Rawool και συν.¹²⁷ οι οποίοι παρατήρησαν αυξημένη αιματική ροή στην περιοχή του πώρου (οστεοτομία ωλένης σε σκυλιά) μετά από βραχύχρονη θεραπεία 10 ημερών με υπερήχους. Το εντυπωσιακό μάλιστα ήταν, ότι αυτή η αυξημένη αιματική ροή παρέμενε για αρκετό χρονικό διάστημα μετά το πέρας της θεραπείας. Η αύξηση αυτή της αιματικής ροής επιβεβαιώθηκε με υψηλής ανάλυσης Doppler και ήταν ευθέως ανάλογη με το ποσό του σχηματισθέντος πώρου (ΕΙΚΟΝΑ 13). Είναι βέβαια γνωστό, πόσο σημαντικό ρόλο παίζει η αιμάτωση της περιοχής στην δημιουργία του πώρου, μεταφέροντας όλους τους παράγοντες (αρχέγονα κύτταρα, αυξητικούς παράγοντες κ.λ.π) και είναι ενδιαφέρον ότι αυτό μπορεί να επιτευχθεί με μια μη επεμβατική τεχνική.

Ενδιαφέρον όμως παρουσιάζουν και οι κλινικές μελέτες. Όπως τονίσθηκε νωρίτερα, πρώτοι οι Xavier και Duarte¹⁶ εφάρμοσαν υπερήχους χαμηλής έντασης σε ψευδαρθρωμένα οστά. Είναι λοιπόν λογικό το γεγονός ότι οι συγκεκριμένοι συγγραφείς παρουσίασαν αργότερα μια σειρά 385 ψευδαρθρώσεων σε μια περίοδο 12 ετών με μέσο όρο 14 μήνες από τον τραυματισμό μέχρι την έναρξη της θεραπείας³⁵. Το ποσοστό επιτυχίας της πώρωσης ήταν 85%.

Πολύ ενδιαφέρουσα είναι μια πολυκεντρική διπλή τυφλή μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Heckmann και συν.⁶ σε 67 κατάγματα κνήμης, κλειστά ή ανοιχτά 1^{ου} βαθμού που υποβλήθηκαν σε συντηρητική θεραπεία. Τριάντα τρεις

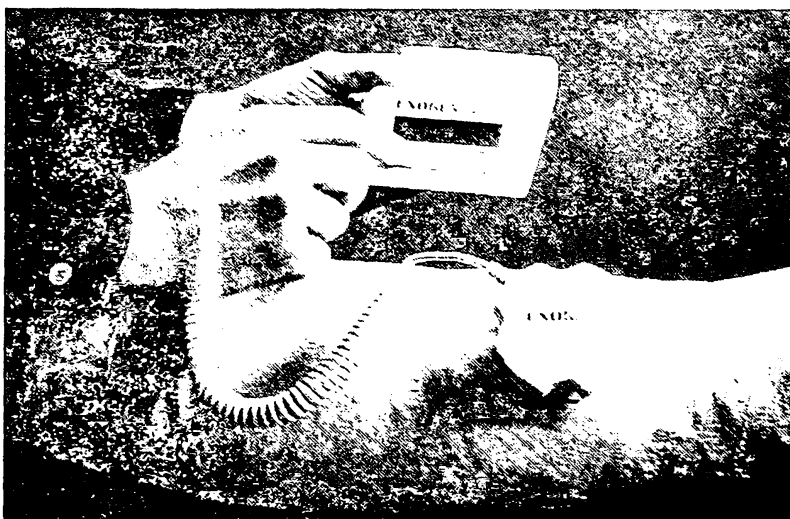


Εικόνα 13: Εξέταση με υψηλής ανάλυσης Doppler σε οστεοτομία ωλένης 10 ημέρες μετεγχειρητικά. (Α) η αιματική ροή έχει αυξηθεί εντυπωσιακά (πλαίσιο) σε ζώο το οποίο έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Αντίθετα (Β) σε ένα άλλο δείγμα ζώου που δεν έλαβε θεραπεία η αιματική ροή στην περιοχή της οστεοτομίας (πλαίσιο) υπολείπεται σημαντικά.

ασθενείς υποβλήθηκαν σε καθημερινή θεραπεία 20 λεπτών με υπερήχους χαμηλής έντασης (30mW/cm^2), ενώ οι υπόλοιποι έλαβαν θεραπεία placebo. Το αποτέλεσμα έδειξαν ότι υπήρχε μια μείωση της τάξης του 24% (86 ± 5.8 ημέρες στην ομάδα με θεραπεία, 114 ± 10.4 ημέρες στην ομάδα ελέγχου) στην ομάδα που έλαβε θεραπεία όσον αφορά την κλινική πώρωση. Όσον αφορά στην ακτινολογική πώρωση, υπήρχε μια μείωση της τάξης του 38% (96 ± 4.9 ημέρες στην ομάδα με θεραπεία, 154 ± 13.7 ημέρες στην ομάδα ελέγχου) στην ομάδα που έλαβε θεραπεία.

Η μελέτη αυτή επίσης αναφέρει, ότι η συνεργασία των ασθενών για την καθημερινή εφαρμογή του μηχανήματος ήταν εξαίρετη. Η συσκευή που χρησιμοποιούσαν οι ασθενείς είναι παρόμοια με αυτήν της Εικόνας 14. Ένα άλλο ενδιαφέρον στοιχείο αυτής της μελέτης είναι ότι ορισμένοι ασθενείς από την ομάδα ελέγχου κατέληξαν σε ψευδάρθρωση, ενώ κανένας από την ομάδα που έλαβε θεραπεία δεν είχε τέτοιο αποτέλεσμα. Αυτό επιπλέον δείχνει ότι οι υπέρηχοι όχι μόνο επιταχύνουν την πώρωση, αλλά επίσης βοηθούν και να εξασφαλισθεί.

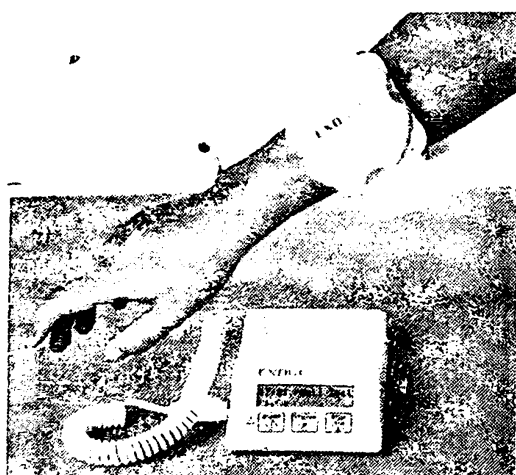
Μια άλλη παρόμοια μελέτη (πολυκεντρική διπλή τυφλή μελέτη) έγινε από τους Kristiansen και συν.^{9,5} σε 61 κατάγματα κάτω πέρατος κερκίδας ραχιαίως παρεκτοπισμένα. Μετά την ανάταξη και την εφαρμογή γύψου, 30 ασθενείς έλαβαν



Εικόνα 14: Συσκευή υπερήχων χαμηλής έντασης για διαδερμική εφαρμογή σε κατάγμα κνήμης. Η συσκευή εφαρμόζεται στην εστία του κατάγματος διαμέσου ενός παραθύρου στο γύψινο επίδεσμο.

θεραπεία καθημερινά 20 λεπτά με υπερήχους χαμηλής έντασης (30mW/cm^2) και 31 έλαβαν θεραπεία placebo (ΕΙΚΟΝΑ 15). Ο χρόνος που απαιτήθηκε για την πώρωση των καταγμάτων ήταν 38% πιο βραχύς για τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με υπερήχους χαμηλής έντασης (62 ± 3.4 ημέρες στην ομάδα με θεραπεία, 98 ± 5.8 ημέρες στην ομάδα ελέγχου). Επιπροσθέτως, ένα άλλο σημαντικό στοιχείο της μελέτης ήταν ότι η απώλεια της ανάταξης ήταν σημαντικά μικρότερη ($20 \pm 6\%$ έναντι $43 \pm 8\%$) για την ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους.

Οι μελέτες αυτές είναι δυο εξαιρετα παραδείγματα, για την δυνατότητα των υπερήχων στην επιτάχυνση της πώρωσης γιατί είναι καλά τεκμηριωμένες. Μια



Εικόνα 15: Εφαρμογή της συσκευής υπερήχων χαμηλής έντασης σε κατάγμα κερκίδας.

πρόσφατη ενδιαφέρουσα κλινική μελέτη τέλος είναι αυτή των Cook και συν.²⁷ στην οποία ερευνήθηκε η δυνατότητα των υπερήχων να επιταχύνουν την πώρωση καταγμάτων κνήμης και κάτω πέρατος κερκίδας σε καπνιστές. Οι ερευνητές λοιπόν, έδειξαν ότι στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με υπερήχους χαμηλής έντασης, ο χρόνος πώρωσης μειώθηκε κατά 41% (175 ± 2.7 έναντι 103 ± 8.3 ημερών). Αντίστοιχα, στους ασθενείς με κατάγματα κάτω πέρατος κερκίδας το ποσοστό αυτό

ήταν 51% (98 ± 3 έναντι 48 ± 5.1 ημερών). Αυτό είναι ένα σημαντικό εύρημα γιατί αποδεικνύει ότι οι ασθενείς υψηλού κινδύνου (καπνιστές, διαβητικοί κ.λ.π) θα μπορούσαν να βοηθηθούν με αυτό τον τρόπο.

Συμπερασματικά, θα μπορούσαμε να πούμε ότι η εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης σύμφωνα με τα παραπάνω προάγει την οστεογένεση. Πιθανότατα οι υπέρηχοι επηρεάζουν την διαδικασία της πώρωσης σε διάφορα στάδια και με διάφορους τρόπους, όπως την γονιδιακή έκφραση πρωτεϊνών, την αιματική ροή, τους αναπτυξιακούς παράγοντες και τέλος την δημιουργία και ανακατασκευή του πώρου.

Ο πίνακας 5 δίνει μια συνοπτική περιγραφή των σημαντικότερων μελετών πάνω στο θέμα. Θα μπορούσαμε να πούμε, ότι η παρέμβαση των υπερήχων αποτελεί ένα συνδυασμό συντηρητικής και επιθετικής θεραπείας, έχοντας το πλεονέκτημα ότι είναι μη επεμβατική μέθοδος, που βοηθά και επιταχύνει την διαδικασία της πώρωσης. Αυτό, σύμφωνα με τον Heckmann^{6,8} μεταφράζεται σε σημαντικά οικονομικά οφέλη, που προκύπτουν από την μείωση του χρόνου για την πώρωση και την ελάττωση άλλων παρεμβάσεων για να επιτευχθεί η πώρωση. Υποστηρίζει λοιπόν ο συγγραφέας, ότι η εξοικονόμηση των χρημάτων για έναν ασθενή με κατάγμα κνήμης που αντιμετωπίζεται συντηρητικά και λαμβάνει θεραπεία με υπερήχους χαμηλής έντασης, είναι περίπου 15.000 \$ ενώ για αυτούς που αντιμετωπίζονται χειρουργικά 13.000 \$.



Πίνακας 5. Περίληψη των σημαντικότερων μελετών για την επίδραση των υπερήχων στην προαγωγή της πώρωσης

Μελέτη	Μοντέλο κατάγματος/Είδος κυττάρου	Ένταση (mW/cm ²)	Αποτέλεσμα
In vivo			
Duarte ^{3 6}	Οστεοτομία περόνης-κουνέλι	49	↑ σχηματισμός πώρου
Xavier, Duarte ^{1 6 3}	Ανθρώπινες ψευδαρθρώσεις	30	↑ πώρωση ψευδαρθρώσεων
Klug et al ^{9 3}	Κάταγμα κνήμης-κουνέλι	200	↑ ωρίμανση του πώρου
Pilla et al ^{1 2 5}	Οστεοτομία περόνης-κουνέλι	30	↑ ακαμψία οστού
Wang et al ^{1 5 7}	Οστεοτομία μηριαίου-ποντίκι	30	↑ ακαμψία οστού
Heckman et al ^{6 7}	Κάταγμα κνήμης-άνθρωπος	30	↑ κλινική & ακτινολογική πώρωση
Kristiansen et al ^{9 5}	Κάταγμα κερκίδος-άνθρωπος	30	↑ κλινική & ακτινολογική πώρωση
Yang et al ^{1 6 4}	Οστεοτομία μηριαίου-ποντίκι	50, 100	↑ aggrecan mRNA
Cook et al ^{2 7}	Κάταγμα κνήμης, κερκίδος άνθρωπος πώρωση	30	↑ κλινική & ακτινολογική
Ito et al ^{7 8}	Οστεοτομία μηριαίου-ποντίκι	30	↑ ακαμψία οστού
Rawool et al ^{1 2 7}	Οστεοτομία ωλένης-σκύλος	30	↑ αιματική ροή
Jingushi et al ^{6 1}	Οστεοτομία μηριαίου-ποντίκι	30	↑ καμψία οστού
Hadjiargyrou et al ^{6 2}	Οστεοτομία μηριαίου-ποντίκι	30	↑ οστεοποντίνη mRNA
In vitro			
Chapman et al ^{1 8}	Θυμοκύτταρα	0.5-3	↓ ενδοκυτταρική πυκνότητα ιόντων K ⁺
Ryaby et al ^{1 3 9}	Καλλιέργειες οστικών κυττάρων	200	↑ ενσωμάτωση ιόντων Ca ²⁺
Ryaby et al ^{1 4 1}	Καλλιέργειες οστεοβλαστών	20, 30, 45	↑ αδενο-κυκλάση
TTGFB			
Wu et al ^{1 6 2}	Χονδροκύτταρα	50, 120	↑ aggrecan mRNA
Parvizi et al ^{1 2 0}	Χονδροκύτταρα	50-500	↑ απελευθέρωση ιόντων Ca ²⁺

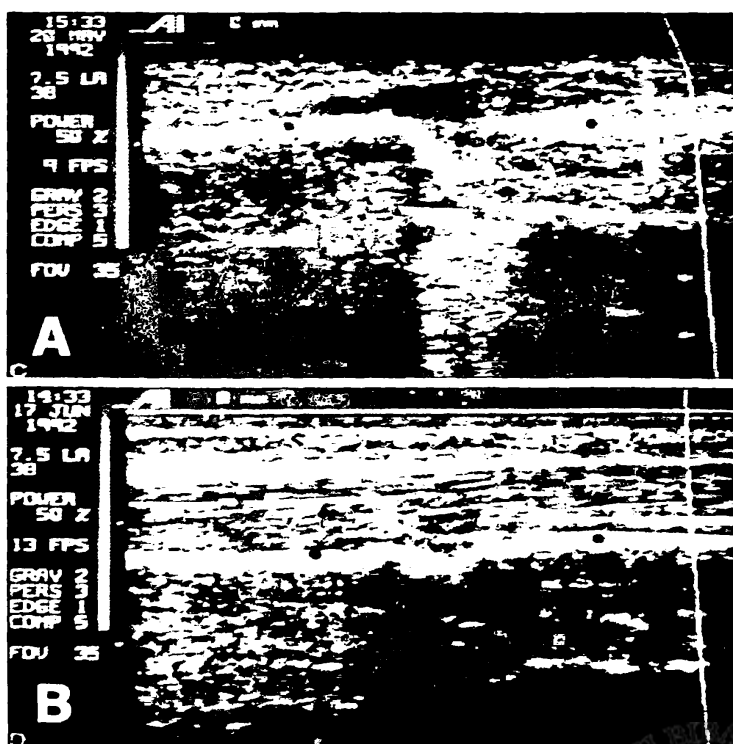
Οι ενδείξεις και οι αποδείξεις για τον ευεργετικό ρόλο των υπερήχων στην διαδικασία της οστεογένεσης είναι αρκετές. Ακριβώς επειδή η πώρωση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία και οι μηχανισμοί που την διέπουν δεν είναι πλήρως κατανοητοί, θα χρειαστούν περαιτέρω μελέτες που θα καθορίσουν με μεγαλύτερη σαφήνεια τον μηχανισμό δράσης των υπερήχων χαμηλής έντασης και κατ'επέκταση, την όσο δυνατόν καλύτερη εκμετάλλευση από τον ιατρικό κόσμο της νέας αυτής μεθόδου.



Οι υπέρηχοι ως μέσο διάγνωσης της οστεογένεσης

Η διάγνωση με υπερήχους είναι ελκυστική ως μέθοδος σε πολλούς τομείς της ιατρικής γιατί είναι ανώδυνη, μη επεμβατική, φθηνή και δεν επιβαρύνει με ακτινοβολία τον ασθενή. Λογικό ήταν λοιπόν, να ερευνηθεί η δυνατότητά τους στον έλεγχο της οστεογένεσης (πώρωση καταγμάτων, διατατική οστεογένεση). Εκτός από την απεικονιστική υπερηχοτομογραφία, έχει χρησιμοποιηθεί και μια άλλη μέθοδος με υπερήχους για τον έλεγχο της οστεογένεσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί τις ακουστικές ιδιότητες των ιστών (ταχύτητα αγωγής υπερήχων, ακουστική εμπέδηση ιστών) για την εξαγωγή συμπερασμάτων για την ποιότητα του νεοπαραχθέντος οστού.

Όσον αφορά στην απεικονιστική τομογραφία, θα λέγαμε ότι βρίσκεται ακόμη σε νηπιακό στάδιο μιας και οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται κυρίως για την διάγνωση των παθολογικών καταστάσεων των μαλακών μορίων του μυοσκελετικού συστήματος. Οι μέχρι τώρα μελέτες^{5,9,10,21} ήδη έχουν γίνει, είναι ενδεικτικές για τα πλεονεκτήματα και τους περιορισμούς της μεθόδου. Όπως προκύπτει από τις μελέτες των Moed και συν.^{10,9} Το σημαντικότερο πλεονέκτημα των υπερήχων είναι ότι μπορούν να παρακολουθούν την πορεία της πώρωσης από τα πρώτα στάδια με την δυνατότητα που έχουν να ανιχνεύουν τον μαλακό πόρο. Αυτό όπως αποδείχθηκε σε μια μελέτη^{10,9} δίνει την δυνατότητα για μια ακριβή πρόβλεψη της πορείας του κατάγματος. Η μελέτη αφορούσε ασθενείς με ενδομυελική ήλωση καταγμάτων κνήμης. Με βάση την υπερηχογραφική εικόνα της 6^{ης} μετεγχειρητικής εβδομάδος έγινε πρόβλεψη της πορείας του κατάγματος με μια ακρίβεια της τάξεως του 97% (ΕΙΚΟΝΑ 16). Συμπεραίνουν λοιπόν οι συγγραφείς ότι ο χειρουργός θα μπορεί να παρέμβει σε πρώιμα στάδια όταν οι ενδείξεις για την πορεία της πώρωσης δεν είναι καλές. Τα μειονεκτήματα όπως σημειώνουν οι ίδιοι, είναι ότι η ερμηνεία των εικόνων απαιτεί



Εικόνα 16. A-B. (Α) Υπερηχογράφημα κατάγματος κνήμης 2 εβδομάδες μετά το κάταγμα. Διακρίνεται η διακοπή του φλοιού (Ε) και ο ήλος (*). (Β) Υπερηχογράφημα 6 εβδομάδες μετά το κάταγμα. Ο ήλος δεν φαίνεται πλέον και είναι εμφανής η αποκατάσταση του φλοιού. Η πρόβλεψη για την πώρωση του κατάγματος ήταν επιτυχής.

εμπειρία και εξαρτάται κάθε φορά από τον εξεταστή, καθώς επίσης και η μη προσπέλαση του οπισθίου φλοιού της κνήμης, λόγω των πολλών μαλακών μορίων. Ένας άλλος περιορισμός της μεθόδου είναι ότι η παρεμβολή μαλακών μορίων καθιστά οστά όπως το μηριαίο δύσκολα προσπελάσιμα.

Μια άλλη σημαντική μελέτη¹⁰⁸ έδειξε ότι η συσχέτιση μεταξύ των υπερηχογραφικών και ιστολογικών ευρημάτων, ήταν απόλυτη στα διάφορα στάδια της πώρωσης πράγμα που καθιστά την μέθοδο αξιόπιστη. Όσον αφορά την χρήση της απεικονιστικής τομογραφίας στον έλεγχο του οστού μετά από διατατική οστεογένεση, οι διάφορες μελέτες^{5,9,100} έδειξαν ότι το νεοπαραχθέν οστόύν μπορεί να ανιχνευθεί σε πολύ πρώιμα στάδια (τις πρώτες 7-14 ημέρες). Ένα άλλο επίσης σημαντικό πλεονέκτημα, είναι ότι μπορούμε να πάρουμε πληροφορίες όσον αφορά το μήκος της διατατικής ζώνης και ανάλογα να κατευθύνουμε τον ρυθμό της διάτασης.

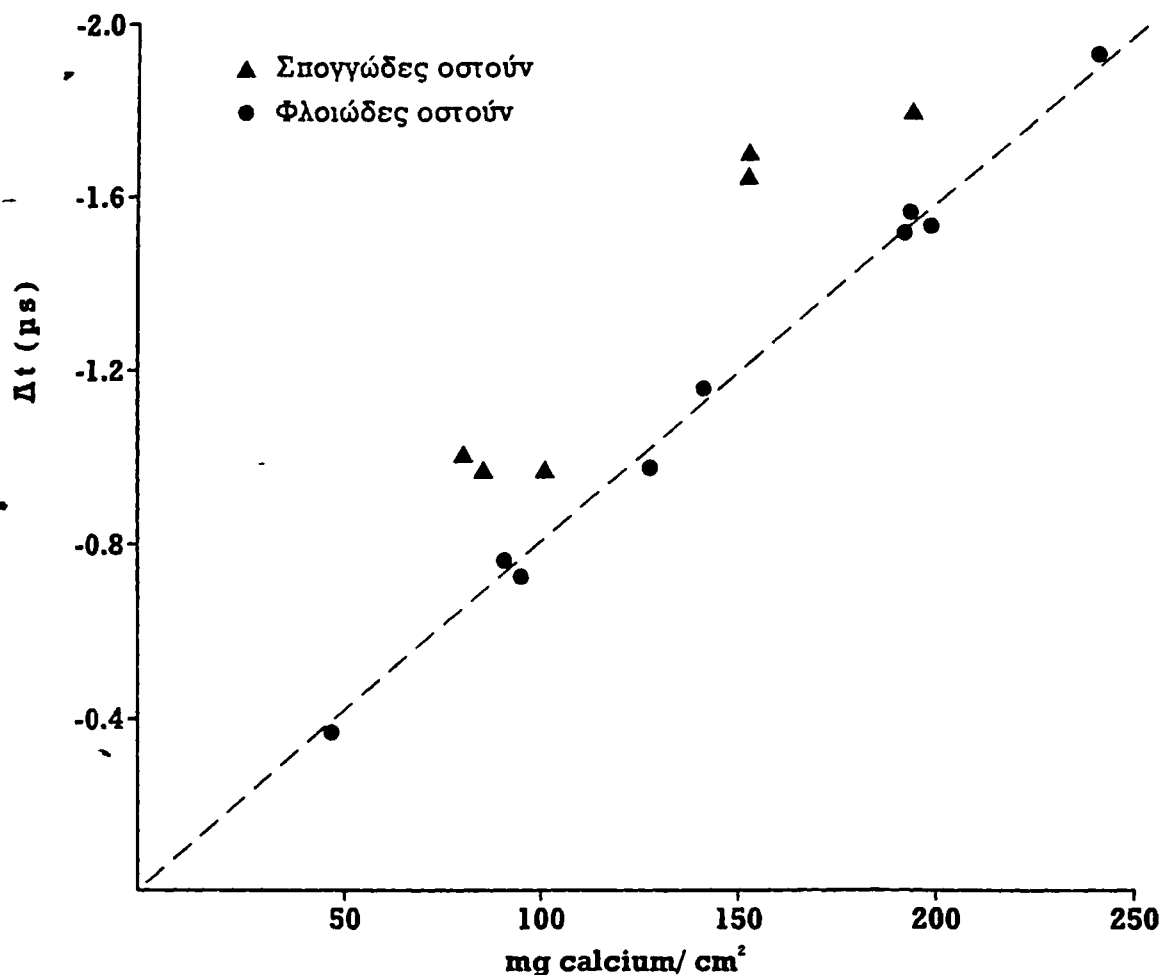
Ένα μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι από την στιγμή που αρχίζει να σχηματίζεται ο φλοιός στο νεοπαραχθέν οστόύν η εκτίμηση με υπερήχους είναι δύσκολη^{6,5}. Οι Maffulli και συν.¹⁰⁰ βρήκαν επίσης ότι οι υπέρηχοι δεν μπορούν πάντα να αναγνωρίσουν τις παρεκκλίσεις άξονα, με την ίδια ακρίβεια όπως οι απλές ακτινογραφίες.

Και στις δυο περιπτώσεις (πώρωση καταγμάτων, διατατική οστεογένεση) η απεικονιστική τομογραφία δεν δίνει πληροφορίες για την "ποσοτική" κατάσταση της περιοχής της οστεογένεσης, με αποτέλεσμα να μην επιτρέπεται συσχετισμός με τις μηχανικές ιδιότητες του πώρου.

Η δεύτερη μέθοδος, για την διάγνωση της οστεογένεσης με υπερήχους και ειδικότερα της πώρωσης των καταγμάτων, που έχει χρησιμοποιηθεί είναι μη απεικονιστική και χρησιμοποιεί όπως τονίστηκε παραπάνω τις ακουστικές ιδιότητες των ιστών.

Ειδικότερα η βασική αρχή της μεθόδου, είναι η μέτρηση της ταχύτητας του ήχου δια του οστού (με την χρήση ενός πομπού και ενός δέκτη υπερήχων) η οποία ως γνωστόν είναι 40 φορές μεγαλύτερη από αυτήν των υπολοίπων ιστών λόγω μεγαλύτερης πυκνότητας¹⁰³. Με βάση λοιπόν αυτό, είναι λογικό να υποθέσει κανείς ότι η ταχύτητα αγωγής των υπερήχων θα είναι μικρότερη επί ενός κατεαγότος οστού ή ενός με ψευδάρθρωση, λόγω διακοπής της οστικής μάζας.

Ακόμα παραπέρα ορισμένοι ερευνητές, προσπάθησαν με αυτήν την μέθοδο να υπολογίσουν την οστική πυκνότητα σε διάφορα δείγματα οστών, ώστε να δουν την χρησιμότητα της μεθόδου σαν προγνωστικό μέσο για την διάγνωση της οστεοπόρωσης. Σε μια μελέτη¹³³ λοιπόν οι ερευνητές μελέτησαν αρχικά σε οστά (κνήμες) βοδιού και σε μαλακούς ιστούς, την ταχύτητα μετάδοσης του ήχου χρησιμοποιώντας έναν πομπό και έναν δέκτη υπερήχων σε συγκεκριμένη απόσταση. Βρέθηκε λοιπόν ότι η ταχύτητα αγωγής διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο (0.146-



Εικόνα 17. Σχέση μεταξύ ταχύτητας του ήχου και περιεκτικότητας σε ασβέστιο στο φλοιώδες και σπογγώδες οστούν όπως περιγράφηκε από τους Rich και συν.¹³³.

0.156 cm/μs για τα μαλακά μόρια και 0.288 cm/μs για τα οστά). Στην συνέχεια έγιναν μετρήσεις σε φλοιώδη και σπογγώδη οστά στα οποία ήταν γνωστή η περιεκτικότητα σε ασβέστιο. Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι υπήρχε καλή συσχέτιση μεταξύ της ταχύτητας μετάδοσης του ήχου και της περιεκτικότητας σε ασβέστιο για το φλοιώδες οστούν, αλλά όχι και για το σπογγώδες (ΕΙΚΟΝΑ 17). Αυτό υπέθεσαν οι ερευνητές ότι μπορεί να συμβαίνει γιατί το σπογγώδες οστούν έχει πιο ανώμαλες επιφάνειες και καθώς ο ήχος περνά δια μέσου αυτού πιθανώς να συμπεριφέρεται διαφορετικά.

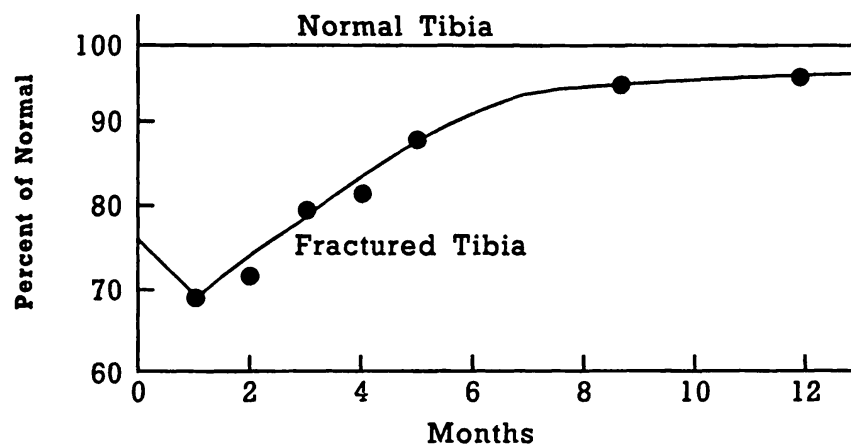
Οι Greenfield και συν.⁶⁰ το 1981 χρησιμοποίησαν, συνδυασμό απορροφησιμετρίας και υπερήχων (ταχύτητα αγωγής) για να μετρήσουν την οστική πυκνότητα σε ανθρώπινα οστά (κερκίδες). Από τα ευρήματά τους οι συγγραφείς συμπεραίνουν, ότι ο συνδυασμός των δυο μεθόδων δίνει αξιόπιστα αποτελέσματα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της οστεοπόρωσης.

Στο ίδιο θέμα σε μια άλλη μελέτη¹⁴ έγινε σύγκριση της μεθόδου, με την ποσοτική αξονική τομογραφία. Επειδή βρέθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων και η ποσοτική αξονική τομογραφία θεωρείται ακριβής μέθοδος οι συγγραφείς συνιστούν ότι η μέθοδος (ταχύτητα αγωγής υπερήχων) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέσο διάγνωσης της οστεοπόρωσης.

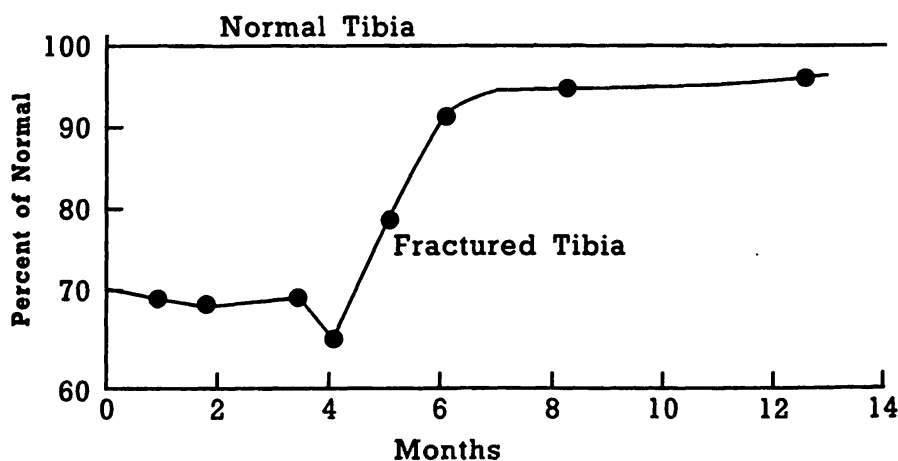
Όσον αφορά τώρα στην εκτίμηση της πορείας καταγμάτων με την μέθοδο

αυτή (ταχύτητα αγωγής υπερήχων) πρώτος ο Anast και συν.² το 1958 αναφέρουν την χρήση της μεθόδου σε κατάγματα κνήμης. Τα αποτελέσματα ναι μεν δείχνουν ότι υπάρχει σαφής διαφορά μεταξύ κατεαγόντων και υγιών οστών, αλλά η ικανότητα της μεθόδου να διακρίνει σαφώς τις διάφορες φάσεις της πώρωσης δεν ήταν ικανοποιητική.

Οι Gerlanc και συν.^{5 4} σε μια μεταγενέστερη μελέτη το 1975 εφαρμόσανε την μέθοδο σε 21 κατάγματα κνήμης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, αμέσως μετά το κάταγμα υπήρχε μια μείωση της τάξης του 24% στην ταχύτητα αγωγής των υπερήχων η οποία μειωνόταν σημαντικά 7 ημέρες μετά το κάταγμα. Καθώς η πώρωση προχωρούσε, η ταχύτητα αυξανόταν και την περίοδο που οι ασθενείς περπατούσαν χωρίς πόνο (κλινική πώρωση) η τιμή αυτή έφθανε το 80% της τιμής του αντίθετου υγιούς οστού. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα φυσιολογικής και καθυστερημένης πώρωσης δίδεται στις εικόνες 18 και 19. Παρόλο που το δείγμα



Εικόνα 18. Ταχύτητα αγωγής υπερήχων σε κάταγμα κνήμης σε σχέση με το χρόνο και σύγκριση με τη φυσιολογική κνήμη (φυσιολογική πώρωση). Από τους Gerlanc και συν.⁵⁴

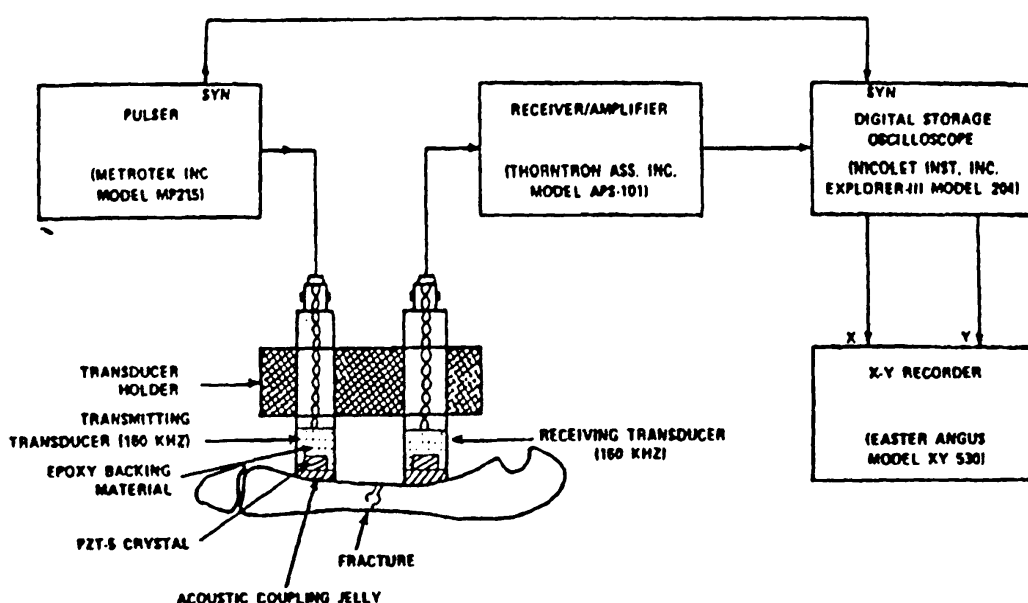


Εικόνα 19. Ταχύτητα αγωγής υπερήχων σε κάταγμα κνήμης σε σχέση με το χρόνο και σύγκριση με τη φυσιολογική κνήμη (καθυστερημένη πώρωση). Είναι φανερό η διαφορά της ταχύτητας αγωγής των υπερήχων σε σχέση με τη φυσιολογική πώρωση της εικόνας 18. Από τους Gerlanc και συν.⁵⁴



των ασθενών είναι μικρό οι συγγραφείς σημειώνουν ότι "η μέθοδος είναι υποσχόμενη και μπορεί να δώσει πιο αξιόπιστες πληροφορίες από ότι η κλινική και η ακτινολογική εξέταση".

Οι Gill και συν.⁵⁵ προσπάθησαν να συσχετίσουν τα αποτελέσματα της εμβιομηχανικής ανάλυσης (τριών σημείων) με την μέθοδο αυτή, σε μια μελέτη σε οστεοτομία κνήμης κουνελιών. Χρησιμοποίησαν δυο συχνότητες υπερήχων για τις μετρήσεις (600 KHZ και 1MHZ) (ΕΙΚΟΝΑ 20). Βρήκαν λοιπόν ότι και στις δυο περιπτώσεις τα αποτελέσματα συνδέονται ισχυρά με αυτά της εμβιομηχανικής ανάλυσης και υποστηρίζουν ότι η μέθοδος μπορεί να εκφράσει και την "ποσοτική"

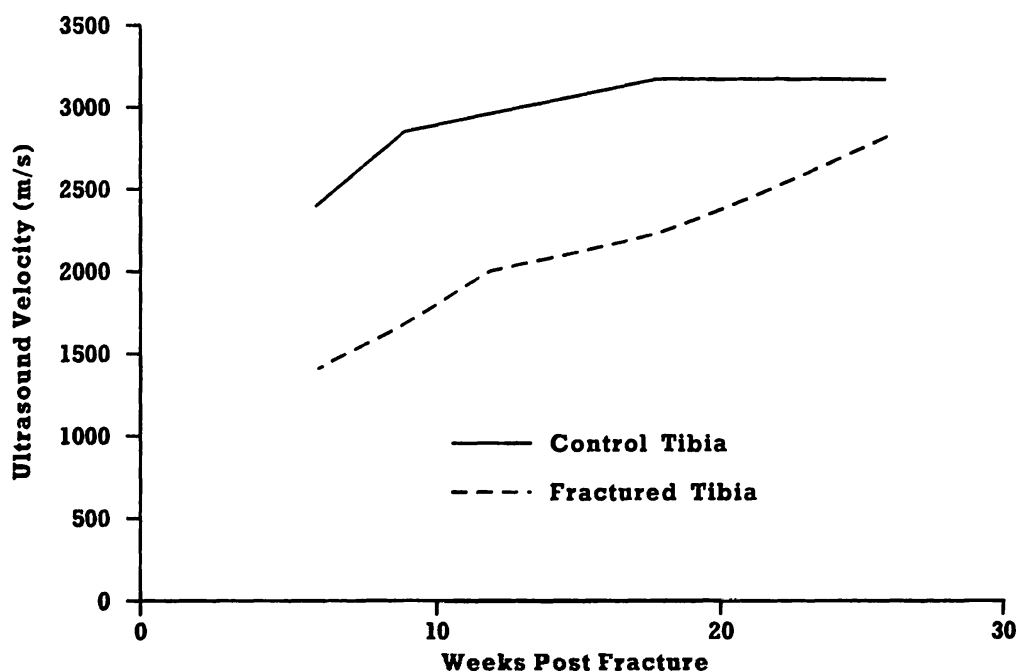


Εικόνα 20. Σχεδιάγραμμα του συστήματος υπερήχων που σχεδιάστηκε από τους Gill και συν.⁵⁵ για την μέτρηση της ταχύτητας των υπερήχων σε μοντέλο κατάγματος κνήμης σε κουνέλια.

κατάσταση της περιοχής του κατάγματος.

Μια ενδιαφέρουσα μελέτη τέλος που αναδεικνύει και τα προβλήματα της μεθόδου είναι αυτήν των Cunningham και συν.³⁹ Η μελέτη αφορούσε σε 37 κατάγματα κνήμης με τακτική παρακολούθηση των ασθενών. Τα αποτελέσματα έδειξαν γενικά ότι η ταχύτητα αγωγής αυξάνει καθώς προχωρά η πώρωση αλλά υπήρχαν ταυτόχρονα και κάποιες ιδιαιτερότητες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι αυτό της εικόνας 21. Κατά την στιγμή της κλινικής πώρωσης (20 εβδομάδες), η ταχύτητα αγωγής δεν συμπίπτει με αυτήν της αντίθετης κνήμης (περίπου 80% σε σχέση με την άθικτη κνήμη). Μελετώντας τις μετρήσεις της υγιούς κνήμης βλέπουμε ότι στις 5 εβδομάδες η τιμή ήταν 2400 m/s και στις 9 εβδομάδες 2900 m/s. Μάλιστα συνέχισε να ανεβαίνει (3100 m/s) μέχρι την 25^η εβδομάδα. Καμία εξήγηση δεν δόθηκε από τους συγγραφείς για αυτό. Βλέποντας τώρα τις τιμές για την κνήμη με το κάταγμα παρατηρούμε ότι η ταχύτητα είναι 2600 m/s στις 25 εβδομάδες. Αυτή η

τιμή, είναι ανώτερη από αυτήν του φυσιολογικού στις 5 εβδομάδες και θα μπορούσε το κάταγμα να θεωρηθεί πωρωθέν, εάν δεν υπήρχε πάντοτε η σύγκριση με το φυσιολογικό. Αυτό περιπλέκει κάπως την κατάσταση και δεν μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα. Το μόνο ίσως που μπορεί να ειπωθεί όπως σημειώνουν οι συγγραφείς είναι ότι για να θεωρηθεί ένα κάταγμα πωρωθέν, είναι απαραίτητο η τιμή της ταχύτητας να είναι πάνω από το 80% της αντίθετης κνήμης τη συγκεκριμένη



Εικόνα 21. Ταχύτητα αγωγής υπερήχων σε συνάρτηση με το χρόνο σε περίπτωση φυσιολογικής πώρωσης (από τους Cunningham και συν.³⁰).

χρονική στιγμή.

Αν και η μέθοδος αυτή φαίνεται να έχει κάποια θέση στην παρακολούθηση και την διάγνωση της πώρωσης των καταγμάτων δεν έχει λάβει ευρεία κλινική εφαρμογή για τρεις κυρίως λόγους: 1) η κλινική εφαρμογή περιορίζεται μόνο σε οστά τα οποία είναι υποδόρια και προσιτά στην μέθοδο όπως η κνήμη και η ωλένη 2) οι συσκευές που χρησιμοποιούνται δεν είναι σε άμεση εφαρμογή με το οστό και επομένως η παρεμβολή των μαλακών μορίων μπορεί ενδεχόμενα να αλλοιώνει τα αποτελέσματα 3) τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την σταθεροποίηση των καταγμάτων (εσωτερική ή εξωτερική οστεοσύνθεση) είναι πιθανό να επηρεάζουν την μετάδοση των υπερήχων και κατ'επέκταση την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Τα προβλήματα της διάγνωσης της οστεογένεσης με υπερήχους, ίσως ξεπερασθούν στο μέλλον με την βελτίωση των τεχνικών και την χρήση της αξονικής τομογραφίας με υπερηχητική ενέργεια⁶, ή με την τεχνική Doppler υπερήχων⁵.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η πώρωση ενός κατάγματος είναι μια χρονοβόρα διαδικασία, που απαιτεί τις περισσότερες φορές αρκετούς μήνες για την ολοκλήρωσή της. Η δυνατότητα να επιστρέψει ο ασθενής νωρίς, στις καθημερινές δραστηριότητές του και στην δουλειά του, συνδυάζει ψυχολογικά και οικονομικά οφέλη. Εκτός αυτού, η παρακολούθηση της πορείας του κατάγματος απαιτεί την λήψη αρκετών ακτινογραφιών που επιβαρύνουν τον ασθενή. Φιλοδοξία του πονήματος αυτού ήταν να συμβάλει από την μεριά του στην μελέτη και την προσπάθεια επίλυσης των προβλημάτων αυτών.

Έτσι λοιπόν ο σκοπός της πειραματικής αυτής μελέτης είναι διπλός: α) Να ερευνηθεί η δυνατότητα των χαμηλής έντασης υπερήχων να προάγουν την οστεογένεση και β) Να ερευνηθεί η δυνατότητα των υπερήχων για την διάγνωση και παρακολούθηση της πορείας της οστεογένεσης

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι οι διαδερμική εφαρμογή χαμηλής έντασης υπερήχων στην εστία του κατάγματος προάγει την οστεογένεση. Κάνοντας λοιπόν την υπόθεση ότι η ενέργεια που μεταβιβάζεται με το κύμα των υπερήχων, πιθανόν να έχει πιο άμεσο αποτέλεσμα, εάν εφαρμοσθεί κοντά στην εστία του κατάγματος και συγκεκριμένα απευθείας πάνω στο οστόν, επιλέξαμε την διοστική εφαρμογή των υπερήχων δια μέσου μιας βελόνας πομπού σε μικρή απόσταση από την καταγματική εστία.

Η μέθοδος αυτή αποτελεί καινοτομία, μιας και δεν αναφέρεται μέχρι σήμερα στην βιβλιογραφία σε πειραματικές ή κλινικές μελέτες.

Όσον αφορά στο δεύτερο σκέλος, προσπαθήσαμε να ερευνήσουμε (δια μέσου δυο βελονών πομπού και δέκτη), εάν η αγωγιμότητα των υπερήχων δια της περιοχής της οστεογένεσης σε σχέση με τον χρόνο, συσχετίζεται με την πρόοδο της οστεογένεσης έτσι, ώστε να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό μέσο.

Όπως γίνεται αντιληπτό, η μέθοδος αυτή δεν είναι απεικονιστική και η επιλογή αυτή έγινε λόγω του μειονεκτήματος που έχουν οι απεικονιστικές μέθοδοι με υπερήχους να χάνουν την διαγνωστική ικανότητά τους μετά τα πρώτα στάδια της οστεογένεσης.

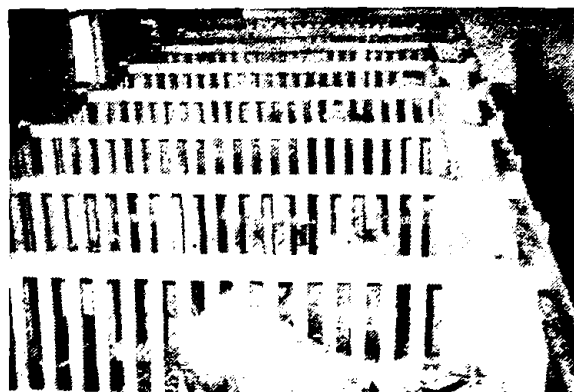
ΥΛΙΚΟ

Η εκπόνηση της διατριβής εντάσσεται στα πλαίσια της εκτέλεσης του Επιχειρησιακού Προγράμματος Έρευνας και Τεχνολογίας II (Ε.Π.Ε.Τ II) του υπουργείου Βιομηχανίας. Η εκτέλεση του προγράμματος ανατέθηκε στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, μετά από υποβληθείσα πρόταση που έγινε δεκτή. Το πρόγραμμα ήταν σε έλεγχο καθ'όλη τη διάρκεια από την Γενική Γραμματεία

Έρευνας και Τεχνολογίας.

Για την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 62 ώριμα σκελετικά πρόβατα, ηλικίας 2-3 ετών και βάρους 50kg κατά μέσο όρο (45-58 kg).

Η μεταφορά και διαμονή τους γίνονταν σε σύγχρονες σταβλικές εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (ΕΙΚΟΝΑ 22). Οι εγκαταστάσεις είναι σύγχρονες με εξαερισμό, θέρμανση, αποχετευτικούς αγωγούς και υπάρχει η δυνατότητα για τον σταβλισμό 10 μεγάλων ζώων στην



Εικόνα 22. Οι σταβλικές εγκαταστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν για τη φιλοξενία των ζώων κατά τη διάρκεια του πειράματος. Υπήρχε δυνατότητα για τον σταβλισμό 10 ζώων ταυτόχρονα.

μία αίθουσα, ενώ μια δεύτερη χρησιμοποιήθηκε ως αίθουσα χειρουργείου. Τα ζώα παρακολουθούνταν από έμπειρο ζωοκόμο 2-3 φορές ημερησίως, έτσι ώστε τα κλουβιά να καθαρίζονται και οι αντιδράσεις αυτών να παρακολουθούνται. Η τροφή τους συνίσταται από αποξηραμένο χόρτο (τριφύλλι) και ξηρή τροφή καλαμποκιού.

Χρησιμοποιήθηκαν δυο πειραματικά μοντέλα:

Στο πρώτο που περιελάμβανε 30 ζώα (ΟΜΑΔΑ Α) έγινε μετά από οστεοτομία της κνήμης, επιμήκυνση του οστού με την μέθοδο της διατατικής οστεογένεσης, με την βοήθεια της εξωτερικής οστεοσύνθεσης. Στην ομάδα αυτή ερευνήθηκε η επίδραση των υπερήχων χαμηλής έντασης στον σχηματισμό οστού μετά από διατατική οστεογένεση.

Στο δεύτερο πειραματικό μοντέλο χρησιμοποιήθηκαν 32 ζώα (ΟΜΑΔΑ Β) στα οποία έγινε απλή οστεοτομία της κνήμης και συγκράτηση με εξωτερική οστεοσύνθεση. Σ' αυτή την ομάδα μελετήθηκε η επίδραση των υπερήχων χαμηλής έντασης στην πώρωση της οστεοτομίας (μοντέλο κατάγματος).

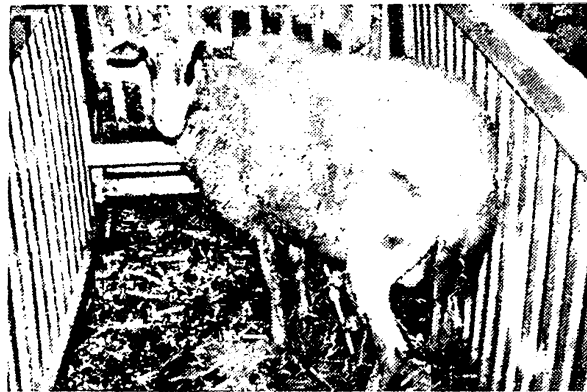
Σε όλα τα ζώα (και των δυο ομάδων) γινόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, με ειδική συσκευή υπερήχων (βλ. παρακάτω) μέτρηση της αγωγιμότητας της περιοχής της οστεογένεσης με υπερήχους, για τον σκοπό της παρακολούθησης της οστεογένεσης.

Τα αποτελέσματα και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων θα αναπτυχθούν ξεχωριστά για την κάθε ομάδα, επειδή όπως γίνεται αντιληπτό, πρόκειται για δυο διαφορετικά πρωτόκολλα.

Ο τύπος της εξωτερικής οστεοσύνθεσης που χρησιμοποιήθηκε στην συντριπτική πλειοψηφία των πειραμάτων (57 από τα 62) ήταν τύπου Hoffmann Monotube (Howmedica Jaquet, Geneva Switzerland) ένας τύπος δηλαδή μονόπλευρης εξωτερικής οστεοσύνθεσης (ΕΙΚΟΝΑ 23). Χρησιμοποιήθηκαν επίσης η κυκλοτερής εξωτερική οστεοσύνθεση Ilizarov και η Orthofix L.R.S (Lengthening

Reconstruction System). Στην επιλογή της συγκεκριμένης εξωτερικής οστεοσύνθεσης καταλήξαμε μετά την εκτέλεση των 10 πρώτων χειρουργείων για τους εξής λόγους:

1. Λόγω της εύκολης χρήσης του συστήματος σε σύγκριση με τα άλλα δυο και κατ'επέκταση στην μεγαλύτερη ακρίβεια της εκτέλεσης του χειρουργείου
2. Ο χειρουργικός χρόνος ήταν σημαντικά μικρότερος (150 λεπτά για Ilizarov, 100 λεπτά για Orthofix και 80 λεπτά για Hoffmann)
3. Το σύστημα προσέφερε μεγαλύτερη άνεση στις κινήσεις του ζώου χωρίς να προκαλεί επιπλέον τραυματισμό στο αντίστοιχο άκρο όπως η οστεοσύνθεση Ilizarov



Εικόνα 23. Εξωτερική οστεοσύνθεση τύπου Hoffmann τοποθετημένη στην κνήμη του ζώου.

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΤΕΧΝΙΚΗ



Εικόνα 24. Χορήγηση αναισθητικών φαρμάκων για την αναισθησία του ζώου κατά την διάρκεια του χειρουργείου.

Η χειρουργική τεχνική που περιγράφεται παρακάτω, εφαρμόστηκε και στις δυο ομάδες και κατά συνέπεια θα αναπτυχθεί μόνο μια φορά. Δυο χειρουργοί ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο, χειρούργησαν όλα τα ζώα με σκοπό να βελτιωθεί η τεχνική τους και να μειωθούν ο χειρουργικός χρόνος και οι επιπλοκές άμεσες και απώτερες.

Το κάθε ζώο παρέμενε χωρίς τροφή και νερό 12 ώρες

προεγχειρητικά. Την ημέρα του χειρουργείου γινόταν το κούρεμα του αριστερού κάτω άκρου. Στην συνέχεια ακολουθούσε η προνάρκωση του ζώου η οποία γινόταν με συνδυασμό 1mg ξυλαζίνης και 1 amp ατροπίνης. Το διάλυμα χορηγούνταν ενδομυϊκά. Μετά από αναμονή 10 λεπτών γινόταν η μεταφορά του ζώου με ειδικό τροχήλατο στο χειρουργικό τραπέζι όπου γινόταν η τοποθέτηση ενός φλεβοκαθετήρα με σκοπό, την χορήγηση φαρμάκων για την αναισθησία. (ΕΙΚΟΝΑ 24)



Εικόνα 25. Τομή δέρματος στο άνω και έξω τριτημόριο της κνήμης.

χειρουργικό πεδίο με το πλύσιμο του άκρου με αντισηπτικό διάλυμα και το στρώσιμο με αποστειρωμένο ιματισμό, εξασφαλίζοντας έτσι συνθήκες ασηψίας.

Στην αρχή γίνεται μια ευθεία τομή, μήκους 3 cm στο άνω και έξω τριτημόριο της αριστερής κνήμης, προσπελαύνονται οι μύες και γίνεται αποκάλυψη του οστού (ΕΙΚΟΝΑ 25). Με χειροκίνητο τρυπάνι εισάγονται δυο βελόνες σταθερού μήκους 120 mm και διαμέτρου 4 mm στην άνω μετάφυση της κνήμης. Μια άλλη τομή, επίσης 3 cm γίνεται στην συνέχεια στο κάτω έξω τριτημόριο της κνήμης, δια της οποίας εισάγονται άλλες δύο βελόνες στο κάτω άκρο της κνήμης (ΕΙΚΟΝΑ 26).

Η ανοιχτή-δια μέσου τομής δέρματος και παρασκευής του οστού-τοποθέτηση των βελονών κρίθηκε αναγκαία αντί της κλειστής, για την αποφυγή τραυματισμού αγγείων και νεύρων του κάτω άκρου.

Στο σημείο αυτό γίνεται χορήγηση αντιβιοτικών φαρμάκων ενδοφλεβίως (συνδυασμός μιας κεφαλοσπορίνης 3^{ης} γενιάς και ενός αντισταφυλοκοκκικού φαρμάκου - φουσιδικού οξέος), για την αποφυγή φλεγμονής του τραύματος μετεγχειρητικά.

Στην συνέχεια γίνεται, επέκταση της άνω τομής προς τα κάτω και παρασκευή του οστού κάτωθεν των άνω βελονών. Η οστεοτομία γίνεται 2cm περιφερικότερα της κατωφερέστερης άνω βελόνας. Πριν από αυτήν και σε απόσταση 1cm από το σημείο της οστεοτομίας, τοποθετούνται εκατέρωθεν του οστού δυο μικρές βελόνες, μήκους 40 mm και διαμέτρου 2 mm (ΕΙΚΟΝΑ 27). Η άνω βελόνη χρησιμεύει για την διοχέτευση των υπερήχων με σκοπό την προαγωγή της οστεογένεσης, ενώ δια

Τα χρησιμοποιούμενα αναισθητικά φάρμακα είναι η Νατριούχος Θειοπεντάλη (Pentothal) σε αραιό διάλυμα 1.25% σε δόση 10mg/kg σε συνδυασμό με Προτοφόλη (Diprivan) σε δόση 3-4mg/kg ή Κεταμίνης (Ketalar) σε δόση 4mg/kg με στόχο να μην επέλθει καταστολή της αναπνοής και υποξία στο ζώο.

Ακολούθως και ενώ το ζώο είναι ναρκωμένο, προετοιμάζεται το



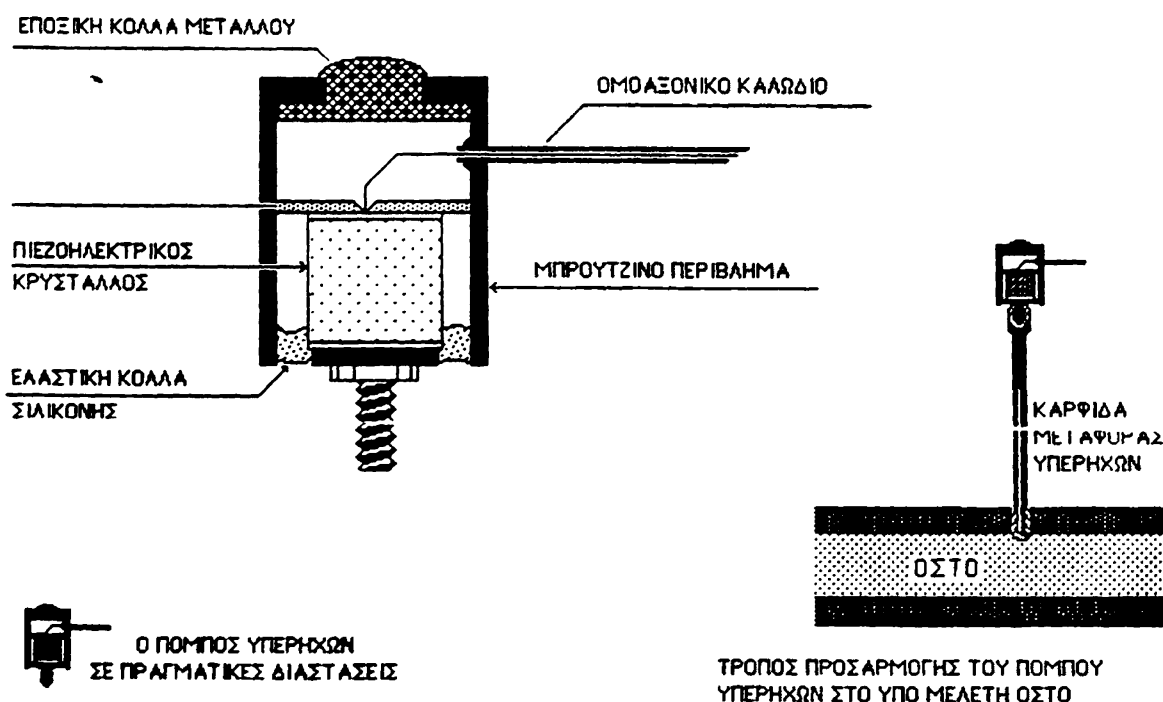
Εικόνα 26. Διεγχειρητική φωτογραφία. Έχει γίνει τοποθέτηση των δύο άνω βελονών και γίνεται η αποκάλυψη του οστού για την τοποθέτηση των βελονών στο κάτω μέρος της κνήμης.

μέσου και των δυο (πομπός και δέκτης), γίνονται οι μετρήσεις αγωγιμότητας των υπερήχων με ειδική συσκευή, για το διαγνωστικό μέρος του πειράματος.

Οι βελόνες αυτές φέρουν στο ελεύθερο άκρο τους μια κατασκευή που αποτελείται από μπρούτζινη βάση, στην οποία στερεώνεται ο πιεζοηλεκτρικός κρύσταλλος (Morgan Matroc Ltd., Model PZT-4D). Η προσαρμογή είναι τέτοια, ώστε η μηχανική ενέργεια (ταλάντωση) του κρυστάλλου να μεταφέρεται στη βίδα



Εικόνα 27. Οι βελόνες οι οποίες χρησίμευαν για την διοχέτευση των υπερήχων και για τη διάγνωση της οστεογένεσης.



Εικόνα 28. Σχεδιάγραμμα το οποίο αναπαριστά τη σύνδεση του πιεζοηλεκτρικού κρυστάλλου στις καρφίδες των υπερήχων.

προσαρμογής (ΕΙΚΟΝΑ 28). Για τα πειράματα της προαγωγής χρησιμοποιείται μόνο η μια (άνω) βελόνη με τον κρύσταλλο συντονισμένο στη συχνότητα του 1MHz και εντάσεως 30mV/cm^2 ενώ για το διαγνωστικό μέρος χρησιμοποιούνται και οι δυο βελόνες με τους κρυστάλλους συντονισμένους στις συχνότητες από 150 έως 250 KHz. Σε αυτό το σημείο (πριν την οστεοτομία) λαμβάνεται μια μέτρηση της ταχύτητας αγωγής των υπερήχων με ακέραιο το οστόν η οποία χρησιμεύει σαν σημείο αναφοράς.

Ακολουθεί η οστεοτομία, η οποία γίνεται με τρυπανισμούς του οστού με

φρέζα 2 mm και ολοκληρώνεται με μια σμίλη (ΕΙΚΟΝΑ 29). Στην συνέχεια, γίνεται ανάταξη των καταγματικών επιφανειών και τοποθέτηση του "σώματος" της εξωτερικής οστεοσύνθεσης. Μετά την οστεοτομία γίνεται μια ακόμη μέτρηση αγωγιμότητας των υπερήχων, η οποία επίσης χρησιμεύει σαν σημείο αναφοράς. Κατόπιν γίνεται η συρραφή του χειρουργικού τραύματος κατά στρώματα με απορροφήσιμο ράμμα ενώ το δέρμα συρράπτεται με μονόκλωνο ράμμα Nylon 3/0 (ΕΙΚΟΝΑ 30).

Πριν την ανάνηψη του ζώου, γίνονται δυο ακτινογραφίες (προσθιοπίσθια και πλάγια) με ακτινολογικό μηχάνημα το οποίο είναι εγκατεστημένο στην αίθουσα του χειρουργείου (ΕΙΚΟΝΑ 31). Μετά την ανάνηψη του, το ζώο μεταφέρεται με ειδικό τροχήλατο στο κλουβί του (ΕΙΚΟΝΑ 32).

Στην μετεγχειρητική περίοδο, τα ζώα σηκώνονται συνήθως ήδη την ημέρα του χειρουργείου και φορτίζουν το χειρουργημένο σκέλος ανάλογα με την ανοχή τους. Την φροντίδα τους αναλαμβάνει έμπειρος ζωοκόμος. Γίνεται καθημερινή αλλαγή του τραύματος για τον έλεγχο της πορείας του και την έγκαιρη διαπίστωση φλεγμονής.



Εικόνα 29. Διεγχειρητική φωτογραφία. Ολοκλήρωση της οστεοτομίας με σμίλη.



Εικόνα 30. Εξωτερική οστεοσύνθεση μετά το πέρας του χειρουργείου στην κνήμη του ζώου. Διακρίνονται οι βελόνες προαγωγής και διάγνωσης των υπερήχων.



Εικόνα 31. Λήψη ακτινογραφιών μετά το πέρας του χειρουργείου.



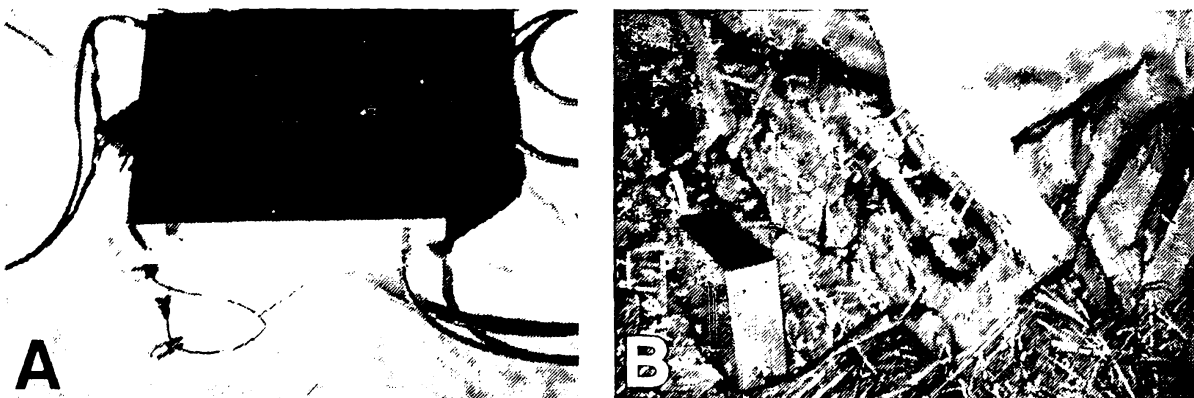
Εικόνα 32. Τοποθέτηση του ζώου στο κλουβί του αμέσως μετά το χειρουργείο.

ΜΕΘΟΔΟΙ

ΟΜΑΔΑ Α: Στην ομάδα αυτή όπως προαναφέρθηκε, έγινε μετά από οστεοτομία της κνήμης επιμήκυνση του οστού κατά 2 cm με την μέθοδο της διατατικής οστεογένεσης και ερευνήθηκε η επίδραση των υπερήχων χαμηλής έντασης, στον σχηματισμό οστού μετά από διατατική οστεογένεση.

Αναλυτικότερα, σε όλα τα ζώα μετά από μια περίοδο αναμονής 7 ημερών (latency period), άρχιζε δια μέσου του διατατήρα της εξωτερικής οστεοσύνθεσης, η διάταση της οστεοτομίας με ρυθμό 1mm την ημέρα σε δυο βήματα 0,5mmX2 ανά 12 ώρες. Η επιμήκυνση τελείωνε την 26^η μετεγχειρητική ημέρα (σύνολο 20 ημέρες) με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται 2 cm επιμήκυνση του οστού (0.5mmX2X20= 2 cm) και στη συνέχεια η εξωτερική οστεοσύνθεση παρέμενε στη θέση της μέχρι την ωρίμανση του νεοπαραχθέντος οστού (consolidation).

Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται συνολικά 30 ζώα. Στα 15 ζώα έγινε προαγωγή της οστεογένεσης με υπερήχους χαμηλής έντασης -30mW/cm²- και συχνότητας 1MHZ (EIKONA 33), ενώ τα υπόλοιπα δεν έλαβαν θεραπεία και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η διάρκεια της θεραπείας ήταν 20 λεπτά ημερησίως, αρχής γενομένης από την 7^η μετεγχειρητική ημέρα μέχρι και την θυσία του ζώου.



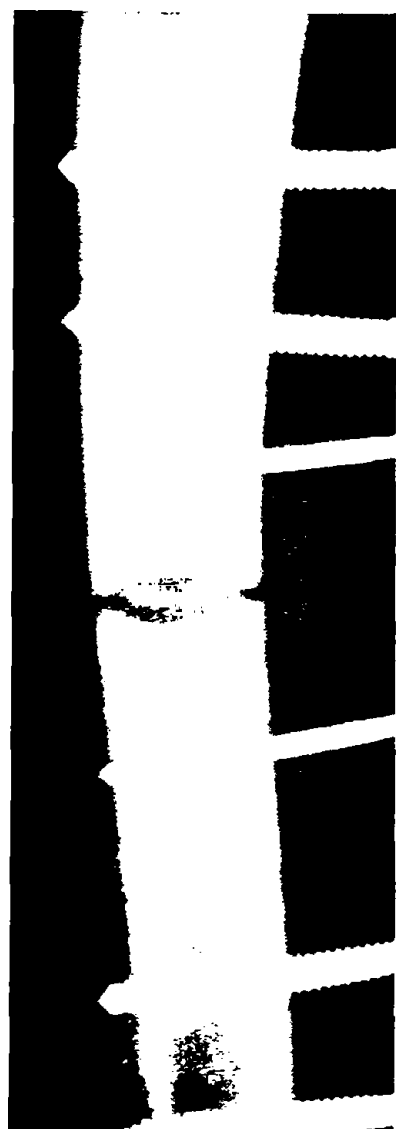
Εικόνα 33 A-B. (Α) Η συσκευή υπερήχων που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα της προαγωγής της οστεογένεσης. Διακρίνονται οι μεταλλάκτες που συνδέονται με τις βελόνες των υπερήχων. (Β) Εφαρμογή της συσκευής επί του ζώου. Μόνο ένας μεταλλάκτης συνδέεται για την προαγωγή της πώρωσης.

Μέθοδοι εκτίμησης των αποτελεσμάτων

Στην σειρά αυτή χρησιμοποιήθηκαν η απλή ακτινογραφία, η υπολογιστική πυκνομετρία και η ποσοτική αξονική τομογραφία για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

Όλα τα ζώα υποβάλλονταν σε προσθιοπίσθια και λοξή ακτινογραφία του χείρουργημένου σκέλους άμεσα μετεγχειρητικά και στην συνέχεια την 17^η, 38^η, 57^η,

76°, και 94°, μετεγχειρητική ημέρα (ΕΙΚΟΝΑ 34). Για την εκτίμηση των ακτινογραφιών χρησιμοποιήθηκε το σύστημα ταξινόμησης των Heckmann και συν.⁶⁷. Το τελικό σημείο της μελέτης ήταν η ωρίμανση του νεοπαραχθέντος οστού. Αυτό σύμφωνα με την ακτινολογική εικόνα συνέβαινε, όταν τουλάχιστον 3 από τους 4 φλοιούς εμφανίζονταν σε συνέχεια στην περιοχή της οστεογένεσης. Ο αριθμός των ημερών που συνέβαινε αυτό (τις προκαθορισμένες ημέρες που γινόταν ο ακτινολογικός έλεγχος) λογίζονταν σαν χρόνος

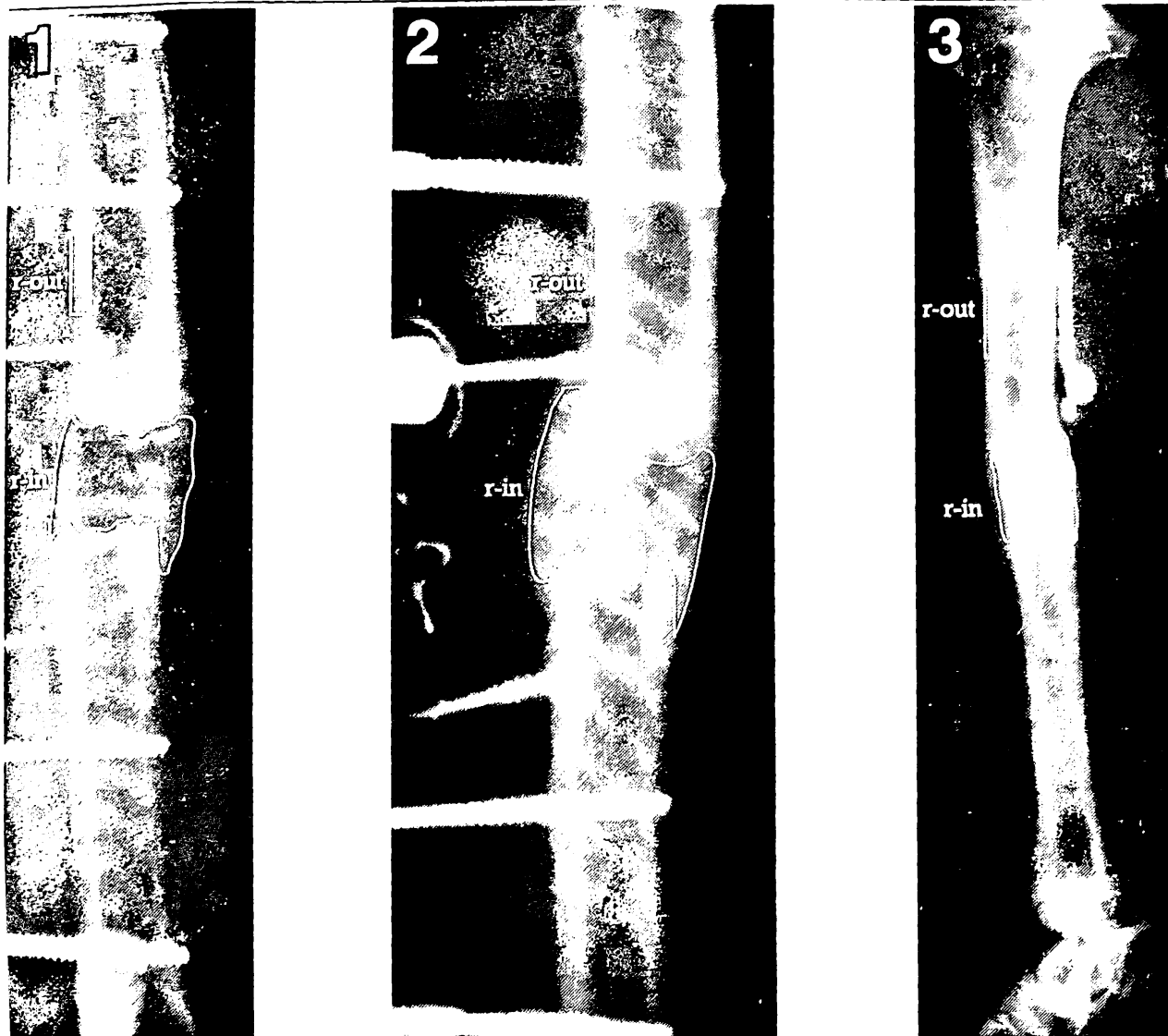


Εικόνα 34. Άμεση μετεγχειρητική ακτινογραφία. Διακρίνονται οι βελόνες μεταφοράς των υπερήχων πάνω στο οστό σε απόσταση 1 cm από την οστεοτομία.

πώρωσης αγνοώντας τις ενδιάμεσες εξετάσεις. Επιπροσθέτως, τα ενδιάμεσα στάδια της πορείας της οστεογένεσης εκτιμήθηκαν (ακτινολογικώς) ερευνώντας δυο παραμέτρους:

Η πρώτη ήταν η "γεφυροποίηση" του φλοιού, η βαθμιαία αποκατάσταση δηλαδή της συνέχειας του φλοιού σαν αποτέλεσμα παραγωγής νέου οστού. Ο βαθμός της γεφυροποίησης ορίστηκε ως: μηδενικός, όταν η διακοπή του φλοιού ήταν το ίδιο αμετάβλητη όπως στην άμεση μετεγχειρητική ακτινογραφία, αρχικός, όταν για πρώτη φορά εμφανιζόταν μια περιοστική αντίδραση στην περιοχή του διακεκομένου φλοιού, ενδιάμεσος όταν υπήρχε αύξηση της πυκνότητας της περιοστικής αντίδρασης και τέλος πλήρης όταν η περιοστική αντίδραση γεφυρποριοποιούσε τον φλοιό. Σε κάθε ακτινολογικό έλεγχο ελέγχονταν και οι τέσσερις φλοιοί στην προσθιοπίσθια και πλάγια ακτινογραφία.

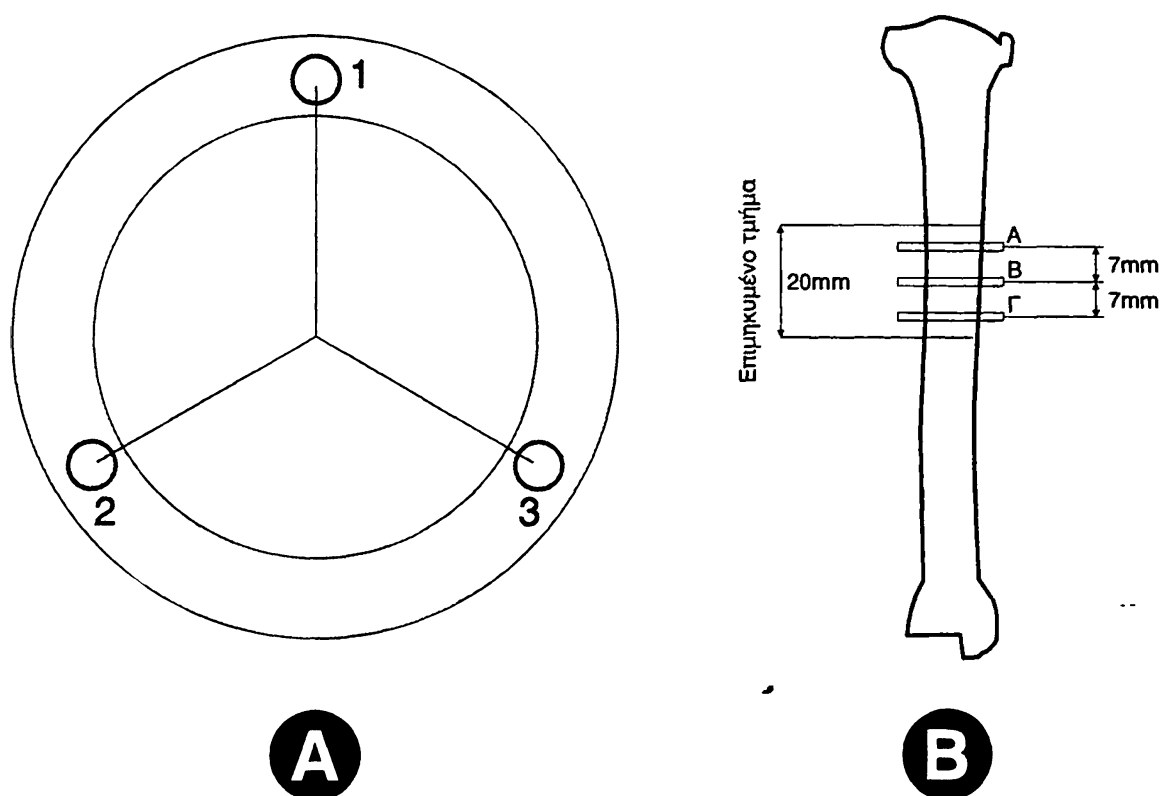
Η υπολογιστική πυκνομετρία είναι μια μέθοδος επεξεργασίας των ακτινογραφιών με την οποία επιχειρείται μια ποσοτική καταγραφή της πυκνότητας του νέου πώρου στην περιοχή της οστεογένεσης, με την χρήση ηλεκτρονικού



Εικόνα 35 (1-2-3). Μέθοδος επεξεργασίας ακτινογραφιών με υπολογιστική πυκνομετρία. Υπολογίζεται η πυκνότητα της περιοχής του συμπαγούς οστού σχήματος παραλληλογράμμου (r-out) και η πυκνότητα της περιοχής της οστεογένεσης (r-in). Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος (ratio) των δύο περιοχών. (1) 57^η μετεγχειρητική ημέρα ratio=0.425. (2) 76^η μετεγχειρητική ημέρα ratio=0.756. (3) 94^η μετεγχειρητική ημέρα (μετά την αφαίρεση της συσκευής - διακρίνεται η περιοχή επιμήκυνσης) ratio=0.879.

υπολογιστή. Βασίζεται στη διαφορά φωτεινότητας της περιοχής της οστεογένεσης και του συμπαγούς οστού. Αυτή η διαφορά ποσοτικοποιείται με τον υπολογισμό του μέσου όρου των φωτεινότητων των στοιχείων (pixels) που αποτελούν τις περιοχές ενδιαφέροντος. Αυτό βέβαια προϋποθέτει ψηφιοποίηση και επεξεργασία των συγκεκριμένων ακτινογραφιών. Μετά την μετατροπή των ακτινογραφιών σε ψηφιακές εικόνες, γινόταν η επεξεργασία τους με το λογισμικό πακέτο επεξεργασίας ιατρικής εικόνας ANALYZE. Συγκεκριμένα, γινόταν επιλογή μιας περιοχής συμπαγούς φλοιώδους οστού σχήματος παραλληλογράμμου παραπλεύρως της οστεοτομίας και επιλογή επίσης της περιοχής της οστεογένεσης (περιοχή ενδιαφέροντος). Στη συνέχεια υπολογιζόταν ο λόγος Ratio, που αντιστοιχεί στο μέσο όρο φωτεινότητας της περιοχής της οστεογένεσης προς το μέσο όρο φωτεινότητας της περιοχής του συμπαγούς οστού. Έτσι υπολογίζεται στη συγκεκριμένη χρονική στιγμή, η σχετική πυκνότητα του πώρου σε σχέση με το συμπαγές (υγιές) οστόν (ΕΙΚΟΝΑ 35).

Με την ποσοτική αξονική τομογραφία, εκτιμήθηκε η μέση οστική πυκνότητα του φλοιού του νεοπαραχθέντος οστού. Σε κάθε εγκάρσια τομή, υπολογιζόταν η πυκνότητα τριών σημείων του φλοιού και ο μέσος όρος περιγράφεται σαν μέση οστική πυκνότητα του νεοπαραχθέντος οστού (ΕΙΚΟΝΑ 36Α). Ο έλεγχος έγινε σε τρία διαφορετικά επίπεδα: Α= 7mm πάνω από το κέντρο της διατατικής ζώνης, Β= στο κέντρο της διατατικής ζώνης και Γ=7mm κάτω από το κέντρο της διατατικής ζώνης (ΕΙΚΟΝΑ 36Β). Τέλος, μια εγκάρσια τομή στο ίδιο ύψος γινόταν στο αντίστοιχο υγιές. Δώδεκα ζώα συνολικά (έξι μάρτυρες και έξι ζώα που έλαβαν θεραπεία) που θυσιάστηκαν την 90^η μετεγχειρητική ημέρα υποβλήθηκαν σε αυτή



Εικόνα 36 Α-Β. (Α) Η θέση των περιοχών ενδιαφέροντος στην ποσοτική αξονική τομογραφία. Η περιοχή Β είναι στο κέντρο της διατατικής ζώνης. Οι περιοχές Α και Γ βρίσκονται 7mm πάνω και κάτω από την περιοχή Β αντίστοιχα. (Β) Σχεδιάγραμμα στο οποίο απεικονίζονται τα σημεία στα οποία έγινε η μέτρηση της οστικής πυκνότητας. Ο μέσος όρος των τριών σημείων αποτελεί την τιμή για την κάθε περιοχή (Α-Β-Γ).

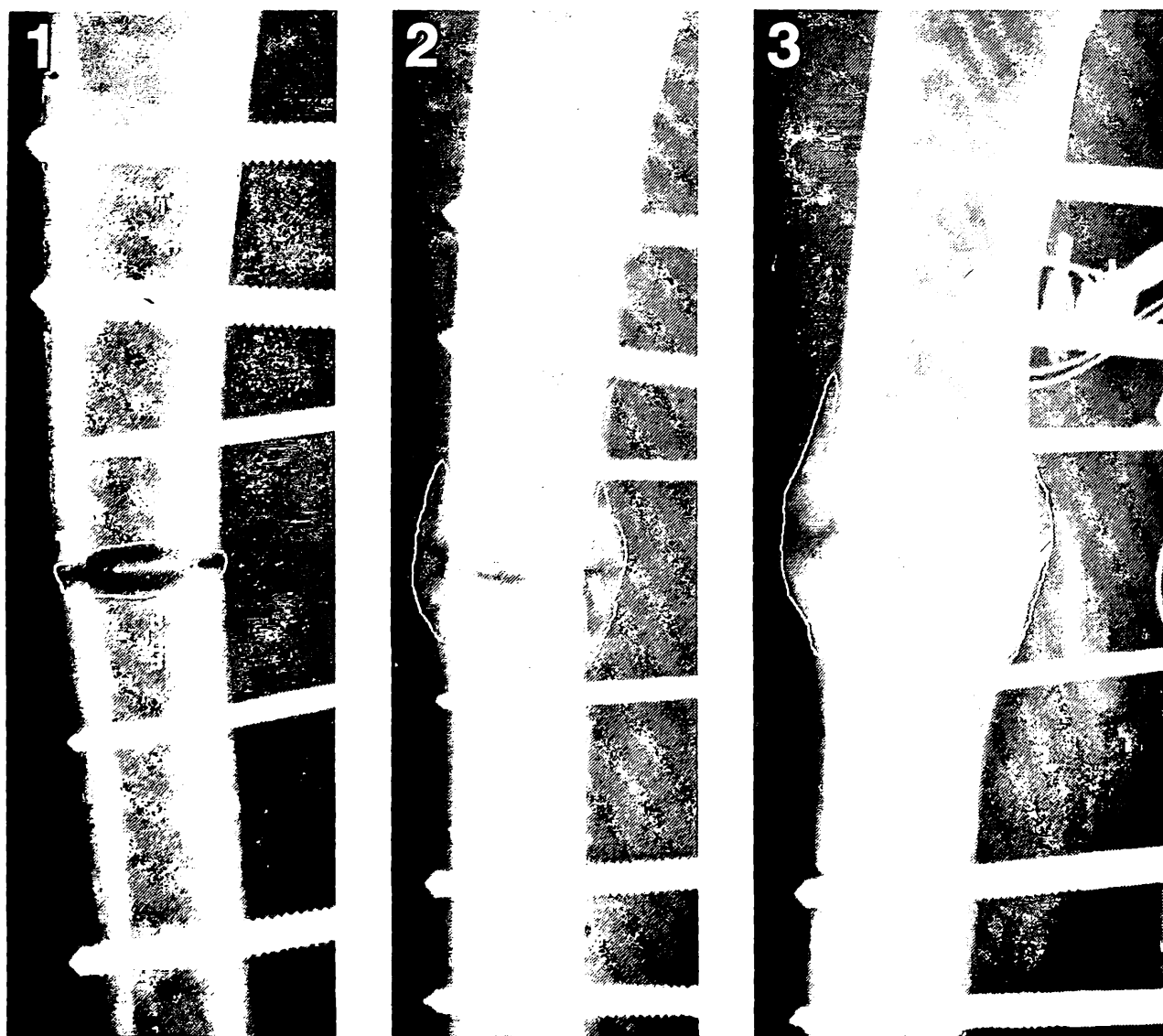
την εξέταση.

ΟΜΑΔΑ Β: Στην ομάδα αυτή έγινε οστεοτομία της κνήμης στην μεσότητα της διάφυσης και συγκράτηση με εξωτερική οστεοσύνθεση (μοντέλο κατάγματος). Η ομάδα αυτή περιελάμβανε συνολικά 40 ζώα. Στα 20 ζώα έγινε προαγωγή της οστεογένεσης με υπερήχους χαμηλής έντασης (30mW/cm^2) 20 λεπτά ημερησίως από την 1^η μετεγχειρητική ημέρα έως την θυσία του ζώου, ενώ τα υπόλοιπα 20 δεν έλαβαν θεραπεία και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

• Μέθοδοι εκτίμησης των αποτελεσμάτων

Στην σειρά αυτή χρησιμοποιήθηκαν η απλή ακτινογραφία, η υπολογιστική πυκνομετρία, η ποσοτική αξονική τομογραφία και η εμβιομηχανική ανάλυση τριών σημείων για την εκτίμηση των αποτελεσμάτων.

Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των ακτινογραφιών και για την υπολογιστική πυκνομετρία ήταν η ίδια που χρησιμοποιήθηκε και στην ομάδα Α (ΕΙΚΟΝΑ 37). Ο ακτινολογικός έλεγχος στην ομάδα αυτή έγινε άμεσα



Εικόνα 37 (1-2-3). Μέθοδος επεξεργασίας ακτινογραφιών με υπολογιστική πυκνομετρία. Υπολογίζεται η πυκνότητα της περιοχής του συμπαγούς οστού σχήματος παραλληλογράμμου (r-out) και η πυκνότητα της περιοχής της οστεογένεσης (r-in). Στη συνέχεια υπολογίζεται ο λόγος (ratio) των δύο περιοχών. (1) 17^η μετεγχειρητική ημέρα ratio=0.393. (2) 76^η μετεγχειρητική ημέρα ratio=0.711. (3) 94^η μετεγχειρητική ημέρα ratio=0.965.

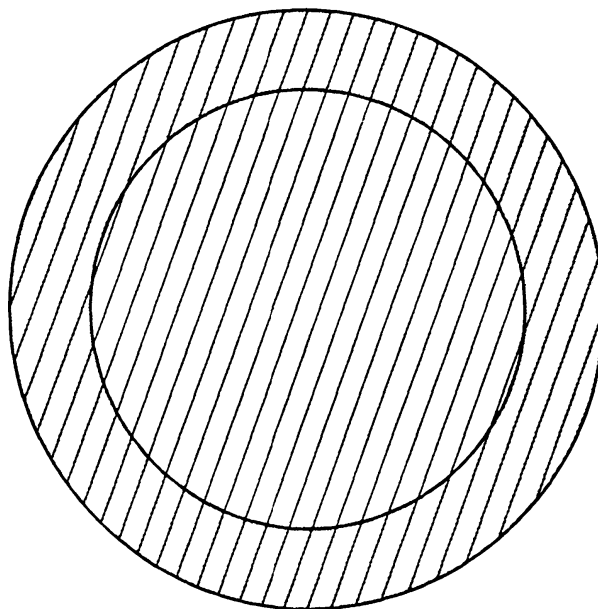
μετεγχειρητικά και την 30^η, 45^η, 60^η, 75^η, 90^η, και 120^η μετεγχειρητική ημέρα.

Όσον αφορά στην ποσοτική αξονική τομογραφία, εκτιμήθηκε η μέση οστική πυκνότητα του νεοπαραχθέντος οστού με μια εγκάρσια τομή στο επίπεδο της

οστεοτομίας, συνυπολογίζοντας την πυκνότητα και του φλοιώδους και του σπογγώδους οστού (ΕΙΚΟΝΑ 38). Μια αντίστοιχη μέτρηση έγινε στο ίδιο ύψος στο υγιές άκρο. Δέκα ζώα συνολικά (πέντε μάρτυρες και πέντε ζώα που έλαβαν θεραπεία) τα οποία ακτινολογικώς είχαν σε συνέχεια 3 από τους 4 φλοιούς, θυσιάστηκαν την 90^η μετεγχειρητική ημέρα και υποβλήθηκαν σε αυτή την εξέταση.

Η εμβιομηχανική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε ήταν ανάλυση καταπόνησης τριών σημείων, με εφαρμογή δύναμης σε χαμηλή ταχύτητα (low strain rate) για να διαπιστωθεί το τελικό φορτίο κατάγματος (fracture load).

Πραγματοποιήθηκε σε 10 ζώα (τα ίδια που υποβλήθηκαν σε αξονική τομογραφία) την 90^η μετεγχειρητική ημέρα (πέντε μάρτυρες και πέντε ζώα που έλαβαν θεραπεία) και σε 10 ζώα την 120^η μετεγχειρητική ημέρα (πέντε μάρτυρες και πέντε ζώα που έλαβαν θεραπεία).



Εικόνα 38. Η μέση οστική πυκνότητα στην ομάδα Β εκτιμήθηκε συνυπολογίζοντας την πυκνότητα και του φλοιώδους και του σπογγώδους οστού (γραμμοσκιασμένη περιοχή) με μια τομή στο επίπεδο της οστεοτομίας.

Μεθοδολογία διάγνωσης της οστεογένεσης με σύστημα υπερήχων

Η μεθοδολογία και το σύστημα που χρησιμοποιήθηκε, για την διάγνωση της οστεογένεσης με το συγκεκριμένο σύστημα υπερήχων, σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε από το Τμήμα Φυσικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Όπως τονίσθηκε και στο γενικό μέρος, η μετάδοση των ακουστικών κυμάτων σε ένα σύστημα εξαρτάται από τις ιδιότητες των υλικών που απαρτίζουν το σύστημα. Το πρόβλημα της οστεογένεσης μπορεί να μελετηθεί θεωρητικά, αν θεωρήσουμε ένα σύστημα αποτελούμενο από δυο περιοχές: την περιοχή του οστού (το οποίο είναι κυλινδρικός αυλός) που εξωτερικά είναι συμπαγές οστόν και εσωτερικά περιέχει μυελό των οστών, και την περιοχή του πώρου, του οποίου η μεταβολή των ιδιοτήτων χαρακτηρίζει και την προαγωγή και ωρίμανση της οστεογένεσης.

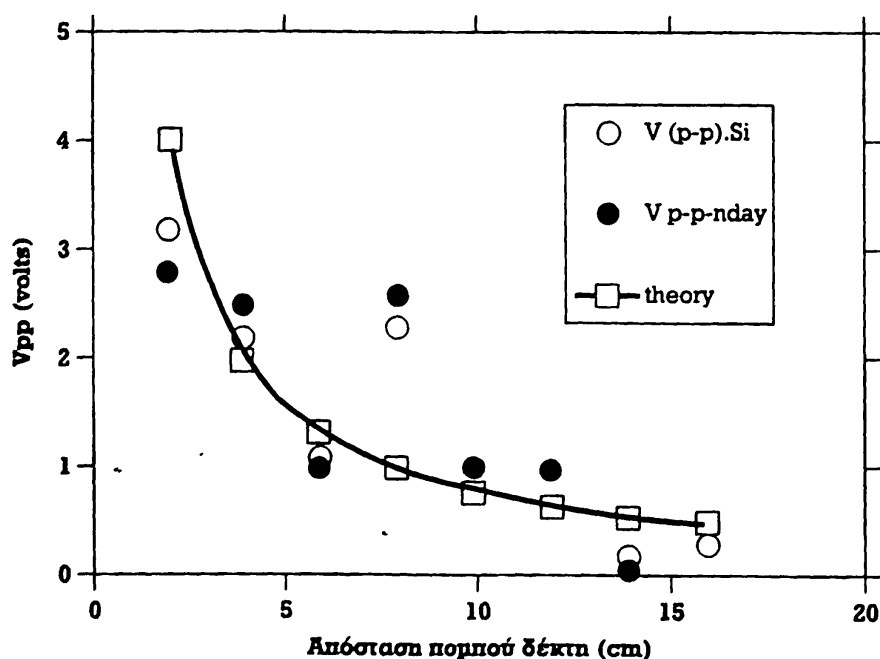
Για να περάσουμε στο *in vivo* στάδιο της εφαρμογής του συστήματος έγιναν ορισμένα πειράματα στο εργαστήριο σε πτωματικά οστά (κνήμες προβάτων) που περιελάμβανε και τις δυο αρθρώσεις, ώστε να δοθεί απάντηση σε ορισμένα βασικά ερωτήματα όπως:

- α) αν τα κατασκευασθέντα ηλεκτρονικά κυκλώματα είναι ικανά να ανταποκριθούν στις πραγματικές συνθήκες του πειράματος και να δώσουν τα κατάλληλα σήματα προς περαιτέρω επεξεργασία
- β) αν η ένταση του σήματος των υπερήχων (μετρούμενη σε mV), καθώς διαδίδονται μέσα στο οστόν μεταβάλλεται με την απόσταση
- γ) αν η ένταση του σήματος των υπερήχων αντανakλά την ποιότητα του οστού
- δ) αν οι αρθρώσεις απομονώνουν ηχητικά τα δυο τμήματα του οστού που συνδέουν.

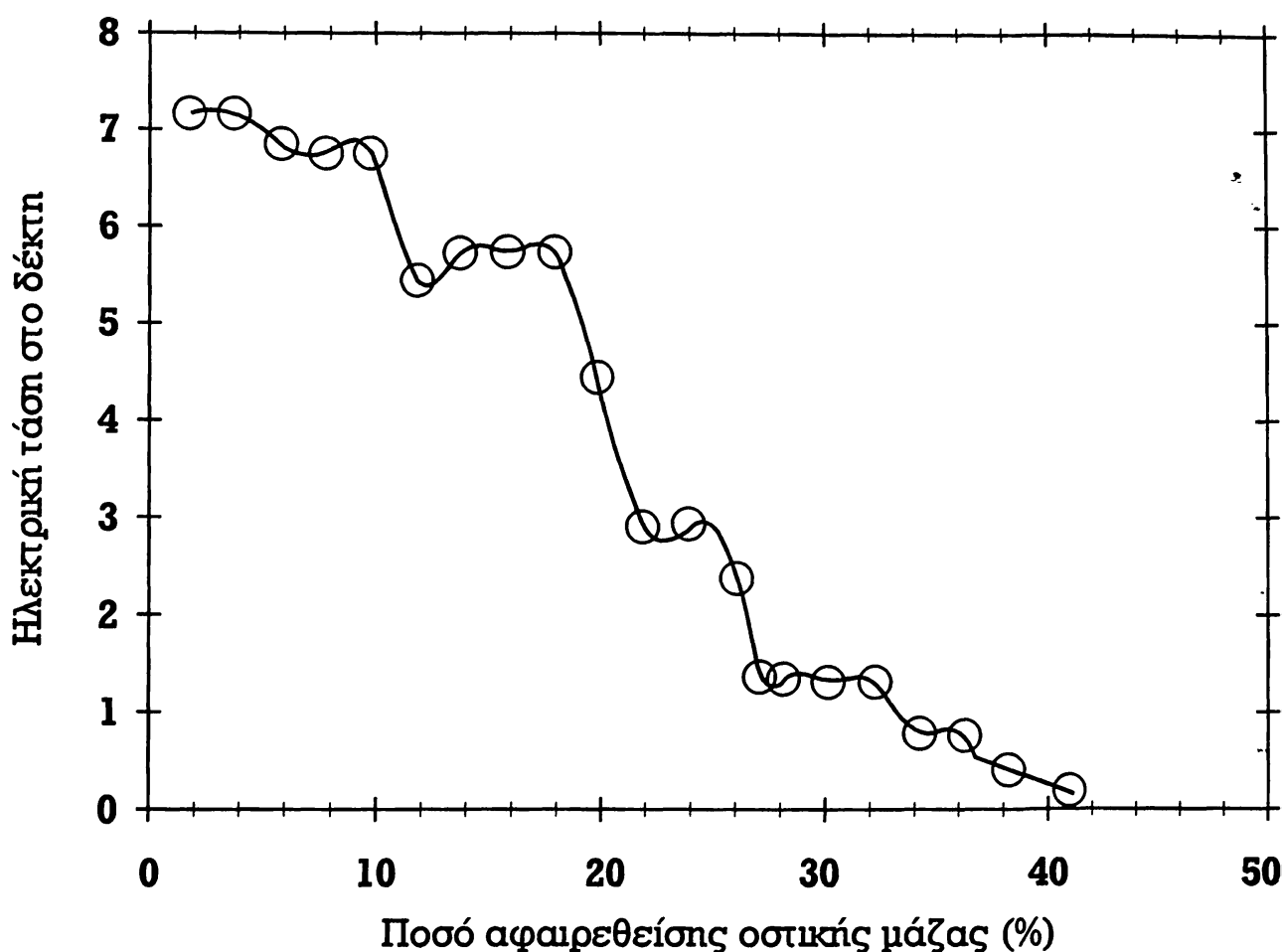
Το πείραμα που εκτελέστηκε για να απαντηθούν αυτά τα ερωτήματα ήταν το εξής: τοποθετήθηκαν τα υπερηχητικά probes (πομπός και δέκτης) σε διαφορετικές αποστάσεις ώστε να καλύπτουν όλο το μήκος της κνήμης και εκατέρωθεν των αρθρώσεων. Αφαίρεση οστικού τμήματος πάχους 1cm στο κέντρο του οστού και συμπλήρωση του κενού με φρέσκο τσιμέντο (Vertex) και τέλος μετρήσεις μετά από σταδιακή αφαίρεση οστικής μάζας από ένα συγκεκριμένο σημείο.

Τα αποτελέσματα μπορούν να συνοψιστούν στα ακόλουθα:

- α) τα ηλεκτρονικά κυκλώματα τα οποία έγιναν σε μορφή μινιατούρας, δουλεύουν ικανοποιητικά στο οστόν ώστε να δίνουν μετρήσιμα σήματα που είναι απαραίτητα στα συγκεκριμένα πειράματα
- β) η ένταση του σήματος στον δέκτη είναι αντιστρόφως ανάλογη προς την απόσταση από τον εκπομπό. Για αποστάσεις πέραν των 4-5 cm μεταξύ πομπού-δέκτη η ένταση του σήματος στον δέκτη έχει σημαντικές απώλειες (ΕΙΚΟΝΑ 39). Ως



Εικόνα 39. Γραφική παράσταση που δείχνει τα αποτελέσματα της έντασης του σήματος στον δέκτη σε σχέση με την απόσταση. Είναι φανερό ότι η ένταση του σήματος εξασθενεί καθώς μεγαλώνει η απόσταση.



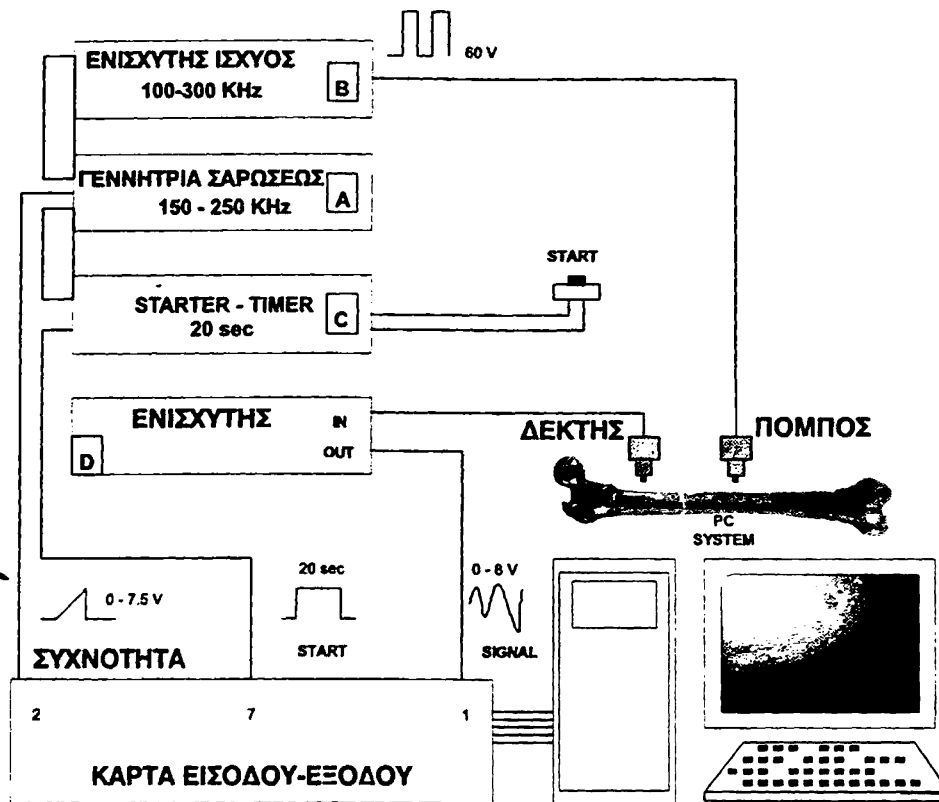
Εικόνα 40. Γραφική παράσταση που δείχνει τα αποτελέσματα της έντασης του σήματος σε σχέση με το ποσό της οστικής μάζας που αφαιρείται. Η ένταση του σήματος πέφτει όσο αυξάνεται το ποσό της οστικής μάζας που αφαιρείται.

εκ τούτου, επιλέχθηκε μια απόσταση 2 cm για την εκτέλεση του πειράματος.

γ) η ένταση του σήματος μειώνεται όσο αφαιρείται οστική μάζα (ΕΙΚΟΝΑ 40), ενώ αυτή αυξάνεται σταδιακά κατά την διάρκεια σκλήρυνσης του τσιμέντου (χρόνος 30 λεπτών). Τα παραπάνω είναι ενθαρρυντικά για να πιστεύουμε ότι η ένταση του σήματος των υπερήχων μπορεί να εκφράσει την ποιότητα της υπό έρευνας περιοχής.

δ) οι αρθρώσεις αποτελούν μόνωση υπερήχων καθώς δεν αναγνώσθηκε υπερηχητικό σήμα στον δέκτη όταν παρεμβάλλονταν άρθρωση μεταξύ πομπού-δέκτη.

Το σύστημα λοιπόν, που αναπτύχθηκε φαίνεται στην ΕΙΚΟΝΑ 41. Η διάταξη αυτή στην πραγματικότητα είναι ένας φασματογράφος ο οποίος σε γενικές γραμμές εκπέμπει ένα φάσμα υπερήχων σε συχνότητες 150 και 250 KHZ και καταγράφει στον δέκτη ποιες συχνότητες και σε ποια ένταση (σε mV) απορροφώνται περισσότερο ή λιγότερο κατά περίπτωση. Τα υπερηχητικά κύματα στην διαδρομή τους από τον πομπό στον δέκτη περνούν από την περιοχή δημιουργίας νέου οστού. Επομένως, το



Εικόνα 41. Η διάταξη του συστήματος που χρησιμοποιήθηκε για την διάγνωση της οστεογένεσης με υπερήχους. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αποθηκεύονται και αναλύονται από ηλεκτρονικό υπολογιστή.

φάσμα στον δέκτη περιέχει πληροφορίες σχετικά με την ποιότητα του νέου οστού.

Τα δεδομένα συλλέγονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και αναλύονται με ένα ειδικό πακέτο λογισμικού (GENIE).

Οι μετρήσεις ήταν καθημερινές για τις πρώτες 20 μετεγχειρητικές ημέρες και εβδομαδιαίες στην συνέχεια μέχρι την θυσία του ζώου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΟΜΑΔΑ Α: Στην ομάδα αυτή 5 ζώα από τα 30 πέθαναν κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου. Οι θάνατοι συνέβησαν μεταξύ της 6^{ης} και 28^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας. Η νεκροτομή έδειξε ότι η αιτία θανάτου σε τέσσερις περιπτώσεις ήταν η σηψαιμία και σε μία περίπτωση πνευμονία. Δυστυχώς παρά τις καθημερινές αλλαγές, η έλλειψη δυνατότητας για συνεργασία από την πλευρά του ζώου, οδηγούσε σε ορισμένες περιπτώσεις σε φλεγμονή του χειρουργικού τραύματος, καθώς το ζώο κάθεται συχνά με το χειρουργημένο σκέλος πάνω στα περιττώματα, με αποτέλεσμα την σηψαιμία και τον θάνατο του ζώου.

Από τους 5 θανάτους, 3 αφορούσαν σε ζώα που ανήκαν στην ομάδα ελέγχου και 2 σε ζώα που ανήκαν στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Επίσης, σε ένα ζώο που ανήκε στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους, είχαμε αποτυχία των υλικών οστεοσύνθεσης.

Έτσι λοιπόν, ο συνολικός αριθμός των ζώων που ήταν διαθέσιμος για μελέτη ήταν 24 (12 για την ομάδα ελέγχου και 12 για την ομάδα που έλαβε θεραπεία). Όλα τα ζώα θυσιάστηκαν την 94^η μετεγχειρητική ημέρα.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων των ακτινογραφιών έγινε με την μέθοδο του Fisher exact χ^2 -test. Καμιά διαφορά στατιστικώς σημαντική, δεν προέκυψε μεταξύ των δυο ομάδων, σε κάθε χρονική στιγμή όσον αφορά στην ολοκλήρωση της οστεογένεσης (3 από τους 4 φλοιούς σε συνέχεια) (ΕΙΚΟΝΕΣ 42-43). Την 76^η μετεγχειρητική ημέρα σε 3 από τα 12 ζώα (25%) της ομάδας ελέγχου και σε 4 από τα 12 ζώα (33.33%) της ομάδας που έλαβε θεραπεία είχε ολοκληρωθεί η οστεογένεση ($p=0.84$). Την 94^η μετεγχειρητική ημέρα σε 8 από τα 12 (66.66%) ζώα της ομάδας ελέγχου και σε 9 από τα 12 (75%) ζώα της ομάδας που έλαβε θεραπεία είχε ολοκληρωθεί η οστεογένεση ($p=0.78$).

Η μέθοδος ANOVA (analysis of variance) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων της υπολογιστικής πυκνομετρίας. Σε κάθε χρονική στιγμή (17^η, 38^η, 57^η, 76^η, και 94^η, μετεγχειρητική ημέρα) η στατιστική ανάλυση δεν ανέδειξε καμία διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων (ΠΙΝΑΚΑΣ 6). Η σχετική πυκνότητα του πώρου την 76^η μετεγχειρητική ημέρα ήταν 0.620 ± 0.138 για την ομάδα ελέγχου και 0.635 ± 0.158 για την ομάδα που έλαβε θεραπεία ($p=0.881$). Την 94^η μετεγχειρητική ημέρα, η σχετική πυκνότητα του πώρου ήταν 0.829 ± 0.053 για την ομάδα ελέγχου και 0.876 ± 0.051 για την ομάδα που έλαβε θεραπεία ($p=0.167$). Το διάγραμμα της εικόνας 44 δείχνει την πορεία της οστεογένεσης σε σχέση με το χρόνο για τις δυο ομάδες.

Η ποσοτική αξονική τομογραφία που έγινε την 94^η μετεγχειρητική ημέρα ανέδειξε για τα περισσότερα ζώα έναν κυκλικό σχηματισμό νέου οστού στην περιοχή της οστεογένεσης και "φλοιοποίηση" του νεοπαραχθέντος οστού και αρχή

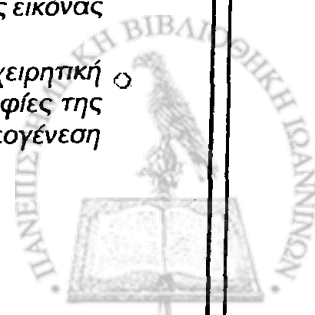


Εικόνα 42 (1-2-3-4). Ακτινογραφίες ζώου που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. (1) 17^η μετεγχειρητική ημέρα - 10^η ημέρα της διάτασης. Ήδη έχει αρχίσει να φαίνεται ο σχηματισμός νέου οστού. (2-3) 57^η και 76^η μετεγχειρητική ημέρα αντίστοιχα. Η πρόοδος της οστεογένεσης συνεχίζεται. (4) την 94^η μετεγχειρητική ημέρα μετά την αφαίρεση της συσκευής, έχει γίνει σχεδόν πλήρη ωρίμανση του νεοπαραχθέντος οστού.



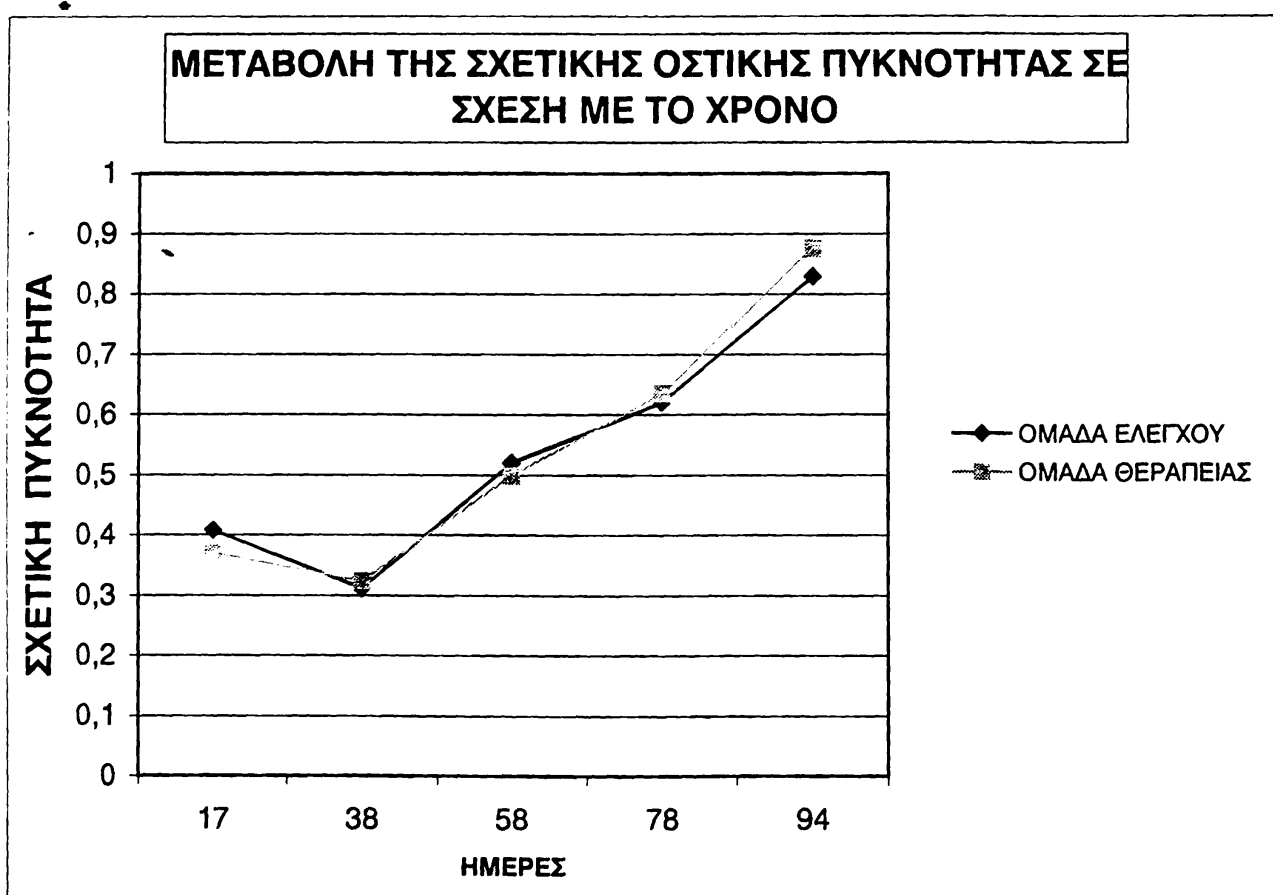
Εικόνα 43 (1-2-3-4). Ακτινογραφίες ζώου της ομάδας ελέγχου (που δεν έλαβε θεραπεία με υπερήχους). Η χρονική σειρά των ακτινογραφιών είναι ίδια με αυτήν της εικόνας 42.

(1) 17^η, (2) 57^η, (3) 76^η και (4) 94^η μετεγχειρητική ημέρα. Σε σύγκριση με τις ακτινογραφίες της εικόνας 42 παρατηρούμε ότι η οστεογένεση προχωρά με τον ίδιο ρυθμό.



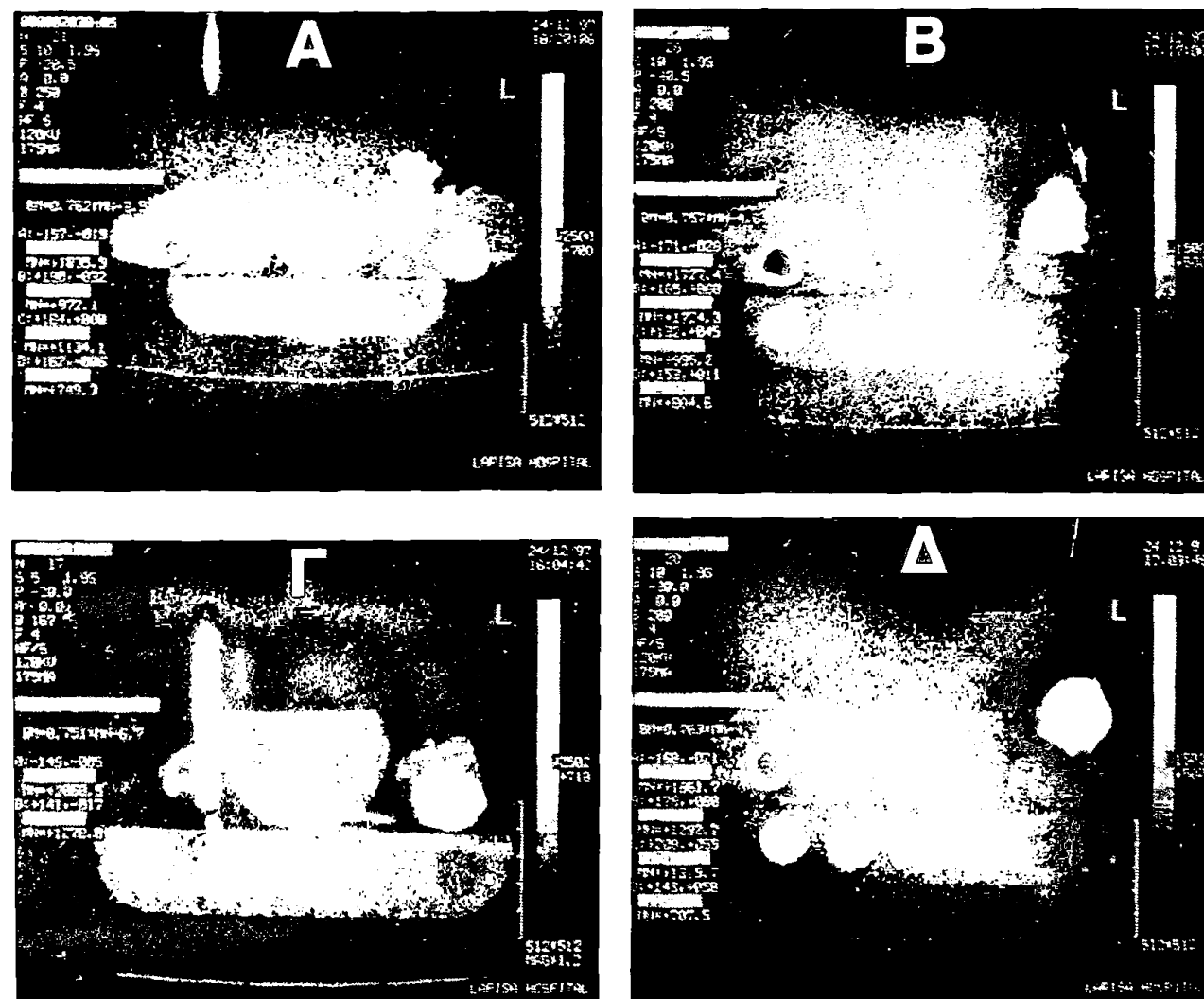
Πίνακας 6. Αποτελέσματα υπολογιστικής πυκνομετρίας

	Μετεγχειρητική ημέρα				
	17 ^η	38 ^η	57 ^η	76 ^η	94 ^η
Ομάδα θεραπείας	0,371 ± 0,132	0,459 ± 0,104	0,499 ± 0,77	0,635 ± 0,158	0,876 ± 0,51
Ομάδα ελέγχου	0,408 ± 0,146	0,429 ± 0,57	0,520 ± 0,133	0,620 ± 0,138	0,829 ± 0,53
p value	0,739	0,516	0,768	0,881	0,167

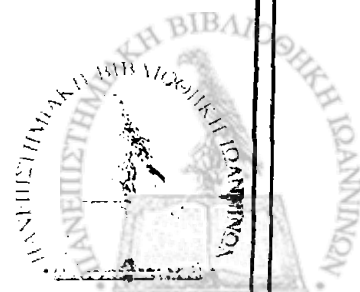
**Εικόνα 44.** Γραφική παράσταση που δείχνει τη μεταβολή της σχετικής οστικής πυκνότητας σε σχέση με το χρόνο για τις δύο ομάδες.

σχηματισμού του μυελικού καναλιού και αρχή ανακατασκευής του νέου οστού (ΕΙΚΟΝΑ 45). Η μέθοδος ANOVA (analysis of variance) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Ο μέσος όρος της οστικής πυκνότητας του φλοιού (mg/ml) για την ομάδα ελέγχου στο επίπεδο Α (7mm πάνω από το κέντρο της της διατατικής ζώνης) ήταν 915.92 ± 68.64 και για την ομάδα που έλαβε θεραπεία 940.93 ± 81.30 ($p=0.78$). Στο κέντρο της διατατικής ζώνης (επίπεδο Β) ήταν 776.20 ± 57.10 για την ομάδα ελέγχου και για την ομάδα που έλαβε θεραπεία 797.72 ± 58.41 ($p=0.95$). Τέλος, στο επίπεδο Γ (7mm κάτω από το κέντρο της διατατικής ζώνης) ο μέσος όρος της οστικής πυκνότητας του φλοιού για την ομάδα

ελέγχου ήταν 913.26 ± 73.26 και για την ομάδα που έλαβε θεραπεία 918.73 ± 60.53 ($p=0.93$) (ΠΙΝΑΚΑΣ 7). Όπως γίνεται αντιληπτό, δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων ως προς τις μετρήσεις σε όλα τα επίπεδα.



Εικόνα 45 (Α-Β-Γ-Δ). Αξονική τομογραφία μετά την θυσία των ζώων (94^η μετεγχειρητική ημέρα). (Α,Γ) ομή στο επίπεδο Β σε ζώο της ομάδας ελέγχου και της ομάδας θεραπείας αντίστοιχα. Είναι σαφής ο σχηματισμός των οστικών δοκίδων του νέου οστού, ενώ το μυελικό κανάλι δεν έχει σχηματισθεί ακόμη. (Β,Δ) τομή στο επίπεδο Α σε ζώο της ομάδας ελέγχου και της ομάδας θεραπείας αντίστοιχα. Είναι φανερός ο σχηματισμός του νέου φλοιού και η αρχή σχηματισμού του μυελικού καναλιού. Δεν υπάρχουν αισθητές διαφορές μεταξύ των ζώων της ομάδας ελέγχου και της ομάδας θεραπείας και για τα δύο επίπεδα. Ισριστερά στις εικόνες διακρίνεται η τομή του φυσιολογικού αντίθετου οστού.



Πίνακας 7. Οστική πυκνότητα του φλοιού (mg/ml)
μετρούμενη με αξονική ποσοτική τομογραφία

Περιοχή	Ομάδα θεραπείας	Ομάδα ελέγχου	p value
A	940,93 ± 81,30	915,92 ± 68,64	0,78
B	797,72 ± 58,41	776,20 ± 57,10	0,95
Γ	918,73 ± 60,53	913,26 ± 73,26	0,93
Φυσιολογική αντίθετη κνήμη	1426,80 ± 80,00	1399,00 ± 78,55	0,87

ΟΜΑΔΑ Β: Στην ομάδα αυτή είχαμε 3 θανάτους κατά την διάρκεια της μετεγχειρητικής περιόδου. Οι θάνατοι συνέβησαν μεταξύ της 10^{ης} και 56^{ης} μετεγχειρητικής ημέρας. Η νεκροτομή έδειξε ότι η αιτία θανάτου και στις τρεις περιπτώσεις οφειλόταν σε σηψαιμία για τους ίδιους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω. Δυο θάνατοι αφορούσαν σε ζώα που ανήκαν στην ομάδα ελέγχου και ένας σε ζώο που ανήκε στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους.

Έτσι λοιπόν ο αριθμός των διαθέσιμων ζώων των οποίων τα αποτελέσματα των ακτινογραφιών αναλύθηκαν ήταν 29 (14 από την ομάδα ελέγχου και 15 από την ομάδα που έλαβε θεραπεία).

Δυο ζώα της ομάδας που έλαβε θεραπεία και ένα ζώο της ομάδας ελέγχου δεν πωρώθηκαν την 120^η μετεγχειρητική ημέρα.

Για να υπολογισθεί ο μέσος χρόνος πώρωσης (τρεις από τους τέσσερις φλοιούς σε συνέχεια) για τις δυο ομάδες, χρησιμοποιήθηκε η Kruskal-Wallis Anova μέθοδος ανάλυσης. Εξαιρώντας τα ζώα που δεν πωρώθηκαν από τις δυο ομάδες, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι ο μέσος χρόνος πώρωσης για την ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους ήταν 90±18.25 ημέρες (εύρος 60-120) ενώ για την ομάδα ελέγχου ήταν 107.3±17.46 ημέρες (εύρος 75-120) (p=0.027) μια διαφορά στατιστικώς σημαντική (EIKONEΣ 46-47). Συνυπολογίζοντας τα ζώα που δεν πωρώθηκαν (το ανώτερο όριο των 120 ημερών θεωρήθηκε ως χρόνος πώρωσης) ο μέσος χρόνος πώρωσης για την ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους ήταν 94±21.2 ημέρες (εύρος 60-120) ενώ για την ομάδα ελέγχου ήταν 108.2±19.25 ημέρες (εύρος 75-120) (p=0.058). Η διαφορά αυτή αγγίζει τα όρια του σημαντικού.

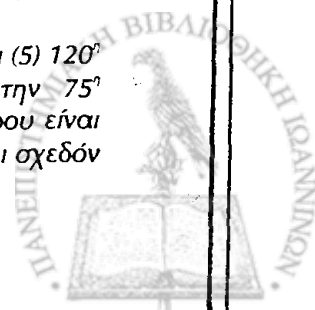
Την 75^η μετεγχειρητική ημέρα 5 από τα 15 (33.33%) της ομάδας που έλαβε θεραπεία είχαν πωρωθεί και 1 από τα 14 (7.14%) από την ομάδα ελέγχου (p=0.09 Fisher exact χ^2 -test). Την 90^η μετεγχειρητική ημέρα 10 από τα 15 (66.66%) της ομάδας που έλαβε θεραπεία είχαν πωρωθεί και 6 από τα 14 (42.8%) από την ομάδα

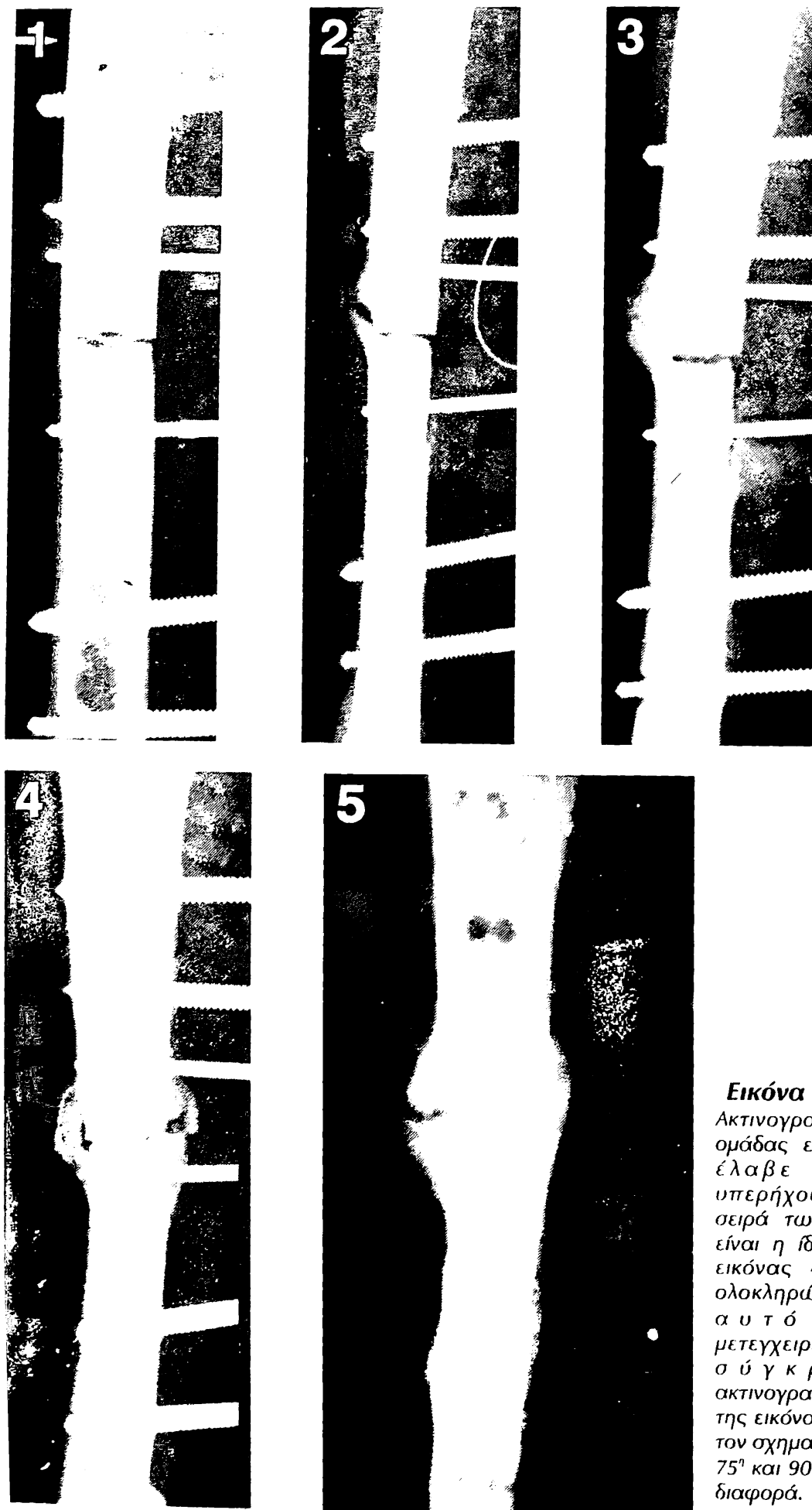


Εικόνα 46 (1-2-3-4-5).

Ακτινογραφίες ζώου της ομάδας θεραπείας που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Η χρονική σειρά των ακτινογραφιών είναι:

(1) 30°, (2) 60°, (3) 75° (4) 90° και (5) 120° μετεγχειρητική ημέρα. Από την 75° ημέρα ο σχηματισμός του πώρου είναι πλούσιος και την 90° ημέρα έχει σχεδόν ολοκληρωθεί η πύρωση.





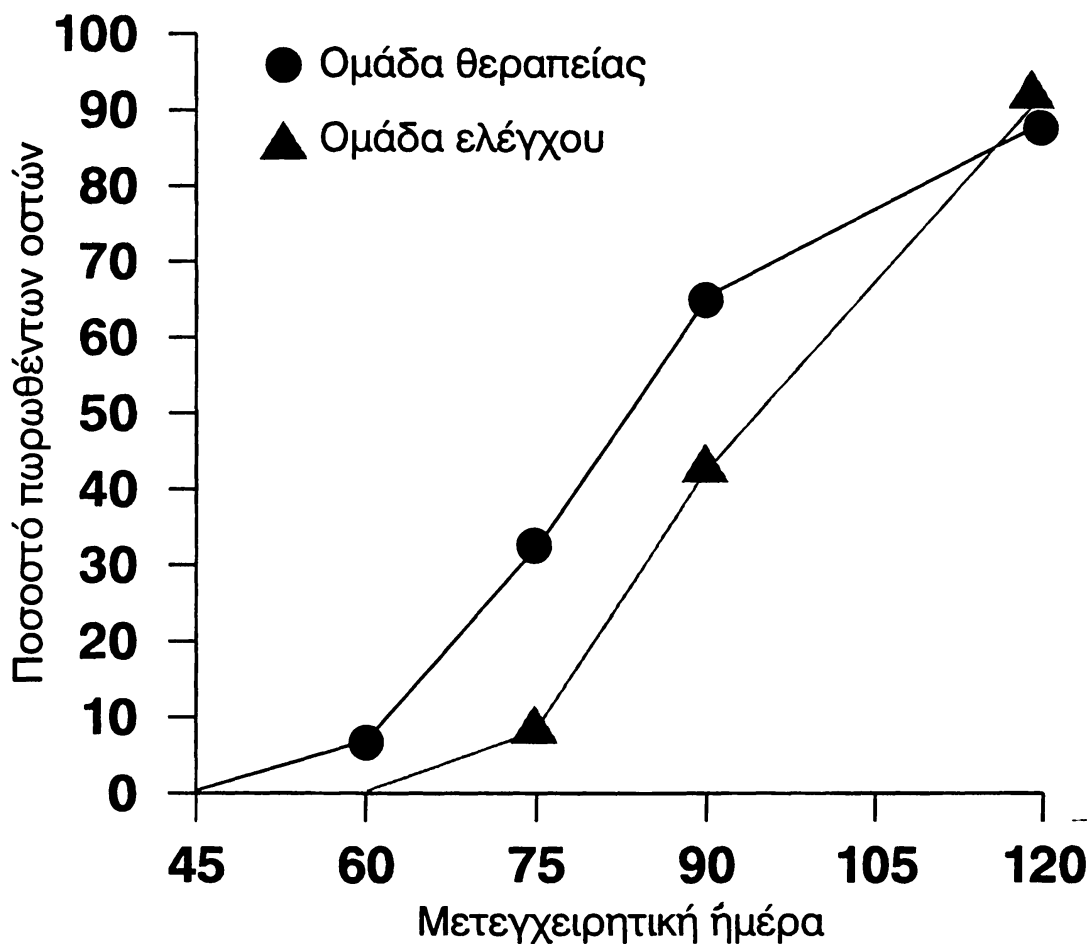
Εικόνα 47 (1-2-3-4-5).

Ακτινογραφίες ζώου της ομάδας ελέγχου (που δεν έλαβε θεραπεία με υπερήχους). Η χρονική σειρά των ακτινογραφιών είναι η ίδια με αυτήν της εικόνας 46. Η πώρωση ολοκληρώνεται στο ζώο αυτό την 120^η μετεγχειρητική ημέρα. Η σύγκριση των ακτινογραφιών με το ζώο της εικόνας 46 όσον αφορά τον σχηματισμό πύρου, την 75^η και 90^η ημέρα δείχνει τη διαφορά.



ελέγχου ($p=0.25$ Fisher exact χ^2 -test). Τέλος την 120^η μετεγχειρητική ημέρα 14 από τα 16 (87.5%) της ομάδας που έλαβε θεραπεία είχαν πωρωθεί και 13 από τα 14 (92.8%) από την ομάδα ελέγχου ($p=0.88$ Fisher exact χ^2 -test) (ΕΙΚΟΝΑ 48).

Το αξιοσημείωτο που προκύπτει από την παραπάνω ανάλυση είναι ότι, υπάρχει σε κάθε χρονική στιγμή μια διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων η οποία

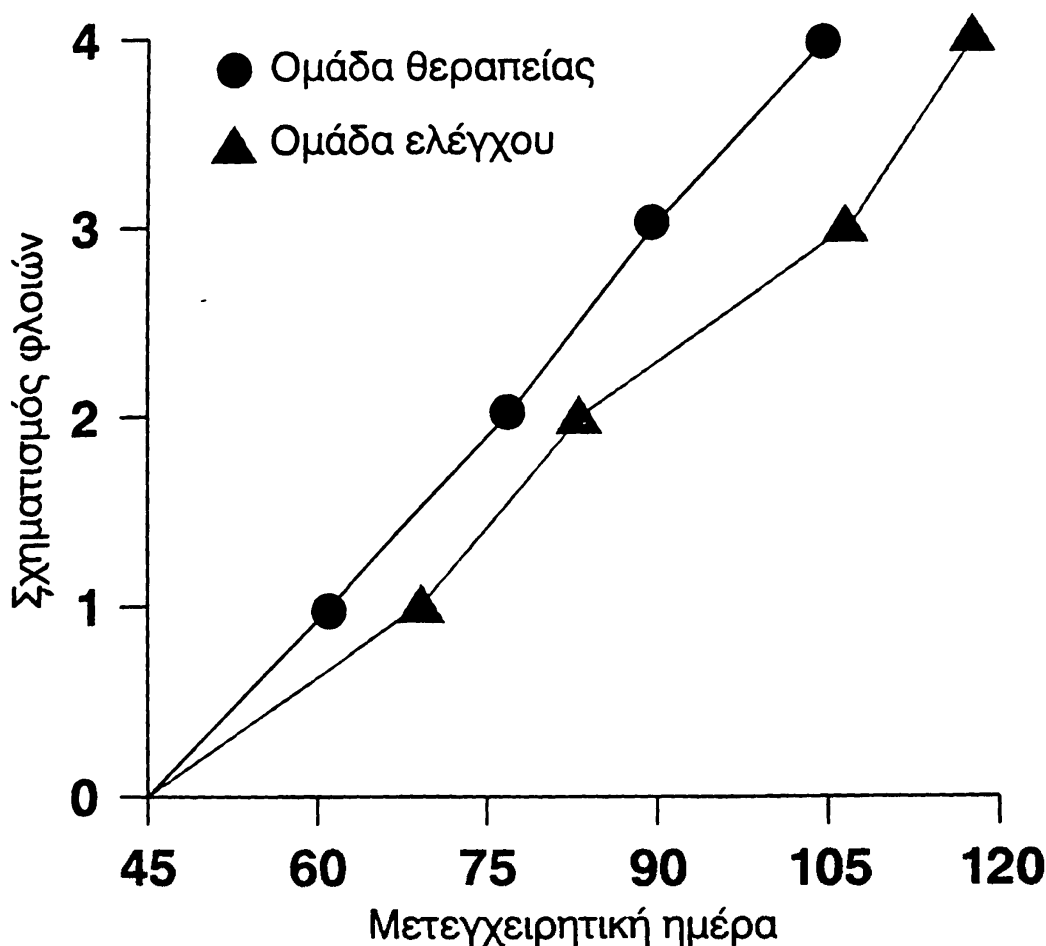


Εικόνα 48. Γραφική παράσταση που δείχνει το ποσοστό των πωρωθέντων οστών σε σχέση με τον χρόνο. Στα ενδιάμεσα στάδια της πώρωσης (60^η έως 90^η ημέρα) είναι φανερή η διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων.

μειώνεται σταδιακά με την πάροδο του χρόνου, σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, παρόλο που σε καμία χρονική στιγμή δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων.

Η εκτίμηση των ενδιάμεσων σταδίων της πώρωσης έδειξε ότι η ομάδα που έλαβε θεραπεία, προπορευόταν χρονικά όσον αφορά τον σχηματισμό του 1^{ου}, 2^{ου}, 3^{ου} και 4^{ου} φλοιού (ΕΙΚΟΝΑ 49). Η διαφορά αυτή ήταν πιο εμφανής μεταξύ των δυο ομάδων, ιδιαίτερα όσον αφορούσε τον σχηματισμό του 2^{ου} και 3^{ου} φλοιού, δηλαδή στα ενδιάμεσα στάδια της πώρωσης

Με την μέθοδο της υπολογιστικής πυκνομετρίας αναλύθηκαν οι ακτινογραφίες των ζώων (εξαιρουμένων των ψευδαρθρωμένων οστών) της 45^{ης}, 60^{ης}



Εικόνα 49. Γραφική παράσταση που δείχνει τον σχηματισμό του 1ου, 2ου, 3ου και 4ου φλοιού σε σχέση με το χρόνο για τις δύο ομάδες. Η ομάδα θεραπείας προηγείται χρονικά στον σχηματισμό των φλοιών έναντι της ομάδας ελέγχου.

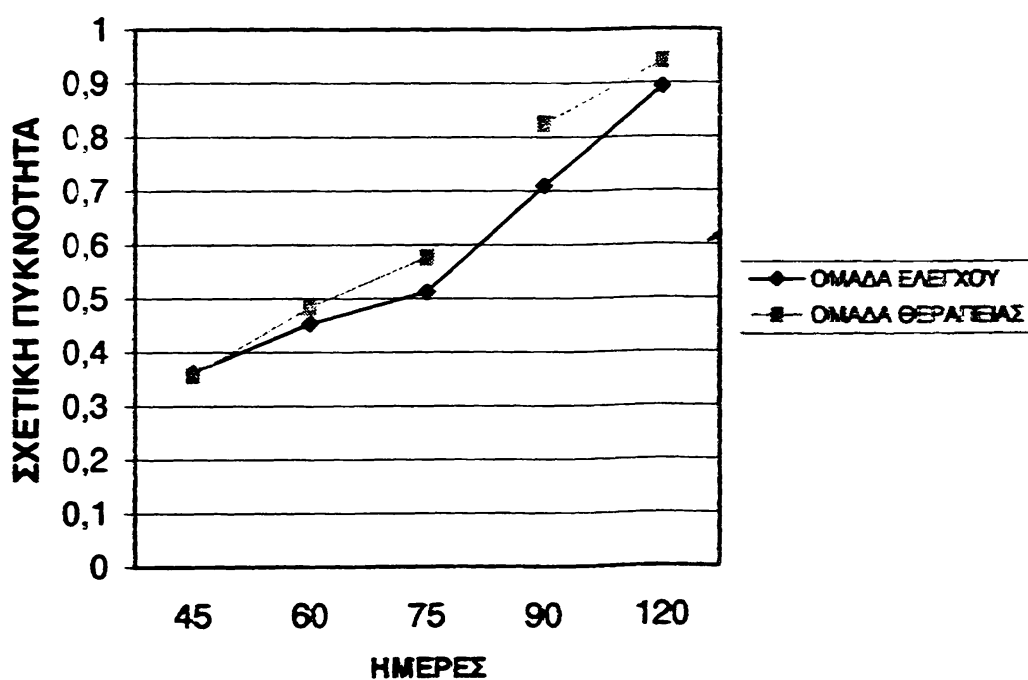
, 75^η, 90^η και 120^η μετεγχειρητικής ημέρας. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές (analysis of variance) μεταξύ των δυο ομάδων προέκυψαν μόνο την 90^η μετεγχειρητική ημέρα. Η σχετική πυκνότητα του πώρου την ημέρα αυτή ήταν 0.709 ± 0.033 για την ομάδα ελέγχου και 0.825 ± 0.027 για την ομάδα που έλαβε θεραπεία ($p=0.02$). Την 120^η μετεγχειρητική ημέρα οι αντίστοιχες τιμές ήταν 0.897 ± 0.032 για την ομάδα ελέγχου και 0.941 ± 0.041 για την ομάδα που έλαβε θεραπεία ($p=0.23$) (ΠΙΝΑΚΑΣ 8). Το διάγραμμα της (ΕΙΚΟΝΑΣ 50) δείχνει την πορεία της οστεογένεσης σε σχέση με το χρόνο για τις δυο ομάδες.

Τα αποτελέσματα της ποσοτικής αξονικής τομογραφίας που έγινε την 90^η μετεγχειρητική ημέρα έδειξαν ότι υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ

Πίνακας 8. Αποτελέσματα υπολογιστικής πυκνομετρίας

	Μετεγχειρητική ημέρα				
	45 ^η	60 ^η	75 ^η	90 ^η	120 ^η
Ομάδα θεραπείας	0,362 ± 0,05	0,453 ± 0,09	0,512 ± 0,026	0,709 ± 0,033	0,897 ± 0,32
Ομάδα ελέγχου	0,358 ± 0,02	0,484 ± 0,04	0,576 ± 0,06	0,825 ± 0,027	0,941 ± 0,41
p value	0,873	0,624	0,18	0,02	0,23

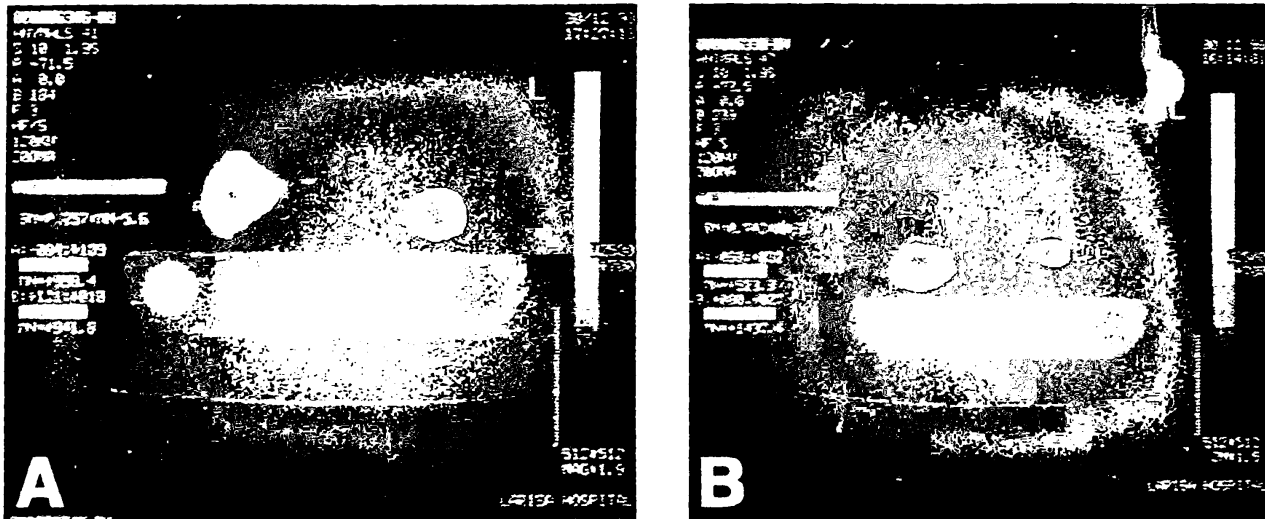
ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΟ ΧΡΟΝΟ



Εικόνα 50. Γράφημα που δείχνει τη μεταβολή της σχετικής οστικής πυκνότητας σε σχέση με το χρόνο.



των δυο ομάδων. Ο μέσος όρος της οστικής πυκνότητας (mg/ml) για την ομάδα έλαβε θεραπεία με υπερήχους ήταν 681.24 ± 52.07 και για την ομάδα ελέγχου 501.93 ± 54.29 ($p=0.014$ analysis of variance). Η σύγκριση με τα φυσιολογικό αντίθετο σκέλος έδειξε ότι η ομάδα έλαβε θεραπεία με υπερήχους είχε ανακτήσει το 77.8% της φυσιολογικής οστικής πυκνότητας ενώ η ομάδα ελέγχου το 55% (ΕΙΚΟΝΑ 51).



Εικόνα 51 (Α-Β). Α. Αξονική τομογραφία στο επίπεδο της οστεοτομίας την 94^η μετεγχειρητική ημέρα σε ζώο που έλαβε θεραπεία με υπερήχους. Διακρίνεται δεξιά στην εικόνα ο σχηματισμός πύρου και του νέου φλοιού. (Β) Αξονική τομογραφία σε ζώο της ομάδας ελέγχου. Ο σχηματισμός πύρου και του φλοιού υπολείπεται σε σχέση με αυτόν της εικόνας Α.

Η εμβιομηχανική ανάλυση που έγινε την 90^η μετεγχειρητική ημέρα έδειξε ότι υπήρχε διαφορά στατιστικώς σημαντική μεταξύ των δυο ομάδων, όσον αφορά στο τελικό φορτίο κατάγματος. Συγκεκριμένα, οι τιμές αυτές ήταν 2128.5 ± 167.07 N και 1593.75 ± 112.67 N για την ομάδα που έλαβε θεραπεία και για την ομάδα ελέγχου αντίστοιχα ($p=0.001$). Αντίθετα την 120^η μετεγχειρητική ημέρα οι διαφορές αυτές δεν ήταν στατιστικώς σημαντικές. Οι τιμές αυτές ήταν 2561 ± 174.11 N και 2286 ± 235.20 N για την ομάδα που έλαβε θεραπεία και για την ομάδα ελέγχου αντίστοιχα ($p=0.292$) (ΠΙΝΑΚΑΣ 9).

Πίνακας 9. Αποτελέσματα εμβιομηχανικής ανάλυσης

	90 ^η μετεγχειρητική ημέρα	120 ^η μετεγχειρητική ημέρα
Ομάδα ❶ θεραπείας	$2.128,50 \pm 167,07^*$	$2.561,0 \pm 174,11$
Ομάδα ❷ ελέγχου	$1.593,75 \pm 112,67$	$2.286,3 \pm 235,20$
p value	0,001	0,292
Αντίθετη ❶ κνήμη	$3.118,52 \pm 67,44$	$3.121,68 \pm 128,47$
Αντίθετη ❷ κνήμη	$3.113,82 \pm 78,38$	$3.078,90 \pm 103,77$
p value	0,948	0,954

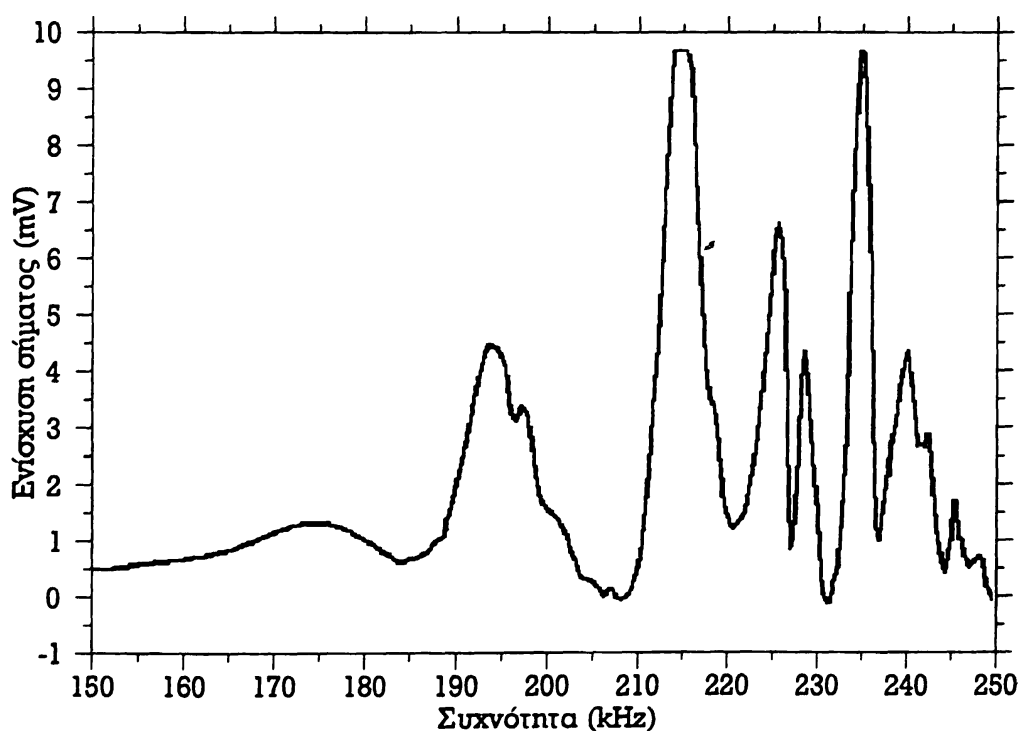
*Οι τιμές εκφράζονται σε N και ισοδυναμούν με το τελικό φορτίο κατάγματος (fracture load).

Αποτελέσματα διάγνωσης της οστεογένεσης με το σύστημα υπερήχων

Την πρώτη περίοδο της εφαρμογής του πειράματος, για την μέτρηση της αγωγιμότητας του πώρου με το σύστημα που αναπτύχθηκε πιο πάνω, παρατηρήθηκε ότι οι μετρήσεις ήταν άτακτες και μη επαναλαμβανόμενες.

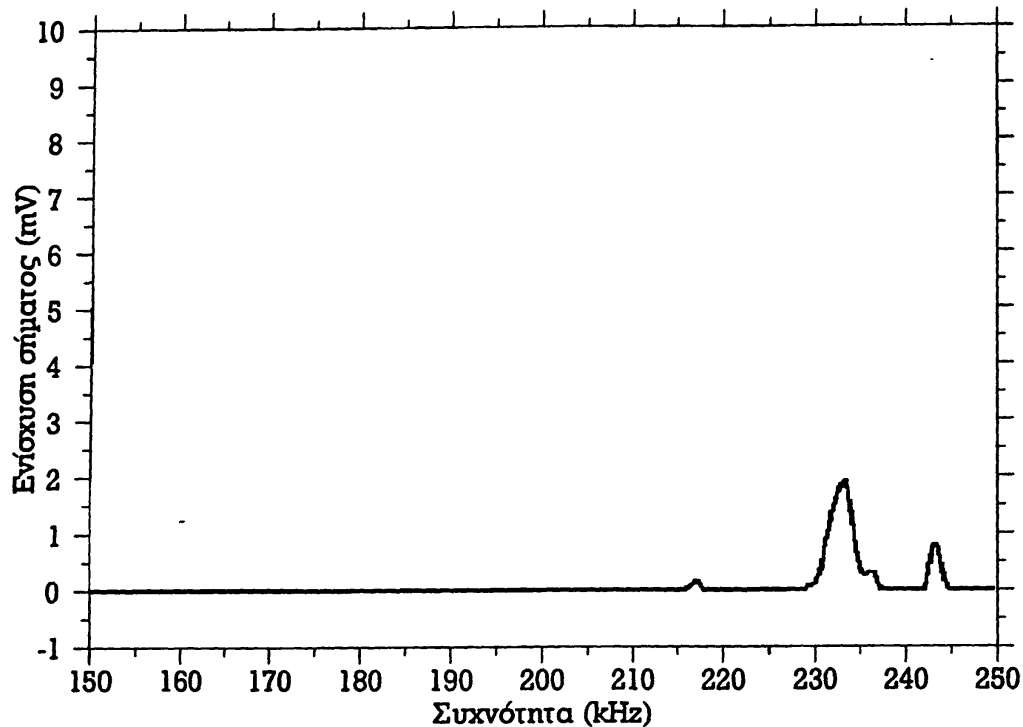
Οι πιθανές αιτίες για το πρόβλημα αυτό θεωρήθηκε, ότι ήταν σε ορισμένες περιπτώσεις, η μη καλή επαφή των κρυστάλλων με τις καρφίδες αγωγής των υπερήχων και σε άλλες η αστάθεια των καρφίδων. Επειδή αρχικά χρησιμοποιούνταν ένα ζεύγος πομπού-δέκτη για όλα τα ζώα, κρίθηκε σκόπιμο το κάθε ζώο να έχει το δικό του ζεύγος πομπού-δέκτη, ώστε να εξασφαλίζεται η σωστή επαφή μεταξύ κρυστάλλων και καρφίδων και να αποφεύγεται η καταπόνηση των καρφίδων από τους πολλούς χειρισμούς. Επίσης στην ομάδα Α οι βελόνες των υπερήχων σταθεροποιούνταν μόνο στον ένα φλοιό του οστού, ενώ στην ομάδα Β, για την επίτευξη καλύτερης σταθερότητας, οι βελόνες σταθεροποιούνταν και στους δυο φλοιούς.

Για τις μετρήσεις διέλευσης των υπερήχων για κάθε ζώο έγινε μια γραφική απεικόνιση με την ανάλυση των δεδομένων από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Στην εικόνα 52 φαίνεται η αναπαράσταση ενός τέτοιου γραφήματος πριν την οστεοτομία



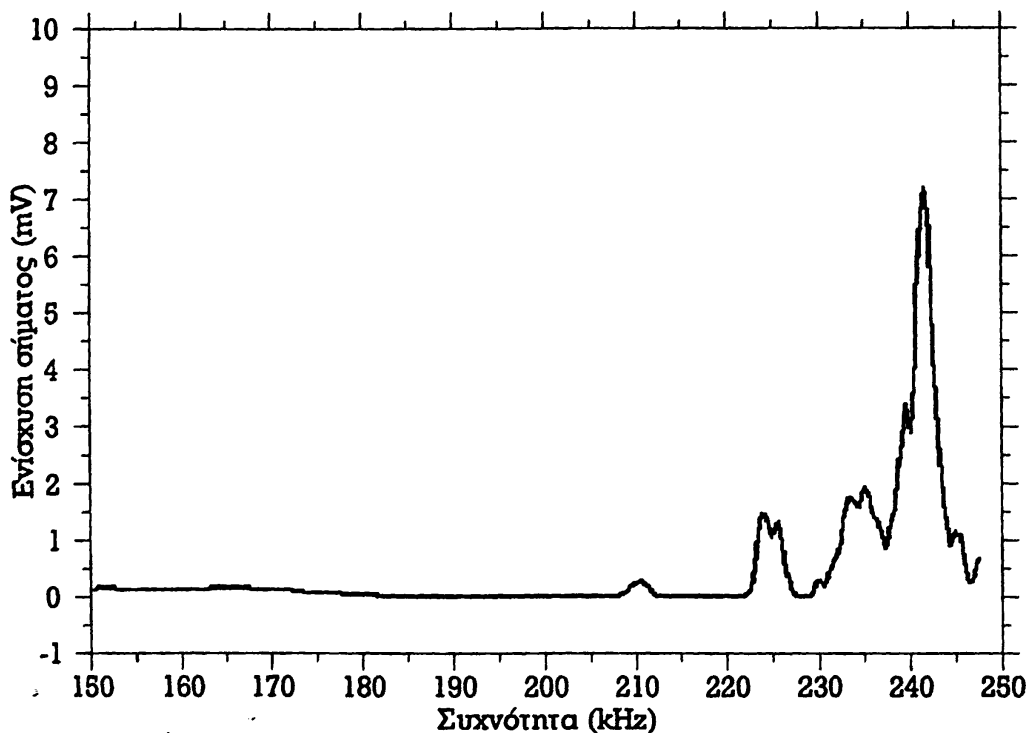
Εικόνα 52. Γραφική παράσταση που δείχνει την καταγραφή της αγωγιμότητας των υπερήχων σε άθικτο οστόν (πριν την οστεοτομία). Η ένταση του σήματος είναι υψηλή όπως καταγράφεται σε διάφορες συχνότητες.

(διεγχειρητική μέτρηση). Είναι εμφανής η διαφορά μεταξύ των δυο μετρήσεων ως προς την ένταση του σήματος, η οποία μετά την οστεοτομία σχεδόν μηδενίζεται



Εικόνα 53. Καταγραφή της αγωγιμότητας των υπερήχων μετά την οστεοτομία. Η ένταση του σήματος εξασθενεί σημαντικά φτάνοντας σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

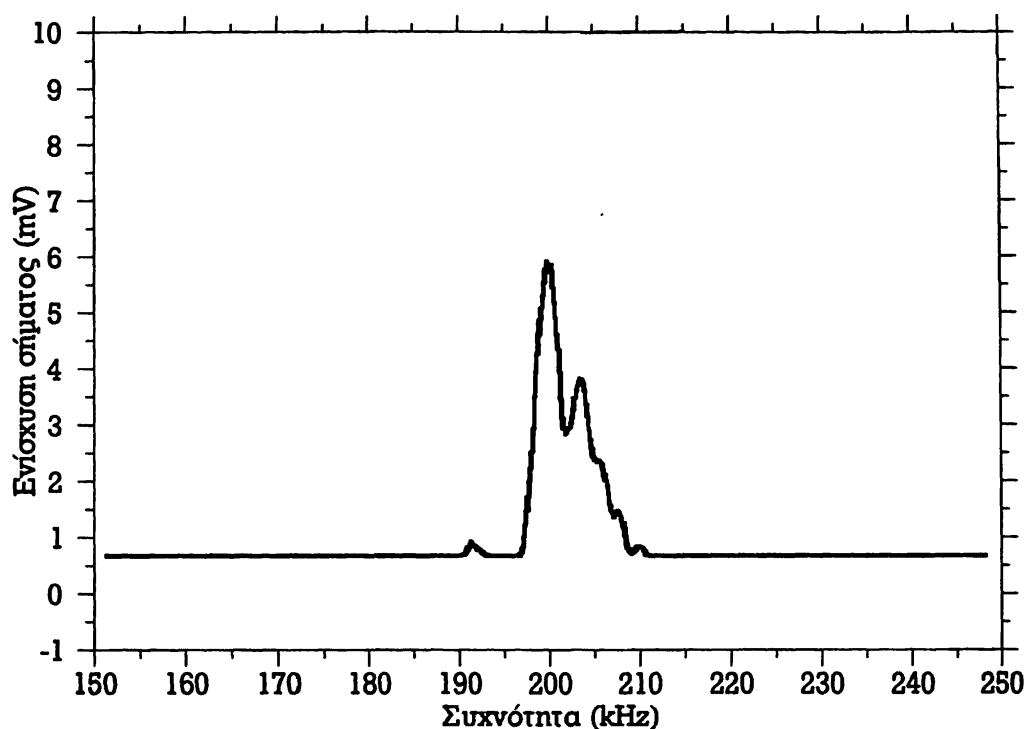
(ΕΙΚΟΝΑ 53). Τις πρώτες 5 μετεγχειρητικές ημέρες η ένταση αυξάνεται (σχεδόν στο ήμισυ του φυσιολογικού) πιθανόν λόγω του αιματώματος στην περιοχή της



Εικόνα 54. Γραφική παράσταση της αγωγιμότητας των υπερήχων 1 μήνα μετεγχειρητικά. Η άνοδος της έντασης του σήματος είναι εμφανής σε σχέση με την μετεγχειρητική κατάσταση (ΕΙΚΟΝΑ 53)

οστεοτομίας. Στην συνέχεια μειώνεται φθάνοντας στο αμέσως μετεγχειρητικό στάδιο για να ανεβεί ξανά στο τέλος του πρώτου μετεγχειρητικού μήνα (Εικόνα 54).

Τρεις μήνες μετεγχειρητικά, η ένταση του σήματος σταθεροποιείται στο 70%



Εικόνα 55. Η ένταση του σήματος των υπερήχων τρεις μήνες μετεγχειρητικά φτάνει το 70% της αρχικής τιμής και έχει σταθεροποιηθεί σε συγκεκριμένες συχνότητες.

περίπου της αρχικής τιμής (ΕΙΚΟΝΑ 55).

Σε ορισμένες περιπτώσεις η πορεία των γραφικών παραστάσεων συμφωνούσε με την πορεία της πώρωσης και σε άλλες όχι. Έτσι, η ανάλυση των γραφημάτων αυτών στο σύνολό τους, όπως αποδείχθηκε δεν μπορούσε να συσχετισθεί πάντοτε με την πορεία της οστεογένεσης, όσον αφορά στην ποσοτική σχέση μεταξύ της έντασης του σήματος και της πώρωσης.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αρχικά κλινικά ευρήματα των Xavier και Duarte¹⁶³ τα οποία επιβεβαιώθηκαν αργότερα και από άλλες πειραματικές^{120, 67, 64} και κλινικές μελέτες^{27, 67, 6} έδειξαν ότι η διαδερμική εφαρμογή χαμηλής εντάσεως υπερήχων 20 λεπτών καθημερινώς επιταχύνει την πώρωση.

Κάνοντας λοιπόν την υπόθεση ότι με την διοστική εφαρμογή των υπερήχων δια μέσου βελονών, η ενέργεια που μεταβιβάζεται πιθανόν να έχει πιο άμεσο αποτέλεσμα, σχεδιάσαμε μια πειραματική μελέτη για να ελεγχθεί η βιοστική επίδραση των χαμηλής συχνότητας υπερήχων στην πώρωση και στην διατακτική οστεογένεση. Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα βιβλιογραφικά δεδομένα η μέθοδος αυτή δεν έχει εφαρμοσθεί μέχρι σήμερα. Η μέθοδος αυτή είναι ημιεπεμβατική, σε αντίθεση με τις μέχρι σήμερα μεθόδους που χρησιμοποιούνται, οι οποίες είναι διαδερμικές και επομένως μη επεμβατικές.

Επίσης, σχεδιάστηκε και μελετήθηκε η εφαρμογή ενός συστήματος βασιζόμενο στην αγωγιμότητα των υπερήχων δια της περιοχής της οστεογένεσης για την διάγνωση της οστεογένεσης.

Όσον αφορά την πώρωση της οστεοτομίας, η μελέτη μας έδειξε ότι υπήρξε μια στατιστικώς σημαντική επιτάχυνση της πώρωσης, της τάξεως του 16% (90 ± 18.25 ημέρες για την ομάδα θεραπείας, 107.3 ± 17.46 ημέρες για την ομάδα ελέγχου, $p=0.027$) με βάση τα ακτινολογικά δεδομένα. Δυο ζώα από την ομάδα θεραπείας και ένα ζώο από την ομάδα ελέγχου δεν πωρώθηκαν. Αυτό πιστεύουμε ότι οφείλεται στο μεγάλο βάρος των ζώων αυτών και πιθανόν στο γεγονός ότι τα ζώα φόρτιζαν "άτακτα" το χειρουργημένο σκέλος πολλές φορές, με αποτέλεσμα οι μηχανικές συνθήκες για την πώρωση να μην ήταν οι καταλληλότερες. Συμπεριλαμβάνοντας και τα τρία αυτά ζώα στην στατιστική ανάλυση, η αξία του p είναι 0.06 μια τιμή πολύ κοντά στα όρια της στατιστικώς σημαντικής διαφοράς.

Ενώ τα αποτελέσματά μας επιβεβαιώνουν προγενέστερες μελέτες για την επιτάχυνση της πώρωσης με την εφαρμογή υπερήχων, εντούτοις δεν μπορέσαμε να αναπαράγουμε τα αποτελέσματα σε ποσοτικό επίπεδο άλλων ερευνητών. Οι Heckman και συν.⁶⁷ και Kristiansen και συν.⁹⁵ αναφέρουν μείωση του χρόνου πώρωσης, σε ποσοστό 37% σε κατάγματα κνήμης και 38% σε κατάγματα κάτω πέρατος κερκίδας αντίστοιχα με την διαδερμική εφαρμογή υπερήχων. Οι συγγραφείς αυτοί, χρησιμοποίησαν το ίδιο σύστημα για την ανάλυση των ακτινογραφιών και τον υπολογισμό του μέσου χρόνου πώρωσης. Ένας σημαντικός λόγος που εξηγεί μερικώς τις διαφορές αυτές, είναι το γεγονός ότι και στις δυο αυτές μελέτες ο αριθμός των δειγμάτων, ήταν διπλάσιος από τον δικό μας.

Ακόμα παραπέρα οι Cook και συν.²⁷ αναφέρουν επιτάχυνση της πώρωσης σε κατάγματα κάτω πέρατος κερκίδας της τάξεως του 51%. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η διοστική μέθοδος εφαρμογής υπερήχων όχι απλά δεν υπερέρχει,

αλλά υστερεί έναντι της διαδερμικής. Τα αποτελέσματα που αναφέρουν οι παραπάνω συγγραφείς είναι πράγματι εντυπωσιακά, αν αναλογιστεί κανείς ότι ο χρόνος πώρωσης μειώνεται στο μισό και θα πρέπει ίσως, να σταθούμε με σκεπτικισμό στα αποτελέσματα αυτών των ερευνητών. Από την άλλη μεριά βέβαια, θα πρέπει να γίνουν και άλλες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό ζώων με την διοστική μέθοδο, για την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων.

Η θετική επίδραση της διοστικής εφαρμογής στην επιτάχυνση της πώρωσης επιβεβαιώθηκε στην μελέτη μας και από τα αποτελέσματα της εμβιομηχανικής ανάλυσης. Η εμβιομηχανική ανάλυση, είναι ένα αξιόπιστο κριτήριο αξιολόγησης των αποτελεσμάτων και χρησιμοποιήθηκε από αρκετούς ερευνητές^{125, 67, 64}. Τρεις μήνες μετεγχειρητικά, σε ένα κρίσιμο στάδιο της πώρωσης, τα οστά των ζώων που είχαν υποβληθεί σε θεραπεία είχαν σημαντικά μεγαλύτερη αντοχή ($p=0.001$). Αντίθετα τέσσερις μήνες μετεγχειρητικά η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0.292$). Αυτό μας επιτρέπει να συμπεράνουμε ότι η επίδραση των υπερήχων είναι πιο ευεργετική στα πρώτα και ενδιάμεσα στάδια της πώρωσης, επιταχύνοντας την διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, παρά στο στάδιο της ολοκλήρωσής της.

Στο ίδιο χρονικό διάστημα (τρεις μήνες μετεγχειρητικά) η ποσοτική αξονική τομογραφία, ένας εξάιρετος δείκτης της μετάλλωσης του νεοπαραχθέντος οστού έδειξε ότι η ομάδα που έλαβε θεραπεία με υπερήχους είχε ανακτήσει το 77.8% της φυσιολογικής οστικής πυκνότητας ενώ η ομάδα ελέγχου το 55% ($p=0.014$).

Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν επίσης, με τα αποτελέσματα της υπολογιστικής πυκνομετρίας, μιας μεθόδου ψηφιακής ανάλυσης των ακτινογραφιών. Η σχετική πυκνότητα του πώρου είχε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των δυο ομάδων την 90^η μετεγχειρητική ημέρα ($p=0.02$). Την 120^η μετεγχειρητική ημέρα υπήρχε μια διαφορά όχι όμως στατιστικώς σημαντική ($p=0.23$).

Οι συγκεκριμένοι μηχανισμοί με τους οποίους οι υπέρηχοι επιταχύνουν την διαδικασία της πώρωσης είναι άγνωστοι. Διάφοροι ερευνητές έδειξαν ότι η μηχανική ενέργεια που μεταφέρεται δια των υπερήχων, συμβάλλει στην αλλαγή της κυτταρικής λειτουργίας είτε άμεσα με την παραμόρφωση της κυτταρικής μεμβράνης, είτε έμμεσα με αλλαγή του ηλεκτρικού δυναμικού^{136, 67, 68}. Μια άλλη έρευνα έδειξε σημαντική αύξηση της αιματικής ροής στην περιοχή του κατάγματος¹²⁷. Ο Wang και συν.¹⁵⁷ απέδειξαν με την μελέτη τους ότι οι υπέρηχοι επηρεάζουν την διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, επιταχύνοντας έτσι την διαδικασία της πώρωσης. Τέλος άλλες μελέτες έδειξαν ότι οι υπέρηχοι χαμηλής έντασης επιδρούν σε άλλες διεργασίες του κυττάρου αυξάνοντας την σύνθεση του κολλαγόνου II, του αυξητικού παράγοντα μετατροπής-βήτα (TGF-β), την

ενσωμάτωση του ασβεστίου στην περιοχή του πώρου κ.ά.^{139, 41, 62, 64}

Ίσως το πλεονέκτημα των υπερήχων, έναντι των άλλων μεθόδων προαγωγής της πώρωσης, να έγκειται στο γεγονός, ότι ο τρόπος δράση τους είναι πολύπλευρος επεμβαίνοντας σε πολλές διαδικασίες της πώρωσης σε διάφορα στάδια.

- Η σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των δυο ομάδων (ομάδα θεραπείας και ομάδας ελέγχου), της διατατικής οστεογένεσης δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές. Με την ανάλυση και των τριών μεθόδων ελέγχου (απλή ακτινογραφία, υπολογιστική πυκνομετρία, ποσοτική αξονική τομογραφία) δεν προέκυψαν διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων.

Ελάχιστες μελέτες (δυο), αναφέρονται στην διεθνή βιβλιογραφία στην επίδραση των χαμηλής εντάσεως υπερήχων στην διατατική οστεογένεση^{77, 47}. Και οι δυο, σε αντίθεση με την δικιά μας μελέτη, αναφέρουν ότι χρόνος που απαιτείται για την ωρίμανση του νεοπαραχθέντος οστού επιταχύνεται με την εφαρμογή των υπερήχων, όχι όμως σε τέτοιο βαθμό που να κάνει ιδιαίτερα αισιόδοξους τους ερευνητές.

Ίσως το γεγονός ότι η διατατική οστεογένεση είναι μια άλλη διαδικασία εντελώς διαφορετική από αυτήν της πώρωσης με την δικιά της δυναμική, εξηγεί το γεγονός της αρνητικής ή μη σημαντικής επίδρασης των υπερήχων. Ας μην ξεχνάμε, ότι η διατατική οστεογένεση ακολουθεί τον δρόμο της ενδομεμρανώδους οστεοποίησης για τον τελικό σχηματισμό οστού⁷⁴.

Αρκετές μελέτες είναι σε εξέλιξη πάνω στο θέμα αυτό. Η δημοσίευση των αποτελεσμάτων θα μας επιτρέψει να έχουμε μια πιο σαφή εικόνα όσον αφορά στη δράση των υπερήχων χαμηλής έντασης στην διατατική οστεογένεση.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε από τη ερευνητική μας ομάδα για τη διάγνωση της οστεογένεσης βασίστηκε στο γεγονός ότι η αγωγιμότητα των υπερήχων διαφέρει ανάλογα με την πυκνότητα του υλικού. Πάνω σε αυτό στηρίχθηκε η υπόθεση ότι το ποσοστό αγωγής των υπερήχων δια μέσου της περιοχής της οστεογένεσης θα μπορούσε να συσχετιστεί με την πρόοδο της οστεογένεσης.

Δυστυχώς, παρά τις τεχνικές βελτιώσεις του συστήματος, η in vivo εφαρμογή του πειράματος είχε αρκετές δυσκολίες και οι μετρήσεις δεν ήταν επαναλαμβανόμενες όπως επί της πειραματικής τράπεζας. Πιθανόν τα υλικά της εξωτερικής οστεοσύνθεσης, αλλά και τα μαλακά μόρια που περιβάλλουν το οστό, να επηρεάζουν την αγωγιμότητα των υπερήχων και να αλλοιώνουν τα αποτελέσματα¹⁰³.

Ως εκ τούτου, δεν μπόρεσε να καθοριστεί μια ποσοτική έκφραση μεταξύ της έντασης του λαμβανόμενου σήματος στον δέκτη και της πορείας της οστεογένεσης. Αυτό θα μας επέτρεπε να πάρουμε ακριβείς πληροφορίες για την πρόοδο της πώρωσης χωρίς την βοήθεια των ακτινογραφιών. Έτσι μόνο μια ποιοτική συσχέτιση είναι δυνατόν να γίνει μεταξύ των καταγραφόμενων σημάτων και της οστεογένεσης

στις διάφορες φάσεις της (π.χ από τον 3^ο μετεγχειρητικό μήνα η ένταση του σήματος έφθανε το 70% του φυσιολογικού και η πορεία της οστεογένεσης εξελισσόταν ομαλά)¹⁰¹.

Παρόμοια προβλήματα αντιμετώπισαν και άλλοι ερευνητές κατά την εφαρμογή της μεθόδου^{2, 30, 38}. Οι Anast και συν.² αναφέρουν την δυσχέρεια που είχαν με την μέθοδο να ξεχωρίσουν τις διάφορες φάσεις της πώρωσης. Οι Cunningham και συν.³⁰ σημειώνουν σε μια μελέτη καταγμάτων κνήμης, ότι η ταχύτητα αγωγής των υπερήχων παρουσίαζε διακυμάνσεις ακόμα και στο υγιές οστόύν. Ως συμπέρασμα σημειώνουν ότι για να θεωρηθεί ένα κάταγμα πωρωθέν η ταχύτητα αγωγής των υπερήχων πρέπει να είναι πάνω από το 80% τη αντίθετης κνήμης.

Αν και η μέθοδος φαίνεται να έχει μια λογική βάση, όπως έδειξαν και τα πειράματα που έγιναν στο εργαστήριο, εντούτοις όπως αποδείχθηκε στην πράξη η αξία της περιορίζεται στην κλινική εφαρμογή. Φαίνεται ότι τα μέταλλα της εξωτερικής οστεοσύνθεσης, ή δημιουργία αιματώματος μετά την οστεοτομία και η ύπαρξη μαλακών μορίων γύρω από την εστία του κατάγματος, επηρεάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων και δεν είναι τα θεωρητικώς αναμενόμενα.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα „ συμπεράσματα που προκύπτουν από τη μελέτη μας μπορούν να συνοψιστούν στα εξής:

Η διοστική εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης, κοντά στην εστία του κατάγματος, επιταχύνει σημαντικά την πώρωση σε ένα ποσοστό της τάξεως του 16% όπως προέκυψε από την ανάλυση των ακτινολογικών και εμβιομηχανικών κριτηρίων.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία, η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για πρώτη φορά. Για να διευκρινιστεί λοιπόν, η υπεροχή της διοστικής μεθόδου σε σχέση με την διαδερμική μέθοδο, χρειάζονται και άλλες πειραματικές και κλινικές μελέτες.

- Η επίδραση των υπερήχων είναι ευεργετική στα πρώτα και ενδιάμεσα στάδια της πώρωσης, προάγοντας πιθανόν την ωρίμανση και διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων.

Η παραγωγή και ωρίμανση του οστού που παράγεται με τη διατατική οστεογένεση, δεν επιταχύνεται με την διοστική εφαρμογή υπερήχων χαμηλής έντασης. Η ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση που συντελείται για την παραγωγή οστού στην διατατική οστεογένεση, είναι η πιο πιθανή αιτία για την αρνητική επίδραση των υπερήχων στην μορφή αυτή της οστεογένεσης.

Η μέθοδος και το σύστημα υπερήχων που χρησιμοποιήθηκε για την διάγνωση της οστεογένεσης, δεν μπόρεσε να προσδιορίσει με ακρίβεια την πορεία της οστεογένεσης, ώστε να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα χωρίς την βοήθεια παραδοσιακών μεθόδων όπως η ακτινογραφία. Ίσως στο μέλλον, η βελτίωση των τεχνικών μέσων και η χρήση υπερήχων με την τεχνική Doppler να βοηθήσουν προς την κατεύθυνση αυτή.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να ερευνηθεί η επίδραση της διοστικής εφαρμογής των χαμηλής έντασης υπερήχων σε οστεοτομία κνήμης και σε διατατική οστεογένεση κνήμης ώριμων σκελετικά προβάτων. Ερευνήθηκε επίσης, η δυνατότητα των υπερήχων για τη διάγνωση της οστεογένεσης και στην οστεοτομία και στη διατατική οστεογένεση, με την χρήση μιας συσκευής που αναπτύχθηκε ειδικά για το σκοπό αυτό.

Οστεοτομία διάφυσης της αριστερής κνήμης έγινε σε 32 πρόβατα. Σε απόσταση 1cm εκατέρωθεν της οστεοτομίας τοποθετήθηκαν δυο μεταλλικές βελόνες διοστικά που παρέμεναν σε όλη την διάρκεια του πειράματος. Η διοχέτευση των υπερήχων συχνότητας 1 MHz και εντάσεως 30mW/cm^2 γινόταν για 20 λεπτά καθημερινώς δια της άνω βελόνας στο ελεύθερο άκρο της οποίας ήταν προσαρμοσμένος ο πιεζοηλεκτρικός κρύσταλλος (Morgan Matroc Ltd., Model PZT-4D). Δεκαέξι ζώα αποτέλεσαν την ομάδα θεραπείας και τα υπόλοιπα 16 χρησίμευσαν ως ομάδα ελέγχου. Τα ζώα ελέγχθηκαν μετεγχειρητικά με απλές ακτινογραφίες, ποσοτική αξονική τομογραφία και εμβιομηχανική ανάλυση. Σε 30 ζώα επίσης, μετά από οστεοτομία της κνήμης έγινε επιμήκυνση 2cm του οστού. Στα 15 ζώα έγινε θεραπεία με υπερήχους με το ίδιο πρωτόκολλο και τα υπόλοιπα 15 χρησίμευσαν ως ομάδα ελέγχου. Τα ζώα αυτά ελέγχθηκαν μετεγχειρητικά με απλές ακτινογραφίες και ποσοτική αξονική τομογραφία. Σε όλα τα ζώα γινόταν περιοδικά, δια των δυο μεταλλικών βελονών, μετρήσεις αγωγιμότητας των υπερήχων και στις δυο ομάδες για την διάγνωση της οστεογένεσης.

Από την μελέτη μας προκύπτει ότι η διοστική εφαρμογή των χαμηλής έντασης υπερήχων επιταχύνει σημαντικά τον χρόνο πώρωσης για την οστεοτομία (90 ± 18.25 ημέρες για την ομάδα θεραπείας, 107.3 ± 17.46 ημέρες για την ομάδα ελέγχου $p=0.027$). Η ποσοτική αξονική τομογραφία και η εμβιομηχανική ανάλυση έδειξαν επίσης ότι την 90^η μετεγχειρητική ημέρα οι διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων ήταν στατιστικά σημαντικές. Αντίθετα, δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές για τις δυο ομάδες της διατατικής οστεογένεσης. Επίσης δεν στάθηκε δυνατό, να καθοριστεί μια ποσοτική σχέση με τις μετρήσεις αγωγής των υπερήχων και της προόδου της οστεογένεσης.



SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effect of transosseous (semi-invasive) low intensity ultrasound in both, fracture-healing (osteotomy model) and distraction osteogenesis, in the tibia of mature sheep. The possibility of quantitative measurement of osteogenesis, in both fracture-healing and distraction osteogenesis by ultrasound with a special apparatus, was also evaluated.

Midshaft osteotomies of the left tibia were made in 32 sheep. On each side of the osteotomy region (1cm from the osteotomy), a stainless steel nail was applied into the bone and stays there during the whole duration of the experiment. The ultrasound was transmitted through the free end of the upper nail with a PZT-4D transducer (Morgan Matroc Ltd., Model). The treated limbs received a 200 μ sec burst of 1 MHz sine waves repeated at 1KHZ and average intensity of 30mW/cm², 20 min daily. The treatment group consists of 16 animals while the rest served as a control group. Fracture healing was evaluated by radiography, mechanical testing, and quantitative computed tomography. In 30 sheep, after tibia osteotomy, a tibia lengthening of 2cm, was performed. One half of the animals received ultrasound stimulation in the same way as the osteotomy model. The lengthened tibiae were evaluated by radiography and quantitative computed tomography. In all animals, measurements of ultrasound transmission through the callus were performed periodically, through the nails (emitter and receiver), for the purpose of osteogenesis monitoring.

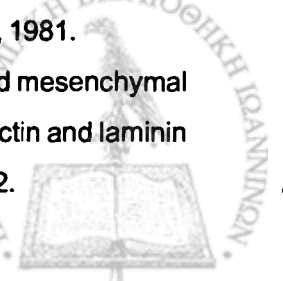
Our study demonstrated that transosseous low intensity ultrasound, can significantly accelerate fracture-healing (90 ± 18.25 days in the active-treatment group vs 107.3 ± 17.46 days in the control group $p=0.027$). The results from mechanical testing and quantitative computed tomography showed that on postoperative day 90 the differences between the two groups were statistically significant. On the other hand, there were no differences statistically significant in the distraction osteogenesis groups. Finally, it was not possible to correlate ultrasound transmission measurements with quantitative progression of osteogenesis.



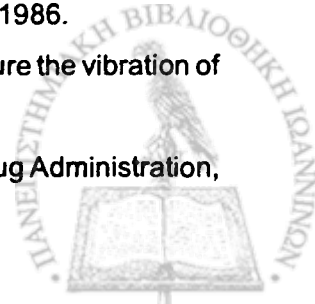
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Aaron K, Ciombor D, Jones R: Bone induction by decalcified bone matrix and mRNA of TGF and IGF-1 are increased by PEMF stimulation. *Trans Orthop Res Soc* 22: 548, 1997.
2. Anast T, Fields T, Hiseth A: Ultrasonic technique for the evaluation of bone fracture. *Am J Phys Med* 37: 157, 1958.
3. Baltzer A, Lattermann C, Whalen D: A gene transfer approach to accelerating bone healing. *European Society of Sports Medicine knee Surgery and Arthroscopy* (In press).
4. Bassett CAL, Hermann I: Influence of oxygen concentration and mechanical factors on differentiation of connective tissue in vitro. *Nature* 190: 460-461, 1961.
5. Bassett L, Becker O: Generation of electric potentials in bone in response to mechanical stress. *Science* 137: 1063-1064, 1962.
6. Beck S, Deguzman L, Lee P: Transforming growth factor-beta 1 bound to tricalcium phosphate persists at segmental radial defects and induces bone formation. *Trans Orthop Res Soc* 20: 593, 1995.
7. Bennett A, Chen T, Feldman D: Characterization of insuline-like growth factor I receptors on cultured rat bone cells: Regulation of receptors concentration by glucocorticoids. *Endocrinology* 115: 1577-1583, 1984.
8. Bolander, M. T: Regulation of fracture repair by growth factors. *Proc Soc Exp Biol Med* 200: 165-170, 1992.
9. Bostrom G, Lane M, Berberian S: Immunolocalization and expression of bone morphogenetic protein 2 and 4 in fracture healing. *J Orthop Res* 13: 357-367, 1995.
10. Brighton T, Black J, Friedenber B: A multicenter study of the treatment of nonunion with constant direct current. *J. Bone and Joint Surg.* 63-A: 2-13, 1981
11. Brighton T, Shaman P, Heppenstal B: Tibial nonunion treated with direct current or bone graft. *Clin Orthop* 321: 223-234, 1995.
12. Brown R: How safe is diagnostic ultrasonography? *Can Med Assoc J* 131: 307-311, 1984.
13. Burwell G: The fate of bone grafts. In Apley AG (ed). *Recent advances in orthopaedics*. London Churchill Livingstone 115-207, 1969.
14. Campbell R, Kaplan S: The role of morphogens in endochondral ossification. *Calcif Tissue Int* 50: 283-289, 1992.
15. Canalis E, McCarthy T, Centrella M: Growth factors and the regulation of bone remodeling. *J Clin Invest* 81: 277-281, 1988.
16. Carter D, Beaupre G, Giori N, Helms J: Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin. Orthop.* 358 (Suppl.): 41-55, 1998.
17. Celeste J, Iannazzi A, Taylor C: Identification of transforming growth factor beta family members present in bone inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 9843-9847, 1990.

18. Chapman I, MacNally A, Tucker S: Ultrasound induced changes in rates of influx and efflux of potassium ions in rat thymocytes in vitro. *Ultrasound Med Biol* 6: 47-58, 1980.
19. Chapman W: Prostaglandins and secondary injury phenomenon. In Lane J. M. (ed): *Fracture Healing*. London, Churchill Livingstone, 1987.
20. Claes L, Augat P, Suger G, Wilke J: Influence of size and stability of the osteotomy gap on the success of fracture healing. *J Orthop Res* 15: 577-584, 1997.
21. Claes L, Heigele C, Wilke C, Kaspar D, Seidl W, Margevicius K, Augat P: Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clin. Orthop.* 358 (Suppl.): 132-147, 1998.
22. Claes L, Wilke J, Augat P: The influence of fracture gap size and stability on bone healing. *Transactions of the 40th Annual Meeting Orthopaedic Research Society, New Orleans, LA* 19: 203, 1994.
23. Cochran B, Pawluk J, Bassett L: Electromechanical characteristics of bone under physiological moisture conditions. *Clin Orthop* 58: 249-270, 1968.
24. Connolly J, Shindell R: Percutaneous marrow injection for an ununited tibia. *Nebr Med J* 71: 105-107, 1986.
25. Connolly J: Clinical use of marrow osteoprogenitor cells to stimulate osteogenesis. *Clin Orthop* 358 (Suppl): 257-266, 1998.
26. Connolly J: Injectable bone marrow preparations to stimulate osteogenic repair. *Clin Orthop* 313: 8-18, 1995.
27. Cook D, Ryaby P, McCabe J, Frey J: Acceleration of tibia and distal radius fracture healing in patients who smoke. *Clin Orthop* 337: 198-207, 1997.
28. Copeland C, Underwood E, Van Wyk J: Induction of immunoreactive somatomedin C in human serum by growth hormone: Dose-response relationships and effect on chromatographic profiles. *J Clin Endocrinol Metab* 50: 690-697, 1980.
29. Cornell C, Lane J: Current understanding of osteoconduction in bone regeneration. *Clin Orthop* 358 (Suppl): 267-273, 1998.
30. Cunningham J, Kenwright J, Kershaw C: Biomechanical measurement of fracture healing. *J Med Eng Tech* 14: 92-101, 1990.
31. Dartsch C, Betz E: Cellular and cytoskeletal response of vascular cells to mechanical stimulation. In Planck H, Daumer M, Renandy M (eds): *Medical Textiles for implantation*. Berlin: Springer, 193-218, 1990.
32. Daughaday H, Hall K, Raden S: Somatomedin: Proposed designation for sulphation factor. *Nature* 235: 107, 1972.
33. Dekel S, Lenthall G, Francis M, O: Release of prostaglandins from bone and muscle after tibial fracture. An experimental study in rabbit. *J. Bone and Joint Surg.* 63-B: 185-192, 1981.
34. Dennis E, Haynesworth E, Young G, Caplan I: Osteogenesis in marrow-derived mesenchymal cell porous ceramic composites transplanted subcutaneously: Effect of fibronectin and laminin on cell retention and rate of osteogenic expression. *Cell Transplant* 1: 23-32, 1992.

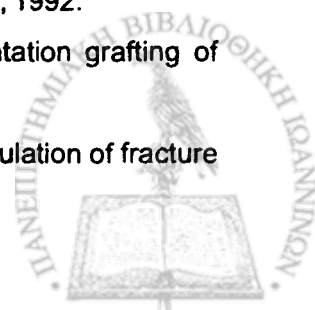


35. Duarte R, Xavier M, Choffie M: Review of nonunions treated by pulsed low intensity ultrasound. *International Society of Orthopaedic Surgery and Traumatology 20th World Congress*. 111: PDS30, 1996.
36. Duarte R: The stimulation of bone growth by ultrasound. *Arch Orthop Trauma Surg* 101: 153-159, 1983.
37. Dyson M: Therapeutic application of Ultrasound. In Nyborg L, Ziskin C (eds). *Biological effects of Ultrasound*. New York, Churchill Livingstone 121-133, 1985.
38. Egger L, Lewallen G, Norrdin W: Effects of increasing rigidity of initially flexible external fixation on healing of canine osteotomies. *Transactions of the 13th International Conference on Hoffmann External Fixation*, Mayo Clinic, Rochester MN 41, 1989.
39. Einhorn A, Hirschman A, Kaplan C: Neutral protein-degrading enzymes in experimental fracture callus. A preliminary report. *J Orthop Res* 7: 792-805, 1989.
40. Einhorn A, Majeska J, Oloumi G: Enhancement of experimental fracture healing with a local percutaneous injection of bone morphogenetic protein 2. *AAOS*, San Francisco CA 64: 216, 1997.
41. Einhorn, A. T: The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin. Orthop*. 358 (Suppl.): 7-21, 1998.
42. Einhorn, A.T: Current concepts review: Enhancement of fracture healing. *J. Bone and Joint Surg*. 77-A: 940-956, 1995.
43. Elves W, Bayley I, Roylance J: The effect of indomethacin upon experimental fractures in the rat. *Acta Orthop Scand*. 53: 35, 1982.
44. Engh A, Hooten P, Zettl-Schaffer F: Evaluation of bone ingrowth in proximally and extensively porous coated anatomic medullary locking prosthesis retrieved at autopsy. *J. Bone and Joint Surg*. 77-A: 903-910, 1995.
45. Evans H, Robbins D: Possible orthopaedic applications of gene therapy. *J. Bone and Joint Surg*. 77-A: 1103-114, 1995.
46. Eysers S, Saleh M, Kanis A: Effect of PEMF on bone formation during limb lengthening. *Bone* 18: 505-509, 1996.
47. Fang J, Zhu Y, Smiley E: Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 5753-5758, 1996.
48. Farley R, Baylink J: Purification of a skeletal growth factor of human bone. *Biochemistry* 21: 3502, 1982.
49. Ferrier M, Ross M, Kanehisa J, Aubin E: Osteoblasts and osteoclasts migrate in opposite directions in response to a constant electric field. *J Cell Physiol* 129: 283-288, 1986.
50. Fillint A, Nokes L, Maheson M, Woodcock J: Using the Doppler effect to measure the vibration of human bones: in vitro studies. *Proc Inst Mech Eng* 208: 127-129, 1994.
51. Food and Drug Administration: Talk paper, Rockville, Maryland, Food and Drug Administration, United States Department of Health and Human Services, Oct. 12, 1994.

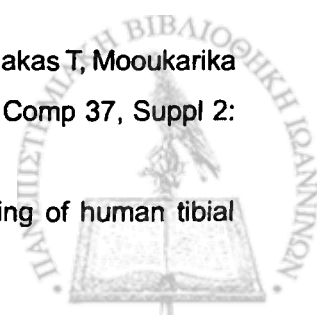


52. Frost M: Skeletal physiology and bone remodeling: An overview. In Urist M. R. (ed): Fundamental and clinical bone physiology. Philadelphia J B. Lippincot, 1980 pp. 208-241.
53. Fukada E, Yasuda I: On the piezoelectric effect of bone. J Physical Soc Japan 10: 1158-1169, 1957.
54. Gerlanc M, Haddad D, Hyatt G, Langloh J, Hillaire P: Ultrasonic study of normal and fractured bone. Clin Orthop 111: 175-180, 1975.
55. Gill P, Kernohan N, Mawhinney I, Mollan R: Quantitative measurement of fracture healing by ultrasound. Biomed Eng 17: 247-249, 1982.
56. Glowacki J, Kaban L, Murray E, Folkmann J, Mulliken : Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects. Lancet 1: 959-962, 1985.
57. Goodship E, Cunningham J, Kenwright J: Strain rate of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. Clin. Orthop. 358 (Supl.): 105-115, 1998.
58. Goodship E, Kenwright J: The influence of induced micromovement upon the healing of experimental fractures. J. Bone and Joint Surg. 67-B: 650-655, 1985.
59. Graig J, Jacobson J, Moed B: Ultrasound of fracture and bone healing. Radiol Clin North Am 4: 737-751, 1999.
60. Greenfield M, Craven J, Huddleston A, Kehrer M, Wishko D, Stern R: Measurement of the velocity of ultrasound in human cortical bone in vivo. Radiol 138: 701-710, 1981.
61. Greenleaf F, Johnson A, Samayoa F, Hansen R: Refractive index by reconstruction: Use to improve compound B-scan resolution. In Kessler L (ed): Acoustical Holography. New York, Plenum Press pp. 263-271, 1977.
62. Hadjiargyrou M, McLeod J, Hasley M, Rubin T: The temporal expression of osteopontin mRNA in the fracture callus is altered by low intensity pulsed ultrasound. J Bone Miner Res 12: 425, 1997.
63. Hadjiargyrou M, McLeod K, Ryaby J, Rubin C: Enhancment of fracture healing by low intensity ultrasound. Clin Orthop 358 (Suppl): 216-229, 1998.
64. Ham W, Harris R: Repair and transplantation. In Bourne, G. H. (ed): Biochemistry and Physiology of bone, Vol. 1. New York, Academic Press, 1971, pp. 338.
65. Hamdy R, Walsh W, Olmedo M, Wallach M, Ehrlich M: Correlation between ultrasound imaging and physical properties of lengthened bone: An experimental study in a canine model. J Pediatric Orthop 15: 206-211, 1995.
66. Heckman D, Indram J, Loyd D: Nonunion treatment with pulsed electromagneteic fields. Clin Orthop 161: 58-66, 1981.
67. Heckman D, Ryaby P, Mc Cabe J, Frey J, Kilcoyne R: Accleration of tibial fracture-healing by non-innasive, low-intensity, pulsed ultrasound. J. Bone and Joint Surg. 76-A: 26-34, 1994.
68. Heckman D, Sarasohn-Kahn J: The economics of treating tibia fracture: The cost of delayed unions. Bull Hosp Jt Dis 56: 63-72, 1997.
69. Hietaniemi K, Paavolainen P, Penttinen R: Connective tissue parameters in experimental

- nonunion. *J Orthop Trauma* 10: 114-118, 1996.
70. Hiltunen A, Aro T, Vuorio E: A standardized experimental fracture in the mouse tibia. *J Orthop Res* 11: 305-312, 1993.
 71. Hiltunen A, Aro T, Vuorio E: Regulation of extracellular matrix genes during fracture healing in mice. *Clin Orthop* 297: 23-27, 1993.
 72. Hirakawa K, Hirota S, Ikeda T: Localization of the mRNA for bone matrix proteins during fracture healing as determined by in situ hybridization. *J Bone Miner Res* 9: 1551-1557, 1994.
 73. Ilizarov GA. Clinical applications of the tension stress effect for limb lengthening. *Clin Orthop* 250: 8-26, 1990.
 74. Ilizarov GA: The tension stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of fixation and soft tissue preservation. *Clin Orthop* 238: 249-281, 1989.
 75. Ilizarov GA: The tension stress effect on the genesis and growth of tissues. Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clin Orthop* 239: 263-285, 1989.
 76. Ingram T, Bonde K, Riggs L, Fitzpatrick A: Effects of transforming growth factor-beta and 1,25 dihydroxyvitamin d3 on the function, cytochemistry, and morphology of normal osteoblast-like cells. *Differentiation* 55:153-163, 1994.
 77. Inui K, Shimazaki A, Nishimura N, Yamano Y: Effect of non-invasive low intensity ultrasound on distraction osteogenesis in rabbits. 6th Meeting of the international Society for Fracture repair. Strasburg, France, 1998.
 78. Ito M, Azuma Y, Harada Y: Low intensity pulsed ultrasound accelerates healing in a rat femoral fracture model. *Trans Orthop Res* 23: 732, 1998.
 79. Iwaki A, Jingushi S, Oda Y: Localization and quantification of proliferating cells during fracture repair: Detection of proliferating cell nuclear antigen by immunohistochemistry. *J Bone Miner Res* 12: 96-102, 1997
 80. Jasty M, Bragdon C, Burke D: In vivo skeletal responses to porous surfaced implants subjected to small induced motions. *J. Bone and Joint Surg.* 79-A: 707-714, 1997.
 81. Jingushi S, Azuma Y, Ito M: Effects of non invasive low intensity pulsed ultrasound on rat femoral fracture. Third World Congress of Biomechanics, Sapporo, Japan, 1756, 1998.
 82. Jingushi S, Heydemann A, Kana K, Macey R, Bolander E: Acidic fibroblast growth factor (aFGF) injection stimulates cartilage enlargement and inhibits cartilage gene expression in rat fracture healing. *J Orthop Res* 8: 364-371, 1990.
 83. Jingushi S, Joyce E, Bolander E: Genetic expression of extracellularmatrix proteins correlates with histologic changes during fracture repair. *J Bone Miner Res* 7: 1045-1055, 1992.
 84. Johnson EE, Urist R, Finerman A: Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunions. *Clin Orthop* 230: 257-265, 1988.
 85. Joyce E, Jingushi S, Bolander E: Transforming growth factor beta in the regulation of fracture repair. *Orthop Clin North Am* 21: 199-209, 1990.

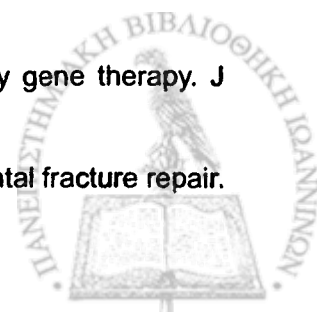


86. Joyce E, Jingushi S, Scully P, Bolander E: Role of growth factors in fracture healing. *Prog Clin Biol Res* 365: 391-416, 1991.
87. Joyce E, Roberts B, Spron B, Bolander E: Transforming growth factor-beta and the initiation of chondrogenesis and osteogenesis in the rat femur. *J Cell Biol* 110: 2195-2207, 1990.
88. Kadiyala S, Lo H, Leong W: Biodegradable Polymers an Synthetic bone graft. In Brighton CT, Friedlander G, Lane JM (eds): Bone formation and repair. Park Ridge, IL, AAOS 279-294, 1991.
89. Kadiyala S, Young G, Thiede A, Bruder P: Culture-expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplant* 6: 125-134, 1997.
90. Keller J, Buenger C, Andreanssen T, Bak B, Lucht U: Bone repair inhibited by indomethacin. Effects on bone metabolism and strength of rabbit osteotomies. *Acta Orthop Scand*. 58: 379, 1987.
91. Kirkeby J, Ekeland A: No effect of systemic administration of somatamedin C on bone repair in rats: *Acta Orthop Scand* 61: 335-338, 1990.
92. Klein C, Raisz G: Prostagladins: Stimulation of bone resorption in tissue culture. *Endocrinology* 86: 1436, 1978.
93. Klug W, Franke G, Knoch G: Scintigraphic control of bone-fracture healing under ultrasonic stimulation. An experimental study. *Eur J Nucl Med* 11: 494-497, 1986.
94. Kohler P, Glas J, Larsson S, Kreicbergs A: Incorporation of nonviable bone grafts. Autoclaved autogenic and frozen allogeneic bone grafts compared in the rabbit. *Acta Orthop Scand* 58: 54-60, 1987.
95. Kristiansen K, Ryaby P, McCabe J, Frey J, Roe L: Accelerated healing of distal radial fractures with the use of specific, low intensity ultrasound. *J. Bone and Joint Surg.* 79-A: 961-973, 1997.
96. Lee H, Choi W, Behrens F, DeFouw O, Einhorn A: Programmed removal of chondrocytes during endochondral fracture healing. *J Orthop Res* 16: 144-150, 1998.
97. Lieberman R, Dawilski A, Stevenson S: Regional gene therapy with BMP producing bone marrow cells heals segmental femoral defects in rats. *Trans Orthop Res Soc* 23: 210, 1996.
98. Lynch E, Trippel B, Finkelman D: The combination of platelet-derived growth factor and insuline-like growth factor I stimulates bone repair in adult Yutacan miniature pigs. *Wound Repair Reg* 2: 182-190, 1994.
99. Macewen W: Observations concerning transplantation of bone. Illustrated by a case of inter-human osseous transplantation. Whereby over two-thirds of the shaft of a humerus was restored. *Proc Roy Soc London*, 32: 232-247, 1881.
100. Maffuli N, Hughes T, Fixsen A: Ultrasonographic monitoring of limb lengthening. *J. Bone and Joint Surg.* 74-B: 130-132, 1992.
101. Malizos K, Hantes M, Mavrodontidis A, Plissiti M, Fotiadis D, Massalas K, Bakas T, Mooukarika A: Quantitative monitoring and prognosis of osteogenesis. *Med Biol Eng Comp* 37, Suppl 2: 288-290, 1999
102. Mammi I, Rocchi R, Cadossi R, Traina C: Effect of PEMF on the healing of human tibial

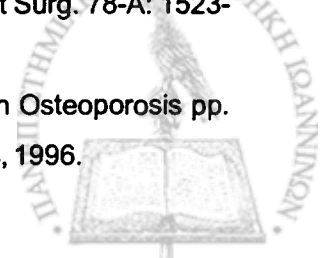


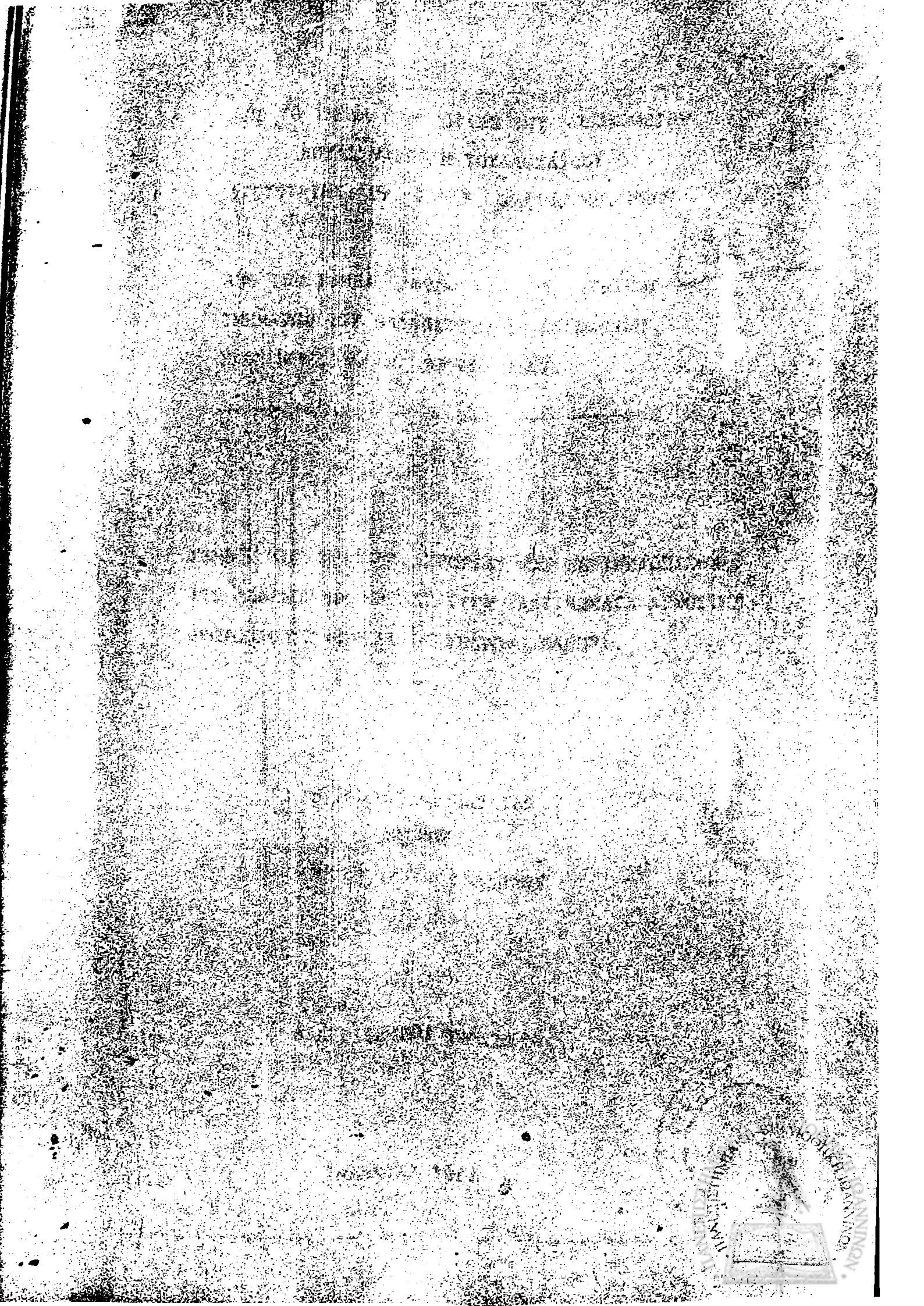
osteotomies: A double blind study. Clin Orthop 288: 246-253, 1993.

103. Markel M, Chao E: Non-invasive techniques for quantitative description of callus mineral contact and mechanical properties. Clin Orthop 293: 37-45, 1992.
104. Marsh A: Concepts of fracture union, delayed union, nonunion. Clin. Orthop. 358 (Suppl.): 22-30, 1998.
105. Massague J: The transforming growth factor-beta family. Ann Rev Cell Biol 6: 597-609, 1990.
106. McKibbin, B. The biology of fracture healing in long bones. J. Bone and Joint Surg. 60-B: 150-162, 1978.
107. Mendler M, Vaughn L: Cartilage contains mixed fibrils of collagen types II, IX and XI. J Cell Biol 108: 191-197, 1989.
108. Moed B, Kim E, van Holsbeck M, Schaffler M, Subramaian S, Craig J, Bouffard A: Ultrasound for the early diagnosis of tibia fracture healing after static interlocked nailing without reaming: Histologic correlation using a canine model. J Orthop Trauma 3: 200-205, 1998.
109. Moed B, van Holsbeck M, Watson T, Cramer K, Craig J, Bouffard A: Ultrasound for the early diagnosis of tibia fracture healing after static interlocked nailing without reaming: Clinical results. J Orthop Trauma 3: 206-213, 1998.
110. Moed B, Watson T, Goldschmidt P, van Holsbeck M: Ultrasound for the early diagnosis of fracture healing after interlocking nailing of the tibia without reaming. Clin Orthop 310: 137-144, 1995.
111. Nagai M, Ota M: Pulsating electromagnetic fields stimulate mRNA expression of bone morphogenetic protein 2 and 4. J Dent Res 73: 1601-1605, 1994.
112. Nakahara H, Bruder P, Golberg M, Caplan I: In vivo osteochondrogenic potential of cultured cells derived from the periosteum. Clin Orthop 259: 223-232, 1990.
113. Nielsen M, Andreassen T, Ledet T, Oxlund H: Local injection of transforming growth factor-beta increases the strength of tibial fractures in the rat. Acta Orthop Scand 65: 37-41, 1994.
114. Niyibizi C, Baltzer A, Lattermann C, Robbins P, Evans C: Potential role for gene therapy in the enhancement of fracture healing. Clin Orthop 358 (Suppl): 148-153, 1998.
115. Oni OA, Dunning J, Mobbs J, Gregg: Clinical factors and the size of the external callus in tibial shaft fractures. Clin Orthop 273: 278-283, 1991.
116. Oni OA, Hui A, Gregg J: The healing of closed tibial shaft fractures. J. Bone and Joint Surg. 70-B: 787-790, 1988.
117. Oreffo O, Bonewald L, Kukita A: Inhibitory effects of the bone-derived growth factors osteoinductive factor and transforming growth factor-beta on isolated osteoclasts. Endocrinology 126: 3069-3075, 1990.
118. Otani K, Nita I, Macaulay W: Suppression of antigen-induced arthritis by gene therapy. J Immunol 156: 3558-3562, 1996.
119. Otter M, McLeod K, Rubin C: Effects of electromagnetic fields in experimental fracture repair. Clin Orthop 358 (Suppl): 90-104, 1998.



120. Parvizi J, Parpura V, Kinnick R: Low intensity ultrasound increases intracellular concentration of calcium in chondrocytes. *Trans Orthop Res Soc* 22: 465, 1997.
121. Perren M: *Biomechanik der Frakturheilung*. *Orthopaede* 3: 135-139, 1974.
122. Perren M: Physical and biological aspects of fracture healing with special reference to internal fixation. *Clin Orthop* 138: 175-196, 1979.
123. Phillips H, Rahn A: Fixation effects on membranous and endochondral onlay bone graft revascularization and bone deposition. *Plast and Reconstr Surg*. 85: 891-897, 1990.
124. Pierce F, Mustoe A, Senior M, Reed J, Griffin L, Thomanson A: In vivo incisional wound augmented by platelet-derived growth factor and recombinant c-sis gene homodimeric proteins. *J Exper Med* 167: 974-987, 1988.
125. Pilla A, Mont A, Nasser R: Non-invasive low intensity pulsed ultrasound accelerates bone healing in the rabbit. *J Orthop Trauma* 4: 246-253, 1990
126. Pollack R: Bioelectrical properties of bone. *Clin North Am* 15: 47-59, 1984.
127. Rawool D, Goldbrg B, Forsberg F: Power doppler assessment of vascular changes during fracture treatment with low intensity ultrasound. *Trans 83rd Radiol Soc North Am* 83: 421, 1997.
128. Reddi A: Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop* 358 (Suppl): 216-229, 1998.
129. Reddi H, Anderson A: Collagenous bone matrix-induced endochondral ossification and hemopoiesis. *J Cell Biol* 69: 557-572, 1976.
130. Reddi H, Huggins B: Biochemical sequences in the transformation of normal fibroblasts in adolescent rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 1601-1605, 1972.
131. Reddi H: Cell biology and biochemistry of endochondral bone development. *Collagen Rel Res* 1: 209-226, 1981.
132. Reddi H: Extracellular Martix and Development. In Pietz KA; Reddi (eds). *Extracellular Martix Biochemistry*. New York, Elsevier 247-291, 1984.
133. Rich E, Klinik R, Smith B, Graham B: Measurement of bone mass from ultrasonic transmission time. *Proc, Soc, Exp, Bio, Med*. 123: 282-285, 1966.
134. Robey G, Young F, Flanders C: Osteoblasts synthesize and response to transforming growth factor-beta in vitro. *J Cell Biol* 105: 457-463, 1987.
135. Rosier R, Okeefe R, Hicks D: The potential role of transforming growth factor-beta in fracture healing. *Clin Orthop* 358 (Suppl):294-300, 1998.
136. Rubin T, Biskobing D, Fan X, McLeod J, Taylor R: Pressure regulates osteoclast formation and MCSF expression in bone marrow culture. *J Cell Physiol* 170: 81-87, 1997.
137. Rubin T, Gross T, Qin X, Fritton S, McLeod J: Differentiation of the bone-tissue remodeling response to axial and torsional loading in the turkey ulna. *J. Bone and Joint Surg*. 78-A: 1523-1533, 1996.
138. Rubin T, McLeod J: Inhibition of osteopenia by biophysical intervention. In *Osteoporosis* pp. 351-371, Marcus R, Feldman D, Kesley J (eds). San Diego, Academic Press, 1996.





- femoral model. *J Orthop Res* 12: 40-47, 1994.
158. Weaver J, Astumian R: The response of living cells to very weak electric fields: The thermal limit. *Science* 247: 459-462, 1990.
159. Welgus G, Jeffrey J, Eisen Z: Human skin fibroblast collagenase. Assessment of activation energy and deuterium isotope effect with collagenous substrates. *J Biol Chem* 256: 9516-9521, 1981.
160. Wergedal E, Matsuyama T, Strong D: Differentiation of normal human bone cells by transforming growth factor-beta and 1,25(OH)₂ Vitamin d₃. *Metabolism* 41: 42-48, 1992.
161. Wernitz R, Lane M, Piez C: The repair of segmental bone defects with collagen and marrow. *Orthop Trans* 10: 262, 1988.
162. Wu C, Lewallen G, Bolander E: Exposure to low intensity ultrasound stimulates aggrecan expression by cultured chondrocytes. *Trans Orthop Res Soc* 21: 622, 1996.
163. Xavier M, Duarte R: Estimulaci ultra-sonica de calo osseo: Applicaca clinica. *Rev Brasileira Orthop* 18: 73-80, 1983.
164. Yang H, Parvizi J, Wang J: Exposure to low intensity ultrasound increases aggrecan expression in a rat femur fracture model. *J Orthop Res* 14: 802-809, 1996.
165. Yang J, Jin Y: Immunohistochemical observations on bone morphogenetic proteins in normal and abnormal conditions. *Clin Orthop* 257: 249-256, 1990.
166. Yasko W, Lane M, Fellingner J, Rosen V, Wozney M, Wang A: The healing of segmental bone defects induced by recombinant human bone morphogenetic protein 2. A radiographic, histological and biomechanical study. *J. Bone and Joint Surg.* 74-A: 659-670, 1992.
167. Yasuda I: Fundamental aspects of fracture treatment. *J Kyoto Med Soc* 4: 395-406, 1953.
168. Yee A, Yan L, Dominguez C: Plasminogen-dependent activation of latent transforming growth factor-beta by growing cultures of osteoblasts-like cells. *J Cell Physiol* 157: 528-534, 1993.
169. Young J, Kostrubiak I, Resnik C, Paley D: Sonographic evaluation of bone production at the distraction site in Ilizarov limb-lengthening procedures. *Am J Radiol* 154: 125-128, 1990.

