

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**KIRIK İYİLEŞME SÜRECİNDE KANDAKİ GHRELİN
HORMON PROFİLİ VE GHRELİNİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK İNSAN KEMİK
DOKUSUNDA ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Adem EMELİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Lokman KARAKURT**

**ELAĞIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Lokman KARAKURT

Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Lokman KARAKURT

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Ortopedi ve Travmatoloji uzmanlığı eğitimim süresince yetişmemde sonsuz emeği geçen çok değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Lokman KARAKURT'a Sn. Prof. Dr. Erhan YILMAZ'a Sn. Doç. Dr. Oktay BELHAN'a ve kliniğimizden emekli olan Sn. Prof. Dr. Erhan SERİN'e, uzmanlık tez çalışmamda emeği geçen Sn. Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a, Sn. Doç. Dr. A. Ferda DAĞLI'ya, acısıyla, tatlısıyla beş yılı paylaştığım asistan arkadaşlarıma ve kliniğimdeki tüm personel arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü güçlüğü ve fedakârlığa katlanarak bugünlere gelmemi sağlayan hayatım boyunca bana destek veren, sevginin, dürüstlüğü, çalışmanın, hoş görü ve paylaşmanın değerini öğreten sevgili anneme, babama ve kardeşlerime en içten şükranlarımı sunarım.

Ayrıca tezimin biyokimyasal parametrelerinin hazırlanmasında yardımcı olan Dr. Süleyman GÜRBÜZ ve Dr. İsmail GÜZEL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Ghrelinin osteoblastik hücre proliferasyonu, differasyonu ve büyüme hormonu salınımını artırmadaki ve apoptozisi önlemedeki etkisi bilinmektedir. Bu çalışmada; ghrelinin kırık iyileşmesinde rolü olup olmadığı ve kemik dokusunda sentezlenip sentezlenmediği araştırıldı. Çalışma için, kırık tanısıyla ameliyat yapılan grup I'den kırık stabilizasyonu öncesinde ve sonrasında (postop 1. gün, 10. gün ve 60. gün) toplam 4 defa, kontrol grubu olan grup II'den ise bir defa olmak üzere her iki gruptan kan örnekleri alındı. Femur boyun kırığı gelişmiş ve kalça protezi yapılan hastalardan çıkartılan femur başları alındı. Ghrelinin kandaki değişimleri Elisa yöntemiyle çalışıldı. Kemik dokuları ise immünohistokimyasal yöntem ile çalışıldı.

Açile ghrelin düzeyleri kontrol ile kıyaslandığında postop. 1. günden itibaren arttığı gözlemlendi. Desaçile ghrelin düzeylerinin ise postop. 10. gün hariç kontrol ile kıyaslandığında arttığı gözlemlendi. Ameliyat yapılan hastaların hepsinde osseöz kaynama gerçekleştiği görüldü. Kemik dokusunda ghrelinin sentezlenmediği saptandı.

Sonuç olarak; değişen açile ve desaçile ghrelin düzeylerinin, hücre proliferasyonunu artırarak, apoptozisi önleyerek, antienflamatuvar, antimikrobiyal etki göstererek ve BH (büyüme hormonu) salınımını arttırarak kırık iyileşme sürecine katkı yaptığını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, osteoblast, büyüme hormonu, kırık iyileşmesi, kemik.

ABSTRACT

BLOOD HORMONE PROFILE OF GHRELIN DURING FRACTURE RECOVERY PROCESS AND INVESTIGATION OF GHRELIN IN THE HUMAN BONE TISSUE WITH IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Increasing the osteoblastic cell proliferation, differentiation and growth hormone release and prevention of apoptosis are the known effects of the ghrelin. This study investigated for the role of ghrelin in fracture healing and whether the synthesis of ghrelin in bone tissue. Blood samples were obtained from group I (study group, surgery with fracture diagnosis) at preoperative and postoperative periods (1st, 10th and 60th postoperative days) with a total of four times and once from group II (control group). Femoral heads which extracted from patients with femoral neck fracture treated by hip prosthesis were used for searching the ghrelin in bone tissue. Changing the ghrelin profile in the blood were studied by ELISA. Femoral heads were studied with immunohistochemical method.

When we compared the acyl ghrelin levels with the control group, increased was observed after postoperative 1st day. Unacyl ghrelin levels were increased when compared with the control group, except the 10th postoperative day. Fracture union were observed in all cases in group I. Ghrelin synthesis in the bone tissue was not determined.

As a result; we thought that changing of acyl and unacyl ghrelin levels in blood may be additive effect on fracture healing by increasing the cell proliferation, preventing of apoptosis, antienflamatuar and antimicrobial effects and increasing the growth hormone release.

Key words: Ghrelin, osteoblast, growth hormone, fracture healing, bone.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Kemik	2
1.1.1.1. Kemik Histiyolojisi	2
1.1.1.1.1. Kemik tipleri	2
1.1.1.2. Hücresel Biyoloji	3
1.1.1.2.1. Osteoblastlar	3
1.1.1.2.2. Osteositler	4
1.1.1.2.3. Osteoklastlar	5
1.1.1.2.4. Osteoprogenitör Hücreler	6
1.1.1.2.5. Kaplama hücreleri	6
1.1.1.2.6. Kemik matriksi	6
1.1.1.3. Kemik Dolaşımı	7
1.1.1.3.1. Anatomi	7
1.1.1.3.2. Fizyoloji	8
1.1.1.3.3. Kırık iyileşmesi esnasında kan akımındaki değişimler	8
1.1.1.3.4. Düzenleme	9
1.1.1.4. Kemiği Çevreleyen Dokular	9
1.1.1.4.1. Periost	9
1.1.1.4.2. Kemik iliği	9
1.1.1.5. Kemik Gelişimi – Osteogenez	9
1.1.1.5.1. Kemik oluşumu	9

1.1.1.6. Kırık iyileşmesi	12
1.1.1.6.1. Yangı (Enflamasyon) Evresi	13
1.1.1.6.2. Onarım (Reperasyon) Evresi	15
1.1.1.6.3. Kemiğin Yeniden Şekillenme (Remodeling) Evresi	18
1.1.1.6.4. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler	19
1.1.1.6.5. Kırık İyileşmesinin Kontrolü	22
1.1.2. Ghrelin	23
1.1.2.1. Ghrelinin etkileri	25
1.1.2.1.1. Yemek Yeme Üzerine Etkisi	26
1.1.2.1.2. Uyku Üzerine Etkisi	27
1.1.2.1.3. Hücre Proliferasyonu	27
1.1.2.1.4. Kardiyovasküler Etkiler	28
1.1.2.1.5. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri	28
1.1.2.1.6. Yağ Dokusuna Etkileri	28
1.1.2.1.7. Gastrointestinal Etkiler	28
1.1.2.1.8. Pankreatik Ekzokrin ve Endokrin Fonksiyonu Üzerine Etkisi	29
1.1.2.1.9. Diğer Endokrin Etkiler	29
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Hormonal ve Biyokimyasal Ölçümler	31
2.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	32
2.3. Radyolojik Bulgular	33
2.4. İstatistiksel İncelemeler	33
3. BULGULAR	34
3.1. İmmünohistokimya	42
4. TARTIŞMA	44
5. KAYNAKLAR	48
6. ÖZGEÇMİŞ	57

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler	21
Tablo 2.	Radyolojik skorelama sistemi	33
Tablo 3.	Vakaların demografik değerleri	34
Tablo 4.	Grup I için grup içi karşılaştırmalar	34
Tablo 5.	Grup I preop. Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	35
Tablo 6.	Grup I postop. 1. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	35
Tablo 7.	Grup I postop. 10. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	35
Tablo 8.	Grup I postop. 60. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	36
Tablo 9.	Grup I'in grup içi total ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	36
Tablo 10.	Grup I'in preop, postop 1., 10. ve 60. gün Total Ghrelin değerleri ile Grup II Total Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması	36

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Kemik doku kesiti	3
Şekil 2.	Kemik hücrelerinin şematik görünümü	7
Şekil 3.	İntramembranöz kemikleşme	11
Şekil 4.	Endokondral kemikleşme	12
Şekil 5.	Tipik kırık iyileşmesinin histolojisi	17
Şekil 6.	Kırık iyileşmesinin şematik görünümü	19
Şekil 7.	Ghrelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı	25
Şekil 8.	Ghrelinin etkileri	26
Şekil 9a.	Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın preop AP-lat. radyolojik görüntüleri	37
Şekil 9b.	Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın postop 4. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri	37
Şekil 9c.	Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın dinamizasyon sonrası 10. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri	38
Şekil 10a.	Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın preop AP-lat. radyolojik görüntüleri	38
Şekil 10b.	Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın postop 4. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri	39
Şekil 10c.	Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın postop 10. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri	39
Şekil 11a.	Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın pelvis AP radyolojik görüntüleri	40
Şekil 11b.	Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın femur AP radyolojik görüntüleri	40
Şekil 11c.	Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın postop femur AP radyolojik görüntüleri	41
Şekil 11d.	Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın postop pelvis ve femur AP radyolojik görüntüleri	41
Şekil 12.	Kemik trabekülleri ve onları çevreleyen osteoblastların (ok) histolojik görünümü	42
Şekil 13.	Kemik trabeküllerinde ve osteoblastlarda ghrelin negatifliği	43
Şekil 14.	Mide dokusunda enteroendokrin hücrelerde (ok) ghrelin pozitifliği	43

KISALTMALAR LİSTESİ

aa	: Aminoasit
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AGRP	: İştah Etkili Protein
ALP	: Alkalen Fosfataz
AP	: Ön-arka
ARC	: Hipotalamik Arkuat Nukleus
BH	: Büyüme Hormonu
BMP	: Kemik Morfogenetik Proteini
CDGF	: Kondroblast Kökenli Büyüme Faktör
ECDGF	: Endotelyal Hücre Kaynaklı Büyüme Faktör
ECGF	: Epidermal Hücre Kaynaklı Büyüme Faktör
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
EGF	: Epidermal Büyüme Faktör
FGF	: Fibroblast Kaynaklı Büyüme Faktör
GAH	: Ghrelin Appetite Hormonu
GHRH	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
GHRP	: Büyüme Faktörü Salıcı Peptid
GHS	: Büyüme Hormonu Salgılatıcı
HE	: Hemotoksilen Eozin
IDGF	: İnsülin Kaynaklı Büyüme Faktör
IL	: Interlökin
IP3	: İnositol Trifosfat
MDGF	: Makrofaj Kaynaklı Büyüme Faktör
NO	: Nitrik Oksit
NPY	: Nöropeptid Y
NSAII	: Nonsteroid Antienflamatuar İlaç
PBS	: Fosfar Buffen Saline
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktör
PG	: Prostaglandin

PTH	: Paratiroid Hormon
RANK	: Nükleer Faktör kapa B aktivasyonu için Reseptör
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktör
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
VEGF	: Vasküler Endotelyal Hücre Büyüme Faktör

1. GİRİŞ

Her gün pek çok insan trafik ve iş kazaları sonrası kas-iskelet sistemi travmasına maruz kalmakta, bunların da bir kısmında kırık meydana gelmektedir. Kemik dokusunun dıştan veya içten gelen zorlanmalarla bütünlüğünün bozulmasına “**kırık**” denir. Kırık oluşumu esnasında hücreler, kemik matriksi ve periost travmanın şiddeti ile doğru orantılı olarak hasar görür.

Kırık iyileşmesi çok iyi planlanmış ve optimal iskelet tamirini sağlayan bir biyolojik süreçtir.

Amerika Birleşik Devletinde bir yılda ortaya çıkan kırıkların %5-10’unda çeşitli derecelerde iyileşme sorunu ortaya çıkmaktadır (1). Çoğunlukla bu sorunun nedeni bilinmemekle beraber, yetersiz redüksiyon, instabilite, hastanın sistemik durumu, travmanın özelliği gibi etmenlerle ilişkili olabileceği belirtilmiştir (2-6).

Kırıkların çoğu sorunsuz iyileşse bile, bazı durumlarda kırık iyileşmesinin hızlandırılması, iskelet sistemi işlevlerine kısa sürede geri dönülebilmesi için gerekli olabilir.

Kırık iyileşmesinin nasıl olduğu ve hangi faktörlerin etki ettiğine dair çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalar sonucunda kemik metabolizması ve iyileşmeyi olumlu ya da olumsuz etkileyen faktörlerin bilinmesi tedavi şekillerini de değiştirmiştir.

Ghrelin, 1999 yılında Japon bilim adamları tarafından keşfedilmiştir. Temel olarak mide fundusundan salınan 28 aminoasitlik (aa) lipopeptid yapıda bir hormondur. Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plesanta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir (7-10).

Ghrelinin büyüme hormonu (BH) ile ilişkisi ilk keşfedilen özelliklerindendir. Ghrelinin hipofiz membranında bulunan büyüme hormonu salgılatıcı reseptör vasıtasıyla hipofiz içine girmesi ve fosfolipaz C aktivasyonu sonucu intraselüler kalsiyum iyonu derişiminin yükselmesiyle BH salınımı uyarılır. Ghrelin, büyüme hormonu salınımını hem in vitro hemde in vivo şartlarda doza bağımlı olarak arttırmaktadır. İnsan ve köpeklere ghrelinin intravenöz verilmesi büyüme hormonu salınımını artırmaktadır. Ratlarda ghrelin (GAH) osteoblastların proliferasyon ve

farklılaşmasını uyarmaktadır. Dişi sıçanlarda 12 hafta boyunca büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRP-6) veya peptid analogu olan İpamorelin verilmesi sonrası in vivo kemik mineralizasyonun arttığı kemik dansitometri ölçümlerinde gösterilmiştir (11-13).

Çalışmamızda; kırık iyileşme sürecinde kandaki ghrelin profilinin çıkarılması ve Ghrelinin immunohistokimyasal olarak insan kemik dokusunda araştırılması amaçlanmıştır.

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Kemik

Kemik ekstrasellüler matriksinin mineralleşme denen bir işlemle kalsiyum ve fosfat tuzları ile doygunlaştırılmış olduğu sert, bükülmez bir bağ dokusudur. Kemik metabolik olarak çok aktiftir ve fazlaca damarlanmıştır (14).

Synovial dokular, kan damarları, kemik iliği gibi yapılar kemik dokuyla sıkı bir ilişki halindedirler (15).

Kemik doku yumuşak dokular için mekanik desteğin yanı sıra kan yapımı ve kalsiyum metabolizmasında da rol alır.

1.1.1.1. Kemik Histiyolojisi

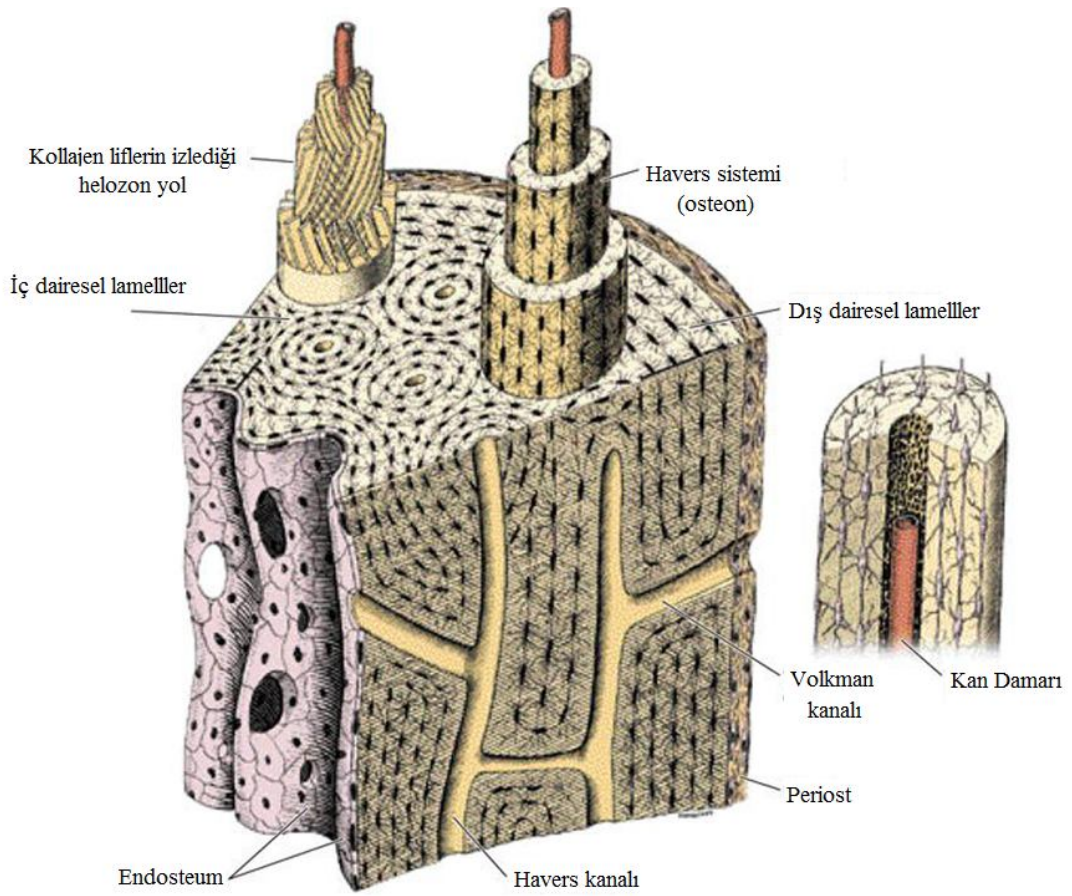
1.1.1.1.1. Kemik tipleri

Normal kemik lameller yapıdadır ve kortikal ya da spongioz olarak 2 tipi vardır. İmmatür ve patolojik kemik örgülü yapıdadır, lameller kemiğe göre fazla sayıda osteosit içerecek biçimde daha rastgele düzenlenmiştir, yapım ve yıkım döngüsü artmıştır ve lameller kemiğe göre daha zayıf ve esnektir. Lameller kemik strese dayanıklı iken örgülü kemik dayanıksızdır (16) (Şekil 1).

Kortikal Kemik: İskeletin %80'ini oluşturur. Sıkıca paketlenmiş osteonlar ya da arterioller, venüller, kapillerler, sinirler ve lenfatik kanalları içeren haversiyan (veya Volkmann) kanallarıyla bağlı haversiyan sistemlerinden oluşur. Osteonlar arasında intersitisyel lamellalar mevcuttur. Lamelleri sıklıkla fibriller bağlar. Sement hatları osteonun dış sınırını belirler. İntraosseoz dolaşım besin sağlar. Kortikal kemik spongioz kemiğe göre daha yavaş bir dönüşüm hızına, göreceli olarak yüksek bir Young modülüsüne, torsiyon ve bükülmelere karşı on kat daha yüksek bir dirence sahiptir (3).

Spongioz Kemik: Süngerimsi ya da trabeküler kemik de denir. Kortikal kemikle karşılaştırıldığında yoğunluğu daha azdır ve stres çizgilerine bağlı olarak daha fazla

remodelasyon meydana gelir (Wolf kanunu). Daha yüksek bir dönüşüm hızı vardır. Young modülü daha küçüktür, bu nedenle kortikal kemikten daha elastiktir (3). Trabeküler kemik, esas olarak uzun kemiklerin uçlarında ve vertebralarda bulunur. Trabeküler kemiğin plaklar halinde, birbiri ile bağlantılı, üç boyutlu dantele benzer bir yapı oluşturması, yüksek yüzey/alan oranı oluşturarak yüksek metabolik aktivite işlevi yanında, kemiğe yansıyan çeşitli yüklere karşı kemiğin dayanma gücünü de artırır (4).



Şekil 1. Kemik doku kesiti (17)

1.1.1.2. Hücresel Biyoloji

1.1.1.2.1. Osteoblastlar

Osteoblastlar kemiği oluştururlar ve farklılaşmamış mezenşimal kök hücrelerden gelişirler. Mikroskopik olarak oval şekilli, polihedral yapılı, ekzantrik büyük nükleuslu, büyük granüllü endoplazmik retikuluma sahip hücrelerdir. 20-30

µm büyüklüğünde olup kemiğin yüzeyinde tabaka halinde bulunurlar. Osteoblastlar, osteosit ve ekstrasellüler matriks ile olan iletişimi transmembran proteinler ve integrinler vasıtasıyla sağlarlar. Osteoid materyal ve matriks sentezlerler. Ortalama 1-10 hafta yaşarlar. İnterlökinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve insülin kaynaklı büyüme faktörü (IDGF), osteoblastların farklılaşmasını in vivo olarak etkilerler. Lokal sitokinler ve PTH (paratiroid hormon), D vitamini metabolizmasının yan ürünleri, gonadal ve adrenal steroidler gibi moleküllere spesifik reseptör içerirler. Bu reseptörler ile aktif hale gelen osteoblastlar, osteoklastları aktif hale getirecek mediyatörler salgırlar, ayrıca hematopoetik hücrelerin değişimine katkıda bulunurlar.

Görevleri kısaca; kemik matriksindeki kollajen ve kollajen dışı protein sentezi, ekstrasellüler matriks fibrillerinin düzenini ve osteoid materyalin mineralizasyonunu sağlamaktır. Bu mineralizasyonu alkalenfosfataz (ALP) enzimi sayesinde içerdikleri adenozintrifosfatazın ortama saldığı Ca^{+2} iyonu ile sağlarlar. Sentezlediğı çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde osteoklastların rezorbsiyonuna aracılık ederler. Osteoklastların kemik yüzeyinde yerleşmesine PTH etkisiyle aracılık ederler. Bir kısmı matriks sentezleyen osteosite dönüşür.

Elektron mikroskobu fotoğraflarında, osteoblastlar protein sentezi, glikozilasyon ve sekresyonda aktif olarak yer alan hücrelerin tipik özelliklerini gösterirler. Özgün ürünleri, tip 1 kollajen, osteokalsin, osteopontin ve kemik siyaloproteinidir. Osteoblastlar alkalen fosfataz için osteositler olarak matrikse gömülü hücreler haline geldikleri zaman kaybolan güçlü bir sitokimyasal reaksiyon verirler. Ayrıca, osteoblastlar kemiğı uyarıcı aktiviteler ile kemik morfogenetik protein ailesinin üyeleri olan büyüme faktörlerini üretirler. Kemik oluşumu tamamlandığı zaman, osteoblastlar yassılaşı ve osteositlere dönüşürler. Diğer bir kısmı da apoptozis ile ortamdan kaybolur (14-21).

1.1.1.2.2. Osteositler

Osteositler, kemiğin ekstrasellüler matriksinin (ECM) varlığını sürdüren, osteoblast soyunun farklılaşmış son veya en olgun hücreleridir (14).

Kemik oluşumu sırasında bazı osteoblastlar kemik matriksi içinde kalarak osteosite dönüşür. Osteoblastlarca sentezlenen osteoid, kalsifikasyona uğrayıp hidroksiapatit kristallerini oluştururken bazı osteoblastlar kemik içinde kalarak

organellerinden çoğunu kaybeder ve osteosite dönüşürler. Osteositler osteoblastlara göre hücresel düzeyde farklılıklar taşırlar. Osteositler yassı elips şekilli, stoplazmik uzantıları olan, küçük tek çekirdekli hücrelerdir. Osteoblastlara göre daha az sayıda mitokondri, endoplazmik retikulum ve golgi aparatı içerirler. Daha yoğun çekirdek kromatini taşırlar. Osteosite dönüşen osteoblast sayısı kemik oluşum hızına bağlı olduğu için oluşum hızı arttıkça bölgedeki osteosit sayısı da artar (22-24).

Normal bir insan kemiğinde osteblastlardan 10 kat fazla sayıda osteosit hücresi bulunur, tüm kemik hücrelerinin %90'ı osteosit hücresidir (19). Osteoblast ve osteoklastlar kemik yüzeyinde yerleşmişken, osteositler mineralize matriks içinde yer alırlar (19-21).

Osteositler lakün denen lameller arasındaki küçük boşlukları işgal eden gövdeleri ile oldukça fazla dallanmış hücrelerdir. Kanalikül denen küçük kanallar lameller boyunca ilerler ve komşu lakünleri birbirine bağlar. Kanaliküller içinde bulunan komşu hücre uzantıları oluklu bağlantılar ile bağlanırlar. Besin maddeleri havers kanalı içindeki bitişik kan damarlarından kanalikül boyunca lakün içerisine yayılır (14). Bir osteositin ömrü besin difüzyon sürecine ve kemik matriksinin ömrü de osteositlere bağlıdır. Osteositlerin ömrü birkaç yıl kadardır (24). Kronik glukokortikoid kullanımı, yaşlanma, aşırı kuvvete maruz kalma, östrojen azalması osteosit ölümünü artırır (25-28). PTH verilmesi ile ölümlerinin engellendiği bildirilmiştir (29).

1.1.1.2.3. Osteoklastlar

Hematopoetik dokulardan köken alan çok çekirdekli, düzensiz şekilli dev hücrelerdir. Kemiği rezorbe ederler. Monosit öncüleri birleşerek dev hücreleri oluştururlar. Tırtıklı bir sınıra ve bunu çevreleyen berrak bir bölgeye sahiptirler. Yüzey alanını artıran bu plazma membranı katlantıları kemik rezorbsiyonunda, yıkımında önemlidir. Kemik yıkımı girintilerde (Howship lakünaları) gerçekleşir. Kemik oluşumu ve yıkımı birbiri ile bağlantılıdır ancak yıkım daha hızlı gerçekleşir.

Osteoblastlar ve tümör hücreleri, osteoklastlar üzerinde reseptörlere bağlanan ve kemik yıkımını artıran bir molekül olan nükleer faktör kapa B aktivasyonu için reseptör (RANK) ligandını salgırlar. Bu mekanizma RANK L'ye bağlanan osteoprotegerin tarafından inhibe edilir ve osteoklastlarla etkileşim önlenir. Osteoklastlar tartarat dirençli asit fosfataz sentezlerler. Osteoklastlar, kemik

yüzeylerine osteoklastların altındaki mesafeyi etkin bir biçimde kapayan hücre yapışma proteinleri (integrinler) ile bağlanırlar. Osteoklastlar pH'yı düşüren ve hidroksiapatit kristallerinin çözünürlüğünü artıran hidrojen iyonları (karbonik anhidraz yoluyla) üretirler ve daha sonra organik matriksi proteolitik sindirim ile ortadan kaldırırlar. Karbonik anhidraz yetmezliği olan hastalarda bu yolla kemik yıkımı gerçekleşemez. Osteoklastlarda kemik yıkımını direkt olarak düzenlemeye yarayan kalsitonine özgün reseptörler vardır (16).

1.1.1.2.4. Osteoprogenitör Hücreler

Mezenkim kaynaklı ana hücrelerin bir alt grubudur. Mitoz yeteneğine sahip olup, olgun kemik hücrelerine farklılaşma kapasitesine sahiptirler. Bu hücreler uyarılmadıkları zaman kemik yüzeyi yakınlarında, periostun iç yüzeyinde, endosteumda ve Havers kanallarında bulunurlar. Kırık sonucu uyarıldıklarında, belirgin nükleuslu füziform iri hücrelere dönüşürler (30-32).

Osteoprogenitör hücrelerin her zaman kondroblast, osteoblast ve osteoklastlara farklılaşma yetenekleri vardır. Kemikteki iki ana hücre olan osteoklastlar ve osteoblastlar, kaynağını hemopoetik ve stromal hücre sistemi olarak adlandırılan iki farklı hücre soyundan alırlar (33-35).

1.1.1.2.5. Kaplama hücreleri

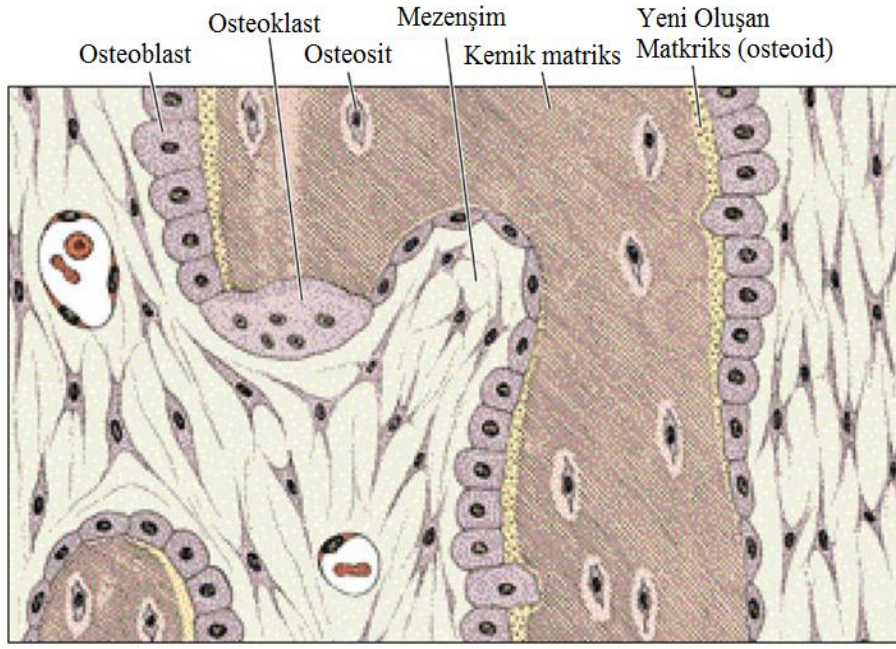
Kemik etrafında bir zarf oluşturan dar, düz hücrelerdir (16). Görevleri arasında; kemik ve çevresi arasında bariyer oluşturmaları, yeni kemik oluşumu ya da yıkım bölgesinin tayin edilmesi vardır (34).

1.1.1.2.6. Kemik matriksi

Kemik matriksi organik ve inorganik moleküllerden oluşmuştur. Organik bölüm kuru ağırlığın %40'ını ve inorganik bölüm ise %60'ını oluşturur.

Kemiğin organik kısmı kollajen (primer olarak tip 1 kollajen), proteoglikan, kollajen olmayan matriks proteinleri (glikoprotein, fosfolipit, fosfoprotein), büyüme faktörleri ve sitokinlerden meydana gelir.

Kemiğin inorganik kısmı komprese edici güçlere karşı dayanıklılığı sağlar. Kalsiyum ve fosfor birleşerek hidroksiapatit kristallerini oluştururlar (16) (Şekil 2).



Şekil 2. Kemik hücrelerinin şematik görünümü (17)

1.1.1.3. Kemik Dolaşımı

1.1.1.3.1. Anatomi

Bir organ olarak kemikler kardiyak çıkışın %5-10'unu alır. Uzun kemikler 3 kaynaktan beslenir; besleyici arter sistemi, metafiz-epifiz sistemi, periost sistemi. Kanlanması az olan kemikler skafoïd, talus, femur başı ve odontoiddir.

1. Besleyici arter sistemi

Besleyici arterler ana sistemik arterlerden dallanır. Diafizyal kortekse nutrient foramenlerden girerler ve sonra medüller kanala girerek inen ve çıkan küçük arterlere dallanırlar. Bu damarlar endosteal kortekste arteriollere dallanırlar ve haversian sistemi içindeki damarlar aracılığıyla matür diafizyal korteksin iç yüzünün en az üçte ikisini beslerler. Besleyici arter sistemi yüksek basınçlıdır.

2. Metafizyal- epifizyal sistem

Periartiküler vasküler pleksustan doğarlar.

3. Periosteal sistem

Primer olarak matür diafizyal korteksin en çok dış üçte birini besleyen kapillerlerden oluşur. Periosteal sistem düşük basınçlıdır.

1.1.1.3.2. Fizyoloji

1. Akımın yönü

Matür kemikteki arteryel akım yüksek basınçlı besleyici arteryal sistemin ve düşük basınçlı periosteal sistemin net etkisinin bir sonucu olarak sentrifugaldır (içten dışa doğru). Endosteal sistemin bozulduğu tamamen deplase bir kırıkta basınç gradienti tersine döner. Periosteal sistem basıncı baskın hale gelir ve kan akımı sentripedal hal alır (dıştan içe doğrudur). Gelişmekte olan immatür kemikte arteryel akım sentripedal'dır. Çünkü periost yüksek oranda vaskülarizedir ve kemik kan akımının baskın bileşenidir. Matür kemikte venöz akım sentripedaldır. Kortikal kapillerler daha sonra boşaltıcı venöz sisteme drene olan venöz sinuzoidlere drene olurlar.

2. Kemiğin sıvı bileşenleri;

Ekstravasküler	%65
Haversiyan	%6
Laküner	%6
Kırmızı kan hücreleri	%3
Diğer	%20

3. Kemik kan akımındaki fizyolojik durumların etkileri;

Hipoksi - Akımı artırır

Hiperkapni - Akımı artırır

Sempatektomi - Akımı artırır

1.1.1.3.3. Kırık iyileşmesi esnasında kan akımındaki değişimler

Kemik kan akımı kırık iyileşmesinin ana belirleyicisidir. Kemik kan akımı ana besinleri kemik yaralanması olan yere getirir. Kırık bölgesinde oluşan damar yaralanmasına bağlı olarak gelişen ilk tepki kemik kan akımında bir azalmanın olmasıdır. Saatler ya da günler içinde kemik kan akımı artar. İki haftada zirve yapar ve 3-5 ayda normale döner. Oymasız intramedüller çivilerin en büyük avantajı endosteal kan akımının korunmasıdır. Gevşek oturtulmuş çiviler (oymasız) kortikal perfüzyonu korur ve kanalı dolduran çivilere göre daha hızlı reperfüzyon sağlarlar. Kanalin oyulması korteksin iç %50-80'ini devaskülarize eder. Bu endosteal kan akımının revaskülarizasyonundaki gecikmenin en önemli sebebidir.

1.1.1.3.4. Düzenleme

Kemik kan akımı metabolik, humoral ve otonomik girdilerin kontrolü altındadır. Kemiğin arteriyel sisteminin oldukça önemli bir vazokonstriksiyon ve daha az bir vazodilatasyon potansiyeli vardır. Kemik içindeki damarlar pek çok vazoaaktif reseptörler içerir. Bu reseptörler gelecekte kemik kanlanmasındaki bozukluklara bağlı gelişen kemik hastalıklarının farmakolojik tedavisinde faydalı olabilir (36).

1.1.1.4. Kemiği Çevreleyen Dokular

1.1.1.4.1. Periost

Kemiği kaplayan bağ dokusu membranıdır. Kortikal kemik oluşturarak kemik çapının büyümesinden sorumlu olduğu için çocuklarda daha fazla gelişmiştir. Periostun kalınlığı ve hücre sayısı çocuklukta fazla iken, yaş ilerledikçe azalır. Periostun iç tabakası yani kambium gevşektir. Osteoblasta dönüşebilen hücreler içerir. Bu hücreler büyüme sırasında kemiğin çapının artırılmasından ve kırık iyileşmesinde periosteal kallus oluşumundan sorumludur. Dış fibröz tabaka ise daha az hücreseldir ve eklem kapsülleri ile bitişiktir (19,36).

1.1.1.4.2. Kemik iliği

Progenitör hücrelerin kaynağıdır, kemiğin iç çapını kontrol eder.

a- Kırmızı ilik hematopoetiktir (%40 su, %40 yağ, %20 protein). Yaşlanmayla birlikte kırmızı ilik önce apendiküler islelette (ekstremitelerde), sonrada aksiyel iskelette sarı iliğe dönüşür.

b- Sarı ilik inaktiftir (%15 su, %80 yağ, %5 protein) (37).

1.1.1.5. Kemik Gelişimi – Osteogenez

1.1.1.5.1. Kemik oluşumu

Kemik daha önceden var olan bağ dokusunun yerine gelişir. Embriyoda kemik oluşumu ya da osteogenez 2 şekilde gerçekleşir.

1- İntramembranöz kemikleşme

Kemik doku doğrudan primitif bağ dokusu ya da mezenşimden gelişir. Kafatasının yası kemikleri gibi membranöz kemikler intramembranöz kemikleşme ile gelişir.

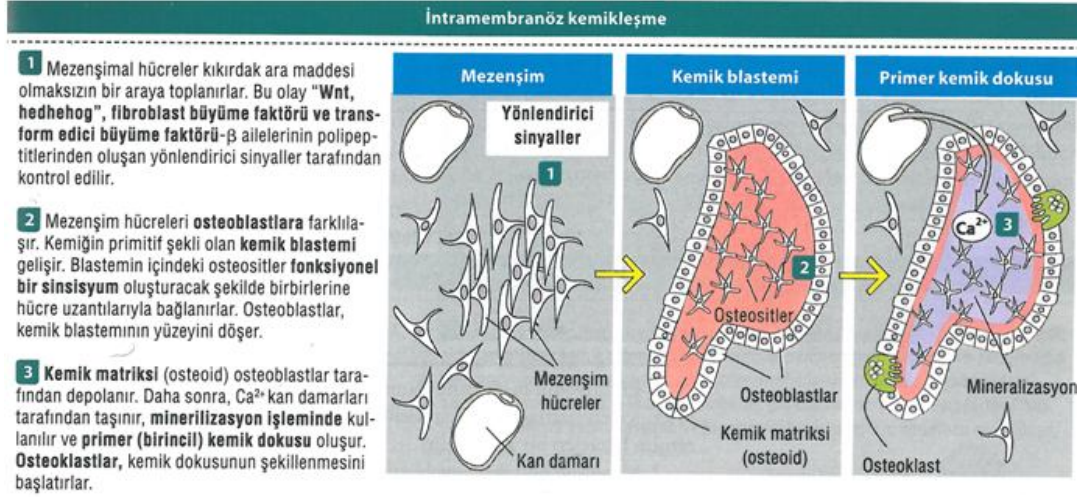
Mezenşimal hücreler kıkırdak ara madde olmaksızın bir araya toplanırlar. Bu olay, fibroblast büyüme faktörü ve taransform edici büyüme faktörü-beta ailelerinin

polipeptidlerinden oluşan yönlendirici sinyaller tarafından kontrol edilir. Mezenşim hücreleri osteoblastlara farklılaşır. Kemiğin primitif şekli olan kemik blastemi gelişir. Blastemin içindeki osteositler fonksiyonel bir sinsisyum oluşturacak şekilde birbirlerine hücre uzantılarıyla bağlanırlar. Osteoblastlar kemik blasteminin yüzeyini döşer. Kemik matriksi (osteoid) osteoblastlar tarafından depolanır. Daha sonra, Ca^{+2} kan damarları tarafından taşınır, mineralizasyon işlemine kullanılır ve primer kemik dokusu oluşur. Osteoklastlar, kemik dokusunun şekillenmesini başlatırlar. Birçok kemikleşme merkezi gelişir ve bu merkezler sonunda birleşerek süngere benzeyen ve dolayısıyla süngerimsi kemik ya da primer spongioza olarak adlandırılan anastomozlaşan trabeküllerin bir ağını oluştururlar. Yeni oluşan trabeküllerde kolajen lifleri rastgele dağılım gösterdiğinden erken dönemdeki intramembranöz kemik, ağsı kemik olarak tanımlanır. Kalsiyum fosfat apozisyon ile uzanan kemik matriksinde depo edilir.

Kemik matriksi mineralizasyonu, iki yeni gelişime öncülük eder; trabeküllerin kalınlaşması ile osteoblastların osteositler şeklinde hapsedilmesi ve perivasküler kanalların kısmen kapanması ile mezenşim hücrelerinin kan-yapıcı hücrelere dönüşmesi şeklindeki hematopoez olaylarında yeni görev üstlenmesi.

Osteositler kanaliküller içindeki sitoplazmik uzantılarla birbirlerine bağlanırlar ve kan damarlarına komşu osteoprogenitor hücrelerden yeni osteoblastlar oluşur.

Ağsı kemikte yeni sentezlenen kollajen lifleri düzenli demetler oluşturmak üzere dizilerek lameller kemiği oluşturur. Havers kanalını dolduran merkezi bir kan damarı çevresinde konsantrik halkalar şeklinde düzenlenen lameller, osteonları veya havers sistemlerini oluştururlar. Membran kemikleri merkezde diploe adı verilen ve süngerimsi olarak kalan bir bölge içerir. Bu bölge, sıkı (kompakt) kemiğin dış ve iç membranı tarafından kuşatılır. Dış ve iç bağ dokusunun yoğunlaşması ile osteoprogenitör hücre potansiyeline sahip fusiform hücreler içeren periosteum ve endosteum oluşur (38) (Şekil 3).



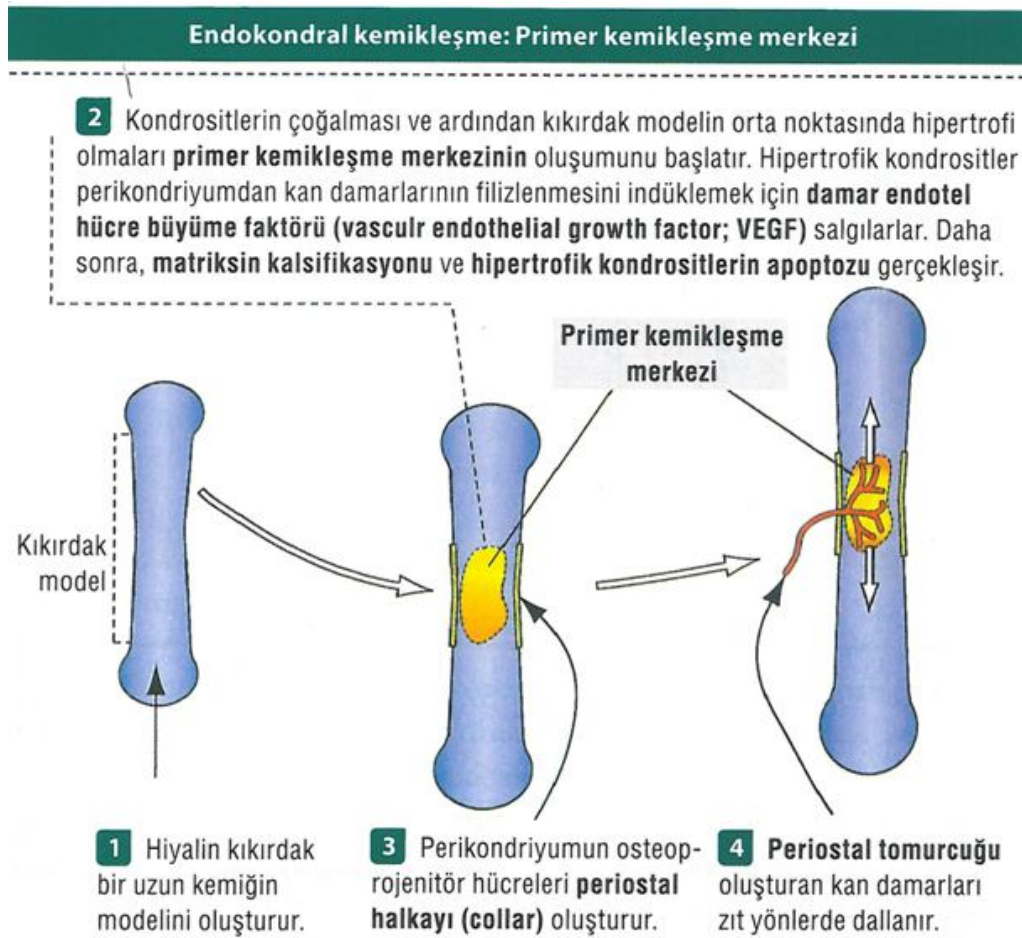
Şekil 3. İntramembranöz kemikleşme (14)

2- Endokondral Kemikleşme

Endokondral kemikleşme, iskelet kıkırdak modellerinin yerini kemiğe bırakması şeklinde gerçekleşir. Ekstremitte kemikleri, omurga ve pelvis kemikleri hyalin kıkırdak modelden köken alırlar.

İntramembranöz kemikleşmede olduğu gibi, endokondral kemikleşme süresince primer kemikleşme merkezi oluşur. İntramembranöz kemikleşmeden farklı olarak bu kemikleşme merkezi, tip-II kollajen içeren bir ekstrasellüler matriksi depolayan çoğalabilen kondrositlerden köken alır. Kıkırdakın merkez bölgesindeki kondrositler olgunlaşarak hipertrofik kondrositler halini alır ve hipertrofik kondrositlerin bir belirtici olan tip X kollajen içeren bir matriks sentezlerler. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan anjiyogenik faktörler (vasküler endotelial hücre büyüme faktörü) perikondriumdan kan damarlarının oluşumunu indükler. Osteoprogenitör ve hematopoetik hücreler yeni oluşan kan damarları ile

ulaşır. Bu olaylar primer kemikleşme merkezinin oluşumu ile sonuçlanır. Kıkırdak modelin orta hattında matriksin kalsifikasyonu gerçekleşirken hipertrofik kondrositler apoptoza giderler. Aynı zamanda içteki perikondriyal hücreler osteogenik potansiyellerini gösterirler ve diyafiz denilen kıkırdak modelin orta noktası çevresinde kemikte ince bir periostal halka oluşur. Sonuçta, primer kemikleşme merkezi bir kemik tüpün içinde yerleşmiş olur (38) (Şekil 4).



Şekil 4. Endokondral kemikleşme (14)

1.1.1.6. Kırık iyileşmesi

Kırık, dıştan veya içten gelen zorlamalar ile kemiğin anotomik bütünlüğünün ve devamlılığının bozulması olarak tanımlanır. Kırık kemiğin tamiri, kırık olduğu

andan itibaren başlamaktadır. Kırık iyileşmesi bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır.

Kırık iyileşmesi 2 ana grupta incelenir;

1- Primer Kırık İyileşmesi

2- Sekonder Kırık İyileşmesi

1- Primer Kırık İyileşmesi: Genellikle ayrılmamış ve rijit osteosentez uygulanan kırıklarda görülür. Radyolojik olarak kallus (yeni kemik dokusu) görülmez. Kırık uçlarında bulunan nekrozu osteoklastlar rezorbe eder. Peşinden osteoblastlar yeni kemik yapısını oluşturur.

Kırıkta süreç yoktur. Bu nedenle intramembranöz kemikleşmeye benzetilir (39).

2- Sekonder Kırık İyileşmesi: Tabii iyileşme budur. Radyolojik olarak kallus gözükür (39).

Cruess ve Dumont'a göre ikincil kırık iyileşmesinin 3 evresi vardır: (40)

1- Yangı (Enflamasyon) evresi.

2- Onarım (Reperasyon) evresi.

3- Yeniden şekillenme (Remodeling) evresi.

1.1.1.6.1. Yangı (Enflamasyon) Evresi (1-4 gün)

Bir kemik kırığı matrikste hasara, hücrelerde ölüme, periosteum ve endosteumda yırtıklara ve kırık kemik uçlarında yer değişimine neden olur.

Tüm doku travmalarında, dolayısıyla kırıklarda, ilk verilen yanıt “enflamasyon” yani “yangı”dır. Travmanın şiddetine bağlı olarak, kırık uçları komşuluğundaki periost ve çevre yumuşak dokular yırtılarak, damarlar yaralanır. Kırık uçlarını karşılıklı çaprazlayan kan ve lenf damarlarının yaralanmasıyla bu uçlar arasındaki kemik iliğinde ve etrafında kan ve lenf sıvısı toplanır. Bu sıvı birikerek periostu kaldırır. Kanamanın durmasını ve pıhtılaşmayı sağlamak için trombosit ve trombotik faktörlerin toplanmasıyla moleküler araçlar yaralanma bölgesine salınır. Kanamanın pıhtılaşması ile kırık uçları arasında, periost altında ve periost yırtılmışsa bunun etrafında hematoma oluşur. Hematom sağlam yumuşak dokular tarafından sarılır.

Kırık hematomunun sekonder kırık iyileşmesinde önemli bir rolü vardır. Hematomun basıncı kırık uçlarının bir arada tutulmasına yardım eder. Açık

kırıklarda kırık hematomunun dışarıya boşalması ile kırık iyileşmesi gecikir veya hiç olmaz. Deneysel olarak hematoma organize olduktan sonra çıkarıldığında osteojenik uyarının büyük bir kısmının yok olduğu öne sürülmüştür. Olasılıkla, kırık hematoma onarım hücrelerinin gücünü kolaylaştıracak fibrinden bir yapı iskeleti sağlamaktadır. Ayrıca kırık hematoma ortamındaki trombositler ve hücrelerden büyüme faktörü ve diğer proteinler salınır. Bunlar, kırık onarımında yeri olan hücre göçünde, periostal hücre çoğalmasında ve onarım dokusu matriksinin sentezinde aracılırlar (41).

Kırık olduktan sonra geçici bir arteriyoller daralmayı, arteriyol, kılcal damar ve venüllerin genişlemesi izler. Bunun nedeniyse dokudaki mast hücrelerinin kırık bölgesine histamin salgılamasıdır. Ayrıca kılcal damar zar geçirgenliği artar. Vazodilatasyon ve plazma eksudasyonuna bağlı olarak, kırık bölgesinde ilk 24 saat içinde ödem oluşur.

Polimorf çekirdekli lökositler, monosit ve lenfositleri içeren akut yangı hücreleri, ödemli bölgeye doğru göç eder.

Komşu Haversiyen sistemler arasında fazla anastomoz olmadığından, kırık hattının her iki tarafında belirli bir mesafeye kadar olan bölgede dolaşım durur. Buradaki osteositler piknotik hale gelir ve lizise giderek boş lakünalar bırakırlar. Sonuçta kırık uçlarında, kemik dokuda daha geniş olmak üzere nekroz bölgesi oluşur. Kırık ve çevre dokudan prostoglandinlerin salınımı yanısıra nekrotik materyalin varlığı akut yangının başlatılmasında önemli rol oynar (40). Bunda nekrotik kemik ve damar dokusu kaynaklı kallikrein gibi vazoaktif pirojenler etkilidir.

Kırık bölgesindeki hematoma 48 saat içinde organize olup fibrinden bir yapı oluşturur. Fibrinojen eklenen lizin, fenilalanin, gamaglobülin ve albuminle fibrine dönüşür. Polimorf çekirdekli lökositler ve makrofajların diapedezi ile fibrin matriksi oluşur. Makrofaj, histiyosit ve fibroblastların yaptığı kollajen de fibrin matriksi oluşumunda etkilidir.

Fibrin ağından da kemik yapımı için hücre çoğalması başlar. Bu dönemde fibrin matriksi içindeki öncü hücreler, lokal biyolojik etkilerle değişik dokuları oluşturmak için farklılaşmaya hazırdır. Kırık bölgesi pH'sı asitken, daha sonra yavaş yavaş nötrale döner ve ılımlı bir alkali seviyede kalır.

Büyük kırıklarda makrofaj monositler, bütün vücudu etkileyen bir sitokin olan interlökin-1 (IL-1) salgılar. IL-1 yaralanma bölgesinde lenfositlerin göçünü, kemik geri Emilimini (rezorpsiyon) sağlar ve orta beyin aracılığıyla ateş meydana getirir. IL-1 ayrıca kaslardan PG-E2 (Prostaglandin-E2) oluşumunu artırır (40-42).

1.1.1.6.2. Onarım (Reperasyon) Evresi (2-40 gün)

Onarım evresi kırık iyileşmesinde en önemli kısımdır. İlk basamağı hematoma organize olmasıdır. Lokal aracılı mekanizmalarla hassaslaşan öncü hücreler, yeni damar, fibroblast, hücreler arası madde, destek hücreleri ve diğer hücreleri oluşturmak üzere farklılaşmaya ve düzenlenmeye başlar. Kırık hattındaki hücrelerin aktivitenin başlaması için gerekli uyarım karmaşıktır. Kimyasal, elektriksel ve mekanik faktörler söz konusudur.

Onarım evresi, kırık oluşumundan sonraki saatlerde başlasa da yapısal olarak tipik hale gelmesi 7-12 gün sürer. Onarım mekanizmasında rol oynayan hücreler mezanşimal kökenli çok yönlü gelişim gücüne sahip (pluripotent) hücrelerdir. Çoğunlukla kırık bölgesindeki granülasyon dokusunun içinden, ayrıca periosteumun osteojenik tabakası ve daha az olarak endosteumdan köken alırlar. Bu hücreler farklılaşmaya başladığında, ilk değişikliğe uğrayan hücreler kılcal damarlarla hematoma içine giren “fibroblastlar”dır. Üçüncü günde karşı kırık uçlarında, yoğun mezanşimal hücre mevcudiyeti vardır. Bu hücreler kırık parçaları arasında yumuşak bir granülasyon dokusu oluşturur. Periosteal ve endosteal osteojenik hücrelerle, fibrin matriksteki fibroblastların çoğalıp farklılaşmasıyla, bu granülasyon dokusu oluşur. Fibroblastlar kollajen sentezlerken, kondroblastlar kollajen ve glikozaminoglikan, osteoblastlar ise osteoidi salgırlar. İyileşen kemiğin gerilmeye karşı dayanıklılığı, içerdiği kollajen kapsamıyla yakın ilişkilidir. Kallusun boyutu kırığın hareket derecesiyle doğru orantılıdır. İleri yaşlarda bu hücrelerin farklılaşma kapasiteleri azalır. Periosteumun hasar görmesi ya da ortamdan uzaklaştırılması kırık iyileşmesini yavaşlatır (43).

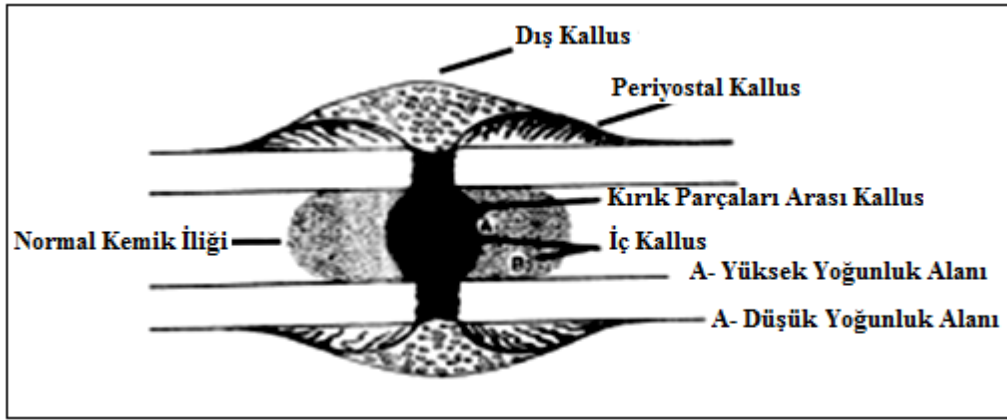
Kırık bölgesinde mezanşimal hücre çoğalması ilk 16 saatte saptanmıştır. Bu çoğalma, kırık sonrası 32 saatte en üst düzeye çıkar. Oluşmaya başlayan kan damarları 2-3 günde ışık mikroskopisi ile görünür hale gelirler ve 1. haftada belirginleşirler. Kırık iyileşmesinin ilk dönemlerinde periosteal damarlar, geç dönemdeyse besleyici (nutrisyen) damarlar, kılcal damar tomurcuklanmasına

yardımcı olurlar. Fakat kılcal damar gelişimi osteojenik hücre çoğalması kadar hızlı olmadığından, beslenmenin daha iyi olduğu kemiğe yakın seviyedeki hücreler osteoblastlara dönüşür. Kemiğe yakın olmayan, yakalığın orta kısmındaki hücreler dolaşım yönünden fakirdir. Bu bölgedeki kılcal damarların gelişim hızı, hücre çoğalmasının hızına uyum gösteremediğinden, hücreler kondroblast ve kondrosite farklanarak kıkırdak dokuyu oluşturur. Osteoblast haline gelen kanlanmanın yeterli olduğu bölgelerdeki hücrelerse trabekülleri oluşturur. Böylece en dış tabakada kıkırdak dokunun üstünü örten periostun derin tabakasından çoğalan osteojenik hücreler, orta tabakada kıkırdak doku, daha derinde ise kemik trabekülleri bulunur. Zamanla her iki kırık parçasının ucunda oluşan yakalılık tarzındaki kitle birleşerek, kırığa bütünlük sağlayan dış kallusu oluşturur. Dış kallusun devam eden gelişimi esas olarak kemik hücrelerinin çoğalmasına ve kıkırdak dokudaki (orta tabakada) interstisiyel büyümeye bağlıdır. Aynı şekilde ilik boşluğunda da aynı olaylar birbirini takip eder. Endosteum ve iliğin osteojenik hücresinden gelişen trabeküllerle, iliğin köprülenmesi oluşur ve iç kallus meydana gelir. İlk 7- 12 günün sonrasında yumuşak kallus kitlesi, fibröz doku ve kıkırdaktan oluşmuştur ve kıkırdak sahasını çevreler (41, 43).

Onarım evresinin ilk zamanlarında, kıkırdak oluşumu (kıkırdak kallus) belirginleşir. Damar yenilenmesi, mevcut kan damarlarında tomurcuklanmayla olur ve kanla beslenme yeterli olursa, osteoblastlar kallus içinde normal kemik gelişimine elverişli matriksi sağlamış olurlar. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalara göre; damar endoteli sialik aside bağlı olarak, kıkırdak doku da proteoglikanlardan zengin olduğu için negatif yüklüdür. Yeni damarlanmayla kıkırdak doku arasındaki bu itme kuvveti nedeniyle, damarlanma engellenmektedir. Kalsiyum bu negatif yükü pozitifçe çevirerek, yeni damarların kıkırdak dokuya yönelimini sağlamaktadır. Dolayısıyla sert kallus (kemik kallus) dokusu gelişimi için damarlanma, bunun sağlanabilmesi içinse osteoidin mineralizasyonu gereklidir.

Osteoidin mineralizasyonu, sert kallusun oluşumu ve yapısal stabilite için gereklidir. Bu olay, osteoblastlar tarafından tropokollojen oluşturulmasıyla başlar. Tropokollojen, hücrenin iç tarafından dış tarafına hareket eden kollajen tellere polimerize olur. Kollajen teller kendi iç düzenlemelerine sahiptir ve tellerin arasında boşluklar (hole zones) vardır. Değişebilen kalsiyum ve fosfat eriyikleriyle, boşluk

içindeki aminoasit zincirlerinin birbirini etkilemesiyle kırık bölgesinde minerallerin görülmeye başlamasının sonucu olarak, kalsiyum hidroksiapatit kristalleri dizili tellerin içinde veya etrafında kümelenir. Kalsifikasyon kemiğin telcikleri üzerine kalsiyum fosfat biriktiği zaman başlar. Bu olayın proteoglikanlar ve Ca^{+2} bağlayan glikoprotein olan osteonektinle uyarıldığı bilinmektedir. Onarımın bu döneminde kırık uçları arasında kemik miktarı artarak fuziform bir kallus (kemik kallus) kitlesi ile kırık aralığı örtülür (Şekil 5).



Şekil 5. Tipik kırık iyileşmesinin histolojisi (36)

Kıkırdak dokuda, kondrositler hipertrofiye kondrositlere dönüştüğünde alkalen fosfataz salgılanır. Kondrositlerden kıkırdak matriks vezikülleri de atılmaya başlar. Kıkırdak matriks kalsifiye olur. Kalsifiye doku içinde kalan kondrositler difüzyonla beslendiğinden ölür ve bulundukları yerde lakünalar meydana gelir. Kondroklastik faaliyetle geri emilim artar ve lakünalar genişler. Bu süreç devam ederken, laküner boşluklara kılcal damarlar ve kemik hücreleri girmeye başlar. Zira kalsifikasyon olmaksızın damarlanma ilerleyemez. Parçalanan kalsifiye kıkırdağın yerini almak için damarlı doku ve osteoblastlar gerekli mekanik uyarılarla kemik yapımına başlarlar. En sonunda oluşan trabeküler (süngersi) kemik içindeki trabeküller arasında kalsifiye kıkırdak artıkları görülebilir. Kıkırdak dokusundan kemik gelişiminde, fibroblast kaynaklı büyüme faktörün (FGF) de rolü olduğu söylenmektedir (44).

Nekrotik kırık uçları dolaşımdan yoksundur ve ortadan kaldırılması gerekmektedir. Kırık iyileşmesinde gerekli olan bu fonksiyonun nasıl başladığı kesin bilinmemektedir, fakat kırık bölgesinde önemli miktarda tespit edilen PG'lerin yeni osteoklast oluşumuyla mevcut osteoklast aktivitesinde artışa neden olduğu düşünülür. Osteoklastlarla meydana gelen geri emilim (rezorpsiyon) boşluklarını osteoblastlar sararak canlı kemik gelişmesini sağlarlar. Neticede nekrotik bölgenin tümü canlı kemikle yer değiştirir.

Kırık kemik uçları, iç ve dış kallus gelişimiyle çok sağlam bir yapıya kavuşur. Kallus oluşumu, yetişkinlerde çocuktan ve kompakt kemikte trabeküler kemikten daha yavaş meydana gelir. Yaralanmadan sonra kallus oluşması ve mineralizasyonu 4-16 hafta arasında zaman gerektirir. Kallus oluşumuyla beraber kaynamanın olduğu söylenebilir.

Bununla beraber, kaynama henüz son noktasına ulaşmış değildir, onarım evresinin ortasında, kallusun gereksiz ve etkisiz kısımlarının geri emilimi ve trabeküler kemiğin stres çizgileri boyunca uzanması ile yeniden şekillenme evresi (remodeling) başlar.

1.1.1.6.3. Kemiğin Yeniden Şekillenme (Remodeling) Evresi (25-100 gün)

Kemiğin şekillenmesi en uzun evre olup, aylar yıllar sürebilir. Bu evre güçlü ama düzensiz sert kallusun, normal veya normale yakın güçteki daha düzenli lameller kemiğe dönüşümüdür. Onarım evresinin ortasında başlayıp, normalde insanlarda 4-16 hafta sürerken, yıllar boyunca da devam edebilir.

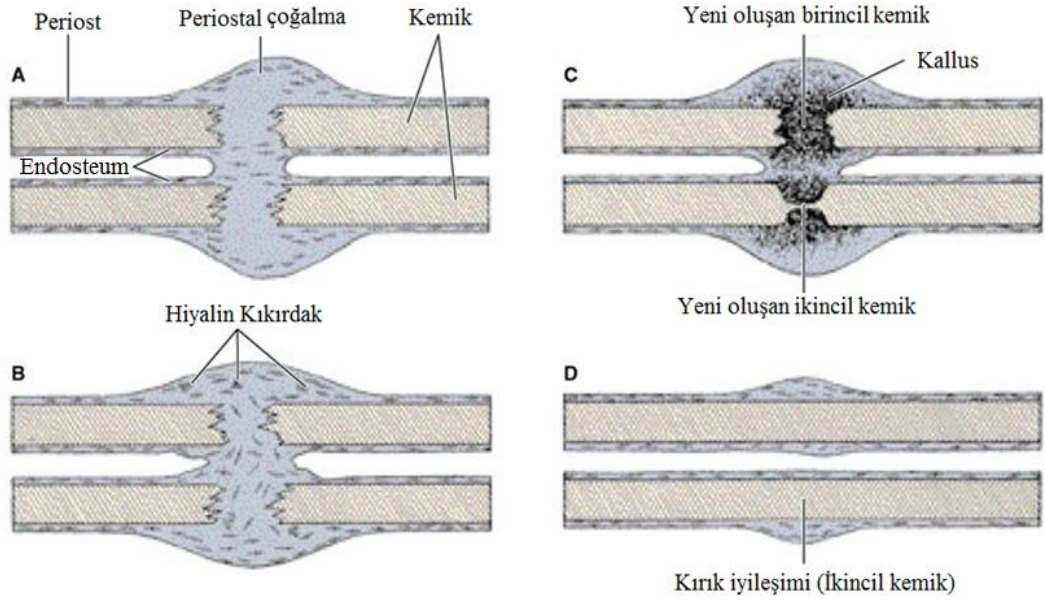
Yeniden şekillenme evresinde 4 olay gerçekleşir:

1- Kalsifiye kıkırdak, osteoid dokuyla değişerek bir çeşit birincil trabeküler doku oluşur.

2- Lameller kemik bu dokunun yerini alır.

3- Kompakt kemik uçlarındaki kallus, lameller kemikten yapılmış ikincil osteonlara değişir. Lameller kemik, kas kuvveti ve mekanik streslere paralel olarak düzenlenmiş osteonlardan oluşur.

4- İlik kanalı dereceli olarak yeniden şekillenir. Kanal içindeki kallus, osteoklastlar tarafından geri emilir ve boşluklar yeniden düzenlenir (39, 43) (Şekil 6).



Şekil 6. Kırık iyileşmesinin şematik görünümü (17)

1.1.1.6.4. Kırık İyileşmesini Etkileyen Faktörler

1. Lokal Faktörler:

1- Kırılan kemiğin beslenmesinin zayıf olması (tibia 1/3 distal cisim kırığı), kırık hematomunun dışarıya akması (açık kırık) kırık iyileşmesini geciktirir.

2- Tam olmayan kırıklar (Fissür), spongios yapıdaki kemiklerin kırıkları çabuk kaynar.

Kortikal kemik kırıkları daha güç kaynar. Kırık uçları birbirinden uzaksa, kaynama gecikmesi veya kaynamama görülür. Eklem içi kırıklar sinovyal sıvının taşıdığı fibrinolizin nedeniyle geç kaynar.

3- Yeterli şekilde ve sürede tesbit kırık kaynamasının temel prensibidir.

4- Patolojik nedenler; lokal malign hastalıklarda, metabolik hastalıklarda (Diabetes Mellitus, Rikets), osteomyelit ve radyasyon, kırık iyileşmesini negatif yönde etkiler.

5- Enfeksiyonlar kırık iyileşmesini geciktirir (39, 44, 45).

2. Sistemik Faktörler

1- Yaş: Hasta ne kadar genç ise kırık o kadar erken kaynar.

2- Mineraller ve Vitaminler: Vit-A,B,C,D ve kalsiyum, fosfor, çinko gibi mineraller kırık iyileşmesini pozitif yönde etkiler. Vit-A ve Vit-D hipervitaminozu kırık iyileşmesini geciktirir.

3- Hormonlar ve Enzimler: Anabolizan hormonlar proteine bağlı kalsiyumun artmasına neden olur. Tiroid hormonu, BH, İnsülin, Kalsitonin, anabolik steroidler, kondroitin sülfat ve hyolüronidaz kırık iyileşmesini olumlu yönde etkiler. Kortikosteroidler ise osteoblast gelişimini yavaşlattığından, kırık iyileşmesini geciktirir.

4- Elektrik akımı: Kırık sahasına elektrik akımı verilmesi (20-40 mA, DC) kırık iyileşmesini hızlandırır.

5- Kırık yerine uygulanan yerel stres ve egzersizler de kırık iyileşmesini hızlandırır. İyi tesbit yapılmış kırıklarda, erkenden yük verilmesi kemik iyileşmesi ve şekillenmesini olumlu yönde etkiler.

6- Kronik enfeksiyonlar, anemi, denervasyon, raşitizm, radyasyon, antikoagülanlar, hiperbarik oksijen (uzun süreli) kırık iyileşmesini negatif etkiler.

7- Growth faktörler (büyüme faktörleri): İnsülinlike Growth Faktör-I,II, Fibroblast Growth Faktör, Kemik Morfojenik Protein gibi faktörler kemik iyileşmesini olumlu yönde etkiler (39, 44, 45).

Uthoff kırık iyileşmesini etkileyen sistematik ve lokal faktörleri sıralamış ve bunları yaralanma anında ortaya çıkan, yaralanmadan kaynaklanan, tedaviye bağlı veya komplikasyonlarla ilişkili olmak üzere sınıflandırmıştır (46) (Tablo 1).

Tablo 1. Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler

I. Sistemik faktörler
A. Yaş
B. Aktivite seviyesi
1. Genel immobilizasyon
2. Uzay uçuşu
C. Beslenme durumu
D. Hormonal faktörler
1. Büyüme hormonu
2. Kortikosteroidler (mikrovasküler osteonekrozis)
3. Diğerleri (tiroid, estrogen, androjen, kalsitonin, paratiroid hormon (PTH), prostaglandinler)
E. Hastalıklar: diyabet, anemi, nöropatiler, tabes
F. Vitamin eksiklikleri: A, C, D, K
G. İlaçlar: nonsteroid antienflamatuar ilaçlar (NSAİİ), antikoagülanlar, faktör XIII, kalsiyum kanal blokerleri, sitotoksinler, difosfonatlar, fenitoin, sodyum florid, tetrasiklin
H. Diğer maddeler (nikotin, alkol)
I. Hiperoksi
J. Sistemik büyüme faktörleri
K. Çevresel ısı
L. Merkezi sinir sistemi travması
II. Lokal Faktörler
A. Yaralanma, tedavi veya komplikasyonlara bağlı olmayan faktörler
1. Kemik tipi
2. Anormal kemik
a. Radyasyon nekrozu
b. Enfeksiyon
c. Tümör ve diğer patolojik durumlar
3. Denervasyon
B. Yaralanmaya bağlı faktörler
1. Lokal hasarın derecesi
a. Açık kırıklar
b. Parçalı kırıklar
c. Yaralanma hızı
d. Dolaşımda düşük vitamin K1 seviyeleri
2. Vasküler desteğin kemiğe ve parçalarına kadar kaybolması: hasarın şiddeti
3. Kırık tipi ve lokalizasyonu
4. Kemik kaybı
5. Araya yumuşak doku girmesi
6. Lokal büyüme faktörleri
C. Tedaviye bağlı faktörler
1. Cerrahi travmanın derecesi (kan desteği, sıcaklık)
2. İmplanta bağlı değişen kan akımı
3. İnternal veya eksternal tespitin rijiditesi ve derecesi ve zamanlamaya etkisi
4. Kemik ve yumuşak dokulara etki eden yüklerin derece, süre ve yönleri
5. Parçalar arası temasın derecesi (aralık, kayma, aşırı distraksiyon)
6. Posttravmatik osteogenezi uyaran faktörler (kemik greftleri, kemik morfogenetik proteini (BMP), elektrik uyarımı, cerrahi teknik, aralıklı venöz staz)
D. Komplikasyonlarla birlikte olan faktörler
1. Enfeksiyon
2. Venöz staz (durgunluk)
3. Metal alerjisi

1.1.1.6.5. Kırık İyileşmesinin Kontrolü

Kırık oluşumu sırasında osteoblast ve osteoklastlar iyileşme için yeterli miktarlarda değildir. Bu dönemde kırık iyileşmesi öncü ve destek hücreleri, kılcal damar, lenf ve sinir sistemi ve yerel aracılı mekanizmalarla sağlanır. Kırık sahasında yerel olarak üretilen ya da kan dolaşımıyla gelen, bölgesel seviyelerde kemik dengesini koruyabilen kenetleyici “coupling” faktörlere ihtiyaç vardır. Bu faktörler arasında, prostoglandinler ve kemik uyarıcı faktörler sayılabilir (42-45).

1. Prostoglandinler: Hücre membranında bulunan araşidonik asitten meydana gelen yağ asitleridir. Araşidonik asitten siklooksijenaz enzimi yardımıyla herbiri doymamış bağlantıya sahip iki yan zincirle birlikte bir veya iki halka yapıdan meydana gelen değişik PG’ler oluşur. Hücre duvarının ve kollajenin yaralanmalarında sentezlenir. Kemotaktik etkiye sahiptir ve akut iltihabi reaksiyonun önemli araçlarıdır. Güçlü vazodilatatördürler.

Hücre çoğalmasını hızlandırırlar. Lenfositlerin antikor yapımını düzenlerler (immüdüzenleyici özellik). Hücre içine ve dışına Ca^{+2} hareketini kolaylaştırırlar. PGE2 ve PGI2’nin kemik geri emilim (rezorpsiyon) gücü fazladır. PGE1 ve PGE2 yeni kemik yapımını artırır. PGF2 α , kondrogenezis ve kondroliziste etkilidir. Kemik geri emiliminde yer alan ajanlardan; EGF, TGF- α , PDGF, bradikinin ve trombin etkilerini PGE2 aracılığıyla göstermektedir. PGF’nin de kemik gelişimini hızlandığı hakkında görüşler vardır.

2. Kemik Uyarıcı Faktörler: Farklanmamış mezanşimal hücrelerin mitozunu destekler ve yeni kemik hücrelerinin oluşumuna yol açarlar.

TGF β : Dönüştürücü büyüme faktörüdür. İltihap ve doku tamirinden sorumludur. Tüm hücreler moleküler formlarının birinde TGF β oluştururlar ve tüm hücreler bu faktörün reseptörüne sahiptir. En önemli kaynağı kemiğin hücre dışı matriksi ve trombositlerdir. TGF β kondrosit ile osteoblastlarda sentezlenir ve encondral kemikleşme sırasında hücre dışı matrikste birikir. Onarım zincirinde rol almak üzere trombositlerden de salınır. Makrofajlardan salınan en güçlü kemotaktik ajandır. Hücrenin integrin reseptörlerini uyarmak yoluyla hücre dışı matriks bileşenlerinden olan kollajen, fibronektin ve proteoglikanların oluşumunu artırır. Bağ dokusunda hasara yol açan proteolitik enzimleri baskılar. Sonuç olarak granülasyon dokusu oluşumuna etki eder.

BMP: Yaralanan kemik kaynaklı morfojenetik proteindir Mitojenik ve dönüştürücü bir faktördür. Mezanşimal hücrelerin kırık ve kemik hücrelerine farklılaşmasına, ektopik kemik uyarımının artmasına neden olduğu ileri sürülmüştür. BMP 1-10 olmak üzere 10 alt grubu vardır. Bunlardan BMP- 1, TGF β ailesinin alt grubuna bağlı değildir. BMP-7 osteojenik protein 1, BMP-8 ise osteojenik protein 2 olarak bilinir.

FGF: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörüdür. Kırık ve fibroblastlar için mitojeniktir. Kırık oluşumu aşamasında kallusu genişletir. Yüksek dozda kemik gerilimini artırır.

PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörüdür. Fibroblast ve kemik hücreleri için mitojeniktir. Kırık sahasında yerel olarak bulunabildiği gibi kan dolaşımında da bulunmaktadır. Bağ dokusunda kollajen sentezini artırır. Fibroblast çoğalmasını, mezanşimal hücre mitozunu, monosit ve makrofajların kırık bölgesine göçünü artırır. PDGF uygulamasıyla kallus yoğunluğu ve hacmi artmıştır.

İnterlökinler: Makrofaj ve monosit kökenlidir. IL-1 fibroblast çoğalması, kollajenaz ve PGE2 üretimiyle ilgilidir. Ayrıca osteoklastlar üzerine etkiyle kemik geri emilimini de etkiler.

Plazma Fibronektini: Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

Somatomedin C: Kondroblastların bölünme ve farklılaşmalarını, ayrıca kemik matriksi oluşumunu hızlandırır.

EGF: Epidermal büyüme faktörüdür. Kemik geri emilimini hızlandırır.

CDGF: Kondroblast kökenli büyüme faktörüdür. 2 tipi vardır ve Tip II kollajen ve hiyaluronik asit için düzenleyicidir.

MDGF: Makrofaj kaynaklı büyüme faktörüdür. Sıçanlarda osteoblast benzeri hücreler ve kondrositler için mitojeniktir.

ECGF: Epidermal hücre kaynaklı büyüme faktörüdür. Kırık ve kemik için mitojeniktir.

ECDGF: Endotelyal hücre kaynaklı büyüme faktörleridir. Yeni damar oluşumu için mitojeniktir.

1.1.2. Ghrelin

Oreksijenik hormon olarak da bilinen ghrelin 1999 yılında Japon bilim adamları tarafından keşfedilmiştir. Kojima ve ark. (7) tarafından growth hormon

salgılatıcı reseptörün (GHS-R) endojen ligandı olarak sıçanların midelerinde gösterilmiştir. Temel olarak mide fundusundan salınan 28 aminoasitlik (aa) lipopeptid yapıda bir hormondur (8, 11).

Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir. Ghrelinin mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmiştir. Ghrelin mRNA miktarının mide fundusunda en fazla olduğu, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, midenin antrumu, akciğer, pankreas dokusu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, böbrek, prostat, sağ kolon, ileum, karaciğer, dalak, fallopian tüpleri, lenfositler, testis, yağ dokusu, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriyumu, tiroid, miyokardiyum ve derinin takip ettiği belirlenmiştir (8).

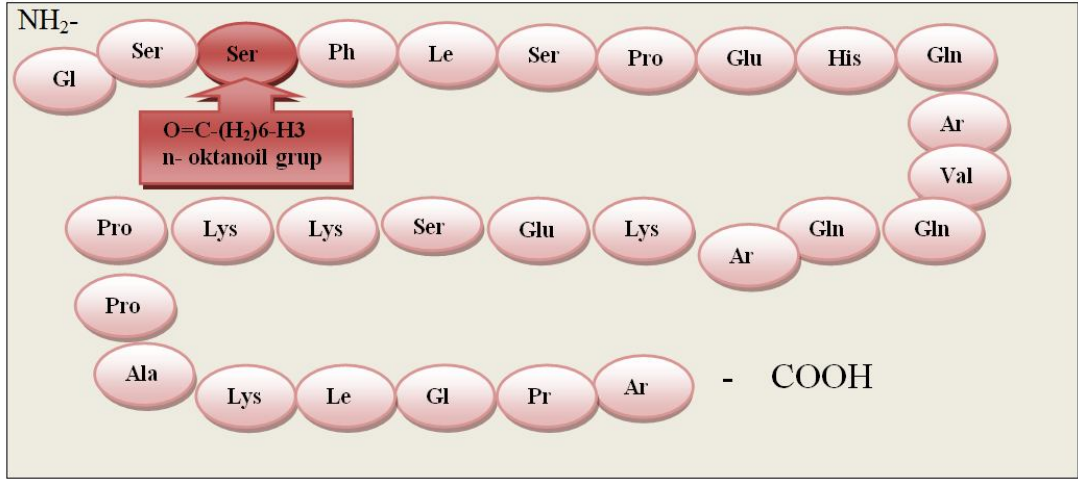
Ghrelin ismi, Hint-Avrupa dilleri ailesindeki gelişim anlamına gelen “grow” sözcüğünün kökü olan “ghre” ile salgılama anlamına gelen “relın” sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir. Daha sonra “appetite hormone” (iştah hormonu) olarak da adlandırılmıştır. Dr. Aydın'ın 2006 yılında “Ghrelin Appetite Hormone” sözcüklerinin baş harflerini alarak “GAH” şeklinde kısaltılmasının uygun olabileceği teklifi kabul edilmiştir (8, 47).

Yarılanma ömrü 15-20 dakika olan GAH, vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır. İnsan GAH'ı N-terminal ucundaki 3. aa olan Serine bağlı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Oktanil grubu GAH'ın aktif olması için gereklidir. Yani oktanil grubu içeren ghrelin aktif ghrelindir (aGAH). Bünyesinde yağ asidi içermeyen ghrelin ise desaçile ghrelindir (dGAH) ve dGAH inaktif GAH olarak da bilinmektedir (4, 8,11).

Desaçile ghrelin sirkülasyondaki toplam ghrelinin %80-90'ını oluşturmaktadır. Ghrelin, bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (48,49).

Ghrelin geninin major aktif ürünü, 3. pozisyondaki serin amino asiti bir oktanoil grup ile açillenmiş, matür ghrelin olarak adlandırılan ve 28 aminoasitten oluşan açillenmiş ghrelindir. Ghrelin salınmadan önce sitoplazmada

posttranslasyonel olarak N-terminal 3. aminoasidi olan serin kalıntısına n-oktanoil asit eklenerek aktif haline dönüştürülür (Şekil 7).



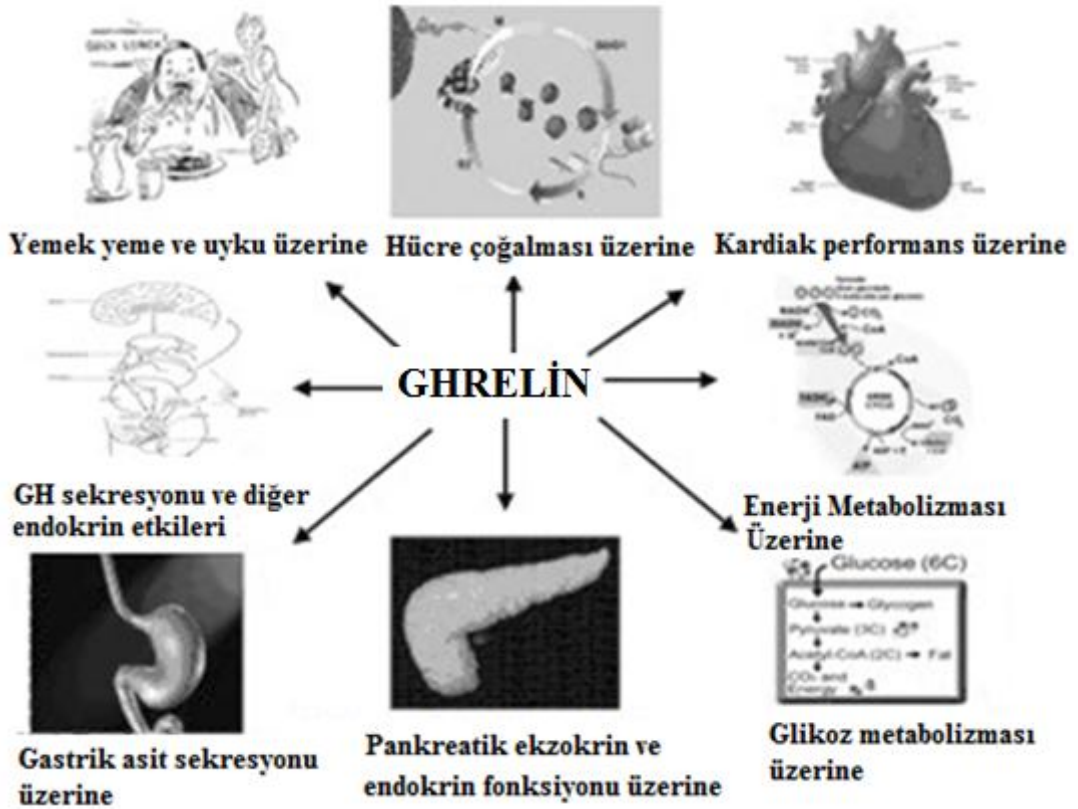
Şekil 7. Ghrelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı (Modifiye edilmiştir) (50)

Ghrelinde oluşan bu açıl modifikasyonu, aktivitesi ve GHS-R'e (Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör) bağlanması için gereklidir. Desaçile ghrelin in vivo olarak sıçanlarda ve insanlarda büyüme hormonu salgılatmada yeterli değildir. Ayrıca bu posttranslasyonel değişimin, ghrelin molekülüne hidrofobik özellik kazandırması, bu hormonun özellikle hipotalamus ve hipofize olmak üzere beyin dokusuna geçişine imkan sağlamaktadır (7, 51, 52).

1.1.2.1. Ghrelinin etkileri

Ghrelinin organizmada çok çeşitli sistemler üzerine etkili olduğu gösterilmiştir (Şekil 8).

1. Yemek yeme ve uyku üzerine etkisi
2. Hücre proliferasyonu üzerine etkisi
3. Kardiovasküler etkisi
4. Karbonhidrat metabolizması ve enerji metabolizması üzerine etkileri
5. Pankreatik ekzokrin ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi
6. Gastrointestinal sistem üzerine etkisi
7. Diğer endokrin etkiler



Şekil 8. Ghrelinin etkileri (50)

1.1.2.1.1. Yemek Yeme Üzerine Etkisi

İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yemek yemenin merkezi sinir sistemindeki ve özellikle hipotalamustaki kompleks mekanizmalar tarafından düzenlendiği kabul edilmektedir (53). Ghrelinin yemek yeme üzerine etkisi BH'dan bağımsızdır. Ghrelinin oreksijenik etkisi ob/ob leptin eksikliği olan farelerde gözlenmiştir ve ghrelin antagonisti olan D-Lys3- GHRP-6 ile inhibe edilmiştir (54).

Memelilerde ghrelin oreksijenik ve adipogenik bir moleküldür. Oreksijenik etki hızlı ve kısa ömürlüdür. Hipotalamus, enerji homeostazisi için kontrol merkezidir. Ghrelin hipotalamusta iştah üzerine etkisini 3 yolla yapar:

1. Mideden salgılanan ghrelin kan yoluyla Arkuat nükleus hücrelerine ulaşır ve kan-beyin bariyerini geçerek aktif transport yolu ile diğer beyin hücrelerine ulaşır.
2. Periferde sentezlenen ghrelin, vagal etkileşimlerle GHSR ekspresyonunu sağlar ve vagal etkileşimler nükleus traktusa erişerek hipotalamusu etkiler.

3. Ghrelin lokal olarak hipotalamusta sentezlenir ve Nöropeptid Y (NPY) ve iştah etkili protein (AGRP) ile diğer hipotalamik hücrelerle direkt etkileşimde bulunur. Ancak beyinde ghrelin miktarının çok az olduğu gösterilmiştir (7).

Ghrelin üreten nöronlar hipotalamusta ARC (Hipotalamik Arkuat Nukleus) bölgesinde bulunur. Bu bölge leptinin de etki ettiği bölgedir. NPY ve AGRP adlı oreksijenik peptidler, ARC’de aynı nöronlarla leptin reseptörü üzerinden etkisini gösterir (55).

İntraserebroventriküler ghrelin uygulamasının ARC’de NPY ve AGRP mRNA düzeylerini arttırdığını, periferal ghrelin uygulanmasının ise hipotalamik nöronları ve gıda alımını uyardığı gösterilmiştir. Genellikle, periferal olarak enjekte edilen peptidler kan-beyin bariyerini geçemezler. Periferal ghrelinin bariyeri geçme hızı son derece yavaştır. İndirekt etki yoluyla hipotalamik bölgeyi etkilediği düşünülmektedir (55).

1.1.2.1.2. Uyku Üzerine Etkisi

Uykuyu arttırdığı belirtilmişse de bu kesin değildir. İnsanlarda hafif uyku getirdiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir (56).

1.1.2.1.3. Hücre Proliferasyonu

Birçok tümör dokusunda ghrelin ve ghrelin reseptörlerinin eksprese edildiği gösterilmiştir. Ghrelinin neoplastik oluşumda otokrin/parakrin etkileri olduğu düşünülmektedir (57).

GHS Reseptörleri, meme dokusu gibi normal fizyolojik koşullarda bu reseptörleri eksprese etmeyen organların tümöral dokularında bulunmuştur. İn vitro çalışmalarla ghrelinin, hem açillenmiş hem de açillenmemiş şeklinin ve bazı sentetik analoglarının tümör hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (58).

Hipofiz düzeyinde birçok endokrin tümörün, fakat aynı zamanda gastro-entero-pankreatik karsinoidlerin, akciğer karsinoidlerinin ve tiroid tümörlerinin ghrelin içerdiği hem immünohistokimyasal hem de mRNA analizleriyle saptanmıştır (59, 60).

Meme kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada, açillenmiş ve açillenmemiş ghrelinin GHS-R1a reseptörü yoluyla değil, farklı GHS reseptör alt grubu aracılığı ile hücre proliferasyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (61).

Ghrelinin GHS-R1a reseptörü yoluyla fare osteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinin yaşam süresini ve proliferasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (62).

1.1.2.1.4. Kardiyovasküler Etkiler

Kalp ve aortada ghrelin ve reseptörünün ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (63). İntravenöz ghrelin enjeksiyonu yapılan gönüllü deneklerde ghrelinin kan basıncını azalttığı, kardiyak indeksi ve hacmi arttırdığı belirtilmiştir (64).

Ghrelinin, primer yetişkin ve H9c2 kardiyomiyositlerin ve endotelial hücrelerin in vitro olarak apoptozunu inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu etkileri hücre dışı sinyal ileti yolu olan kinaz ve serin kinazın aktivasyonu ile düzenlenir. Bununla birlikte H9c2 kardiyomiyositler ghrelin reseptörü içermez. Bu nedenle farklı ve henüz tanımlanmamış bir reseptör tipinin kullanıldığı görüşüne varılabilir (65).

1.1.2.1.5. Karbonhidrat Metabolizması Üzerine Etkileri

İnsanlarda (normal kilolu ve obezlerde) intravenöz ghrelin uygulanması akut olarak insülin salınımını inhibe eder. Ghrelinin BH salınımını arttırması sonucu insülin direnci ve glikoneogenez artar, sonuçta dolaşımdaki glukoz düzeyleri yükselir (66).

Ghrelinin sıçan adacık a hücrelerinde glukagonla birlikte yerleşik olduğu gösterilmiştir. Benzer sonuçlar hayvan çalışmalarında da bulunmuştur. Ghrelin, BH reseptör antagonisti benzer etkiler göstererek insülin direncini arttırır. Özetle, ghrelinin insülin salınımı üzerine etkisinin, BH yolu ile dolaşımdaki glukoz düzeylerini düzenleyerek, insülin direncini arttırarak ve glikoneonegenezi stimüle ederek olduğu düşünülmektedir (67).

1.1.2.1.6. Yağ Dokusuna Etkileri

Kemirgenlerde kronik ghrelin alımı vücut yağ düzeylerini arttırır. Ghrelin veya GHS'ler dolaşımdaki leptin düzeylerini ve mRNA ekspresyonunu arttırır ve resistin mRNA ekspresyonunu inhibe eder (54). İnsülin direncinde ve obezitede patogenezi bildirilen adiponektin, in vitro ghrelin uygulanmasından sonra inhibe olur. Bunlar ghrelinin adipogenezde ve enerji depolanmasında önemli rol oynadığını göstermektedir (68).

1.1.2.1.7. Gastrointestinal Etkiler

Ghrelin ilk defa mide dokusunda bulunmuştur. Daha sonra midedeki ve iştah düzenlemekteki etkisi tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda intravenöz ghrelin

uygulamasının doz bağımlı gastrik asit salgılanmasını ve gastrik hareketliliği arttırdığı gösterilmiştir (69).

Ghrelinin maksimum yanıtın, özellikle gastrik asit salgılanması yönünde deri altı histamin (3 mg/kg) enjeksiyonu sonucu olan artış kadar olduğu gösterilmiştir. Bu yanıt daha öncesinde uygulanan atropin veya bilateral servikal vagotomi sonucu engellenebilir, ancak histamin H₂-reseptör antagonisti bu yanıtı engelleyemez. Ghrelinin intraserebroventriküler uygulanması da gastrik asit salgılanımını artırır (69).

1.1.2.1.8. Pankreatik Ekzokrin ve Endokrin Fonksiyonu Üzerine Etkisi

Pankreas, ghrelin üreten bir organdır. Ghrelinin pankreasda yeni tanımlanan e adacık hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir. Pankreatik ghrelin profili fetal oluşumdan itibaren değişim gösterir. Pankreatik ghrelin eksprese eden hücreler erken postnatal dönemde fazla sayıdadır (yaklaşık tüm endokrin hücrelerin %10'u kadar) ve doğumdan sonra bu sayıda azalma görülür. Ghrelin mRNA ekspresyonu ve ghrelin konsantrasyonu (özellikle açillenmemiş ghrelin) fetal pankreasta fetal mideye nazaran birkaç kat daha yüksek düzeydedir (70).

1.1.1.2.9. Diğer Endokrin Etkiler

İntravenöz ghrelin uygulamasının, sağlıklı kişilerde BH salınımını dolayısıyla adrenokortikotropik hormon (ACTH), kortizol ve prolaktin düzeylerini hafifçe arttırdığı gösterilmiştir. Ghrelinin ve GHRH'nin birlikte verilmesi BH salgılanmasında sinerjik etki gösterir (71).

Ghrelin, GHS-R üzerine IP₃ (inositol trifosfat) yolu ile etki ederek hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunu artırır ve BH düzeyi yükselir. İntravenöz ghrelin enjeksiyonu sıçanlarda ve insanlarda BH salınımını artırır. Anestezi altındaki sıçanlara intravenöz ghrelin enjekte edildikten sonra plazma BH konsantrasyonlarında artış gözlenmiştir (bazal değer: 12.0 ± 5.4 ng/mL, ghrelin enjeksiyonu sonrası: 129.7 ± 11.3 ng/mL). BH salgılanması ghrelin enjeksiyonundan yaklaşık 5-15 dk sonra tepe noktasına ulaşır ve 1 saat sonra başlangıç değerlerine iner. Ghrelin ve GHRH, BH salınımı üzerine sinerjik etki göstererek daha fazla BH salgılanmasına neden olurlar. Bu sinerjik etki, GHRH ve sentetik ghrelin agonistlerinin birlikte verilmesi ile de gözlemlenebilir (72).

İnsan çalışmalarında leptinin interlökin-6 ve tümör nekroz faktörü arttırdığı gösterilmiştir. Ghrelin ve leptinin hipotalamusta iştah üzerine antagonist etkisi gibi zıt düzenleyici etkilerinin immün sistemde sitokin salınması üzerinde de olduğu düşünölmektedir. İnsan T hücrelerinden ghrelin salgılandığı gösterilmiştir. Buna bağlı olarak immün sistemde ghrelinin antiinflamatuvar etkisi olabileceği ifade edilmiştir (73).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınarak, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Kliniğinde yazılı onamları alınan, alt ekstremitede (femur veya tibia) kırık tanısı konulan 10 yetişkin hasta alınmıştır. Kontrol grubu tamamen sağlıklı, fizik muayenede kırık tespit edilmeyen normal kemik yapıya sahip olan 10 yetişkin gönüllü olgudan oluşturulmuştur.

Çalışmaya dahil edilen tüm olguların, başlangıçta ayrıntılı medikal, cerrahi ve travma (kırık oluşma nedeni ve kırığın stabil edilme yöntemi) öyküleri alındı. Çalışmaya dahil edilecek olgulardan, yapılan incelemelerde kapalı kırık dışında açık veya patolojik kırık olan olgular, osteogenezis imperfekta, raşitizm, malignite şüphesi, diyabet, kronik böbrek yetmezliği, ostomyelit, gastrik yada intestinal cerrahi öyküsü, hepatik veya hematolojik hastalığı olanlar, tiroid disfonksiyonu gibi herhangi bir endokrin bozukluğu olan olgular çalışma dışında tutuldu. Kontrol grubu ise kırık dahil, endokrinolojik patolojisi olmayan tamamen sağlıklı olgulardan seçildi.

Çalışmaya dahil edilen olgular iki gruba ayrıldı:

Grup I: Kırık tedavisi cerrahi olarak yapılan 18 yaşından büyük olgular (n:10)

Grup II: Normal kemik yapıya sahip 18 yaşından büyük olgular (n:10)

Femur boyun kırığı gelişmiş ve kalça protezi yapılan hastalardan çıkartılan femur başlarında ghrelinin immünohistokimyasal olarak tespitinin yapılması için kemik doku örnekleri toplanılmıştır. Ayrıca immünohistokimyasal incelemede, immünohistokimyasal yöntemimizi değerlendirmek için ghrelinin mide dokusundan sentezlendiği bilindiğinden kontrol grubu olarak, mide dokusu tercih edildi ve Fırat Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı arşivinden temin edildi.

2.1. Hormonal ve Biyokimyasal Ölçümler

Çalışma için grup I'den kırık stabilizasyonu öncesinde ve sonrasında (postop

1. gün, 10. gün ve 60. gün) toplam 4 defa, grup II'den bir defa olmak üzere her iki gruptan sabah 08.00-10.00 saatleri arasında, 5 ml venöz kan örnekleri alınmıştır. Peptidler hücrede proteazlar tarafından kolayca parçalandığından serum GAH miktarlarının doğru ölçülebilmesi amacıyla her bir ml kan için, bir proteaz inhibitörü olan aprotinin 20-30 µl eklenmiştir. Ayrıca santrifüj edildikten sonra

elde edilen örneklerle 1/10 hacim kadar 1 N HCl eklenmiştir. Böylece bu örnekler, -20 °C’de bir yıl kadar stabil kalabilmektedir.

Ghrelin düzeyleri, elde edilen örneklerden Active Human Ghrelin ELİSA kiti (SPİ Bio Bertin Pharma, Bretonneux-FRANCE) (Cat.A05119) kullanılarak ve Human Desacylated Ghrelin ELİSA kiti (SPİ Bio Bertin Pharma, Bretonneux-FRANCE) (Cat.A05106) kullanılarak üretici firmanın katoloğunda belirtildiği şekilde çalışılmıştır.

2.2. İmmünohistokimyasal Yöntem

Çalışmaya dahil edilen tüm femur başı kemik dokuları ve kontrol mide dokularında ghrelin ekspresyonunu immunohistokimyasal yöntem ile belirlemek için Fırat Üniversitesi Patoloji Anabilimdalı laboratuvarında formalin ile fikse parafine gömülü dokulardan Poly-L- Lysine ile kaplı lamlara 5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Tüm kesitler deparafinize edilmek üzere 15 dakika etüvde 56°C’de bekletildi. 20 dakika içinde 5 ksilenden geçirilmek suretiyle devam eden deparafinizasyondan sonra yine 20 dakika içinde inen alkol serilerinden (%96,%90, %80, %70) geçirilip rehidrate edildi. Distile suda 5 dakika yıkandı. Endojen peroksidaz aktivite % 3’lük Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ile 10 dakika bloke edildi. ABC (avidin-biyotin-peroksidaz) protokolüne uygun olarak hazırlandı. Doku kesitleri mikro dalga fırında Citrate Buffer (ph:6) içerisinde 800 W da 5+5 dakika ve 640 W de 5 dakika bekletildi. Mikrodalgadan sonra 20 dakika oda ısısında soğutuldu. Sonra 0,01 M Fosfat Buffered Saline (PBS) (Ph:7,4) ile yıkandı. Kesitlerin etrafı kurularak cam kalemi ile çizildi. Nonspesifik antikor bağlanmasını önlemek için 10 dakika bloke edici ajan Ultra V Blok ile inkübe edildi. Ardından kesitler rabbit anti ghrelin (human) (1/400 dilüe) (Phoenix Inc.) primer antikor 38 °C’de 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Ardından PBS ‘de yıkanarak biotinylated Goat Antiserum (Lab Vision Corporation) ile 38°C’de 10 dakika inkübe edildi. Tekrar PBS’de yıkandıktan sonra Streptavidin- Biotin-Peroksidaz kompleks her kesite 10 dakika süre ile inkübe edildi. Kesitler iki defa 5 dakika süre ile PBS ‘de yıkandı. Kromogen olarak Aminoetil Karbazol (AEC) damlatılarak 10 dakika süre renk alıncaya kadar inkübasyona bırakıldı. Tüm kesitler çeşme suyunda yıkanarak zıt boyama sağlamak için Mayer Hematoksilende 1-2 dakika bekletildi. 5 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra dokulara zarar verilmeden kenarları silindi. Kesitler Ultramount ile

kapatıldı. Işık mikroskopu altında değerlendirildi. Kesitlerdeki ghrelinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi (pozitifliği/negatifliği) semikantitatif yöntem kullanılarak yapıldı.

2.3. Radyolojik Bulgular

Kırık hattında yeni kemik oluşumunu değerlendirmek için Lane ve Sandhu'nun (74) radyolojik skorlama sistemi kullanıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Radyolojik skorlama sistemi

Skor	Radyolojik Bulgu
0	İyileşme yok
1	Kallus formasyonu
2	Osseöz kaynama başlangıcı
3	Kırık hattının kaybolmaya başlaması
4	Tam osseöz kaynama

2.4. İstatistiksel İncelemeler

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS (statistical package for social sciences for Windows 17.0) programı kullanıldı. Veriler değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (ortalama, standart sapma) yanı sıra niceliksel veriler için normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Independent Samples T testi kullanıldı. Normal dağılım ve homojenlik göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında Paired-Samples T testi, normal dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise Wilcoxon işaret testi kullanıldı. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi.

3. BULGULAR

AP ve lat. grafilerin yeni kemik oluşumu açısından Lane ve Sandhu'nun önerdiği sisteme göre yapılan değerlendirme sonuçlarına göre; postop 4. ay radyolojik incelemeler yapıldığında 10 hastanın 9 tanesinde osseöz kaynama başlangıcı, 1 tanesinde kallus formasyonu tespit edildi. Kallus formasyonu tespit edilen hastada kaynamada geçikme olduğu düşünüldü ve postop 5. ayda dinamizasyon uygulandı. Dinamizasyon uygulanan hastanın postop 10. aydaki AP ve lat. grafisinde tam osseöz kaynama olduğu görüldü. Sonuçta; hastaların hepsinde osseöz kaynama gerçekleşti (Şekil 9, 10, 11).

Tablo 3. Vakaların demografik değerleri

		Grup I	Grup II	p
Yaş		43,4±12,83	38±7,05	p>0,05
Cinsiyet	Erkek	8 (%80)	7 (%70)	p>0,05
	Kadın	2 (%20)	3 (%30)	p>0,05

Tablo 3'te vakalara ait demografik bilgiler verilmiştir. Grupların yaş ve cinsiyet değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0,05).

Tablo 4. Grup I için grup içi karşılaştırmalar

	Açile Ghrelin	Desaçile Ghrelin	p
Preop	80,51±66,39	233,28±151,81	p>0,05
Postop 1.gün	64,01±38,73	182,70±165,32	p>0,05
Postop 10.gün	84,64±48,92	119,15±104,79	p>0,05
Postop 60.gün	115,94±77,77	145,75±105,35	p>0,05

Grup I'in grup içi açile ghrelin ve desaçile ghrelin değerleri ortalamaları tablo 4'te verilmiştir. Açile ghrelin ve desaçile ghrelin değerleri açısından yapılan değerlendirmede preop, postop 1., 10. ve 60. gün açile ghrelin ve desaçile ghrelin değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır (p>0,05).

Tablo 5. Grup I preop. Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Grup I	Grup II	p
Aile	80,51±66,39	86,61±52,34	0,822
Desaçile	233,28±151,81	119,70±93,05	0,062

Grup I'in preop aile ve desaçile ghrelin değerleri ile Grup II aile ve desaçile ghrelin değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması tablo 5'te verilmiştir. Aile ve desaçile ghrelin değerleri arasında istatiksels anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 6. Grup I postop. 1. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Grup I	Grup II	p
Aile	64,01±38,73	86,61±52,34	0,288
Desaçile	182,70±165,32	119,70±93,05	0,311

Grup I'in postop 1. gün aile ve desaçile ghrelin değerleri ile Grup II aile ve desaçile ghrelin değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması tablo 6'da verilmiştir. Aile ve desaçile ghrelin değerleri arasında istatiksels anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 7. Grup I postop 10. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Grup I	Grup II	p
Aile	84,64±48,92	86,61±52,34	0,932
Desaçile	119,15±104,79	119,70±93,05	0,990

Grup I'in postop 10. gün aile ve desaçile ghrelin değerleri ile Grup II aile ve desaçile ghrelin değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması tablo 7'de verilmiştir. Aile ve desaçile ghrelin değerleri arasında istatiksels anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 8. Grup I postop 60. gün Ghrelin değerleri ile Grup II Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Grup I	Grup II	p
Açile	115,94±77,77	86,61±52,34	0,337
Desaçile	145,75±105,35	119,70±93,05	0,565

Grup I'in postop 60. gün açile ve desaçile ghrelin değerleri ile Grup II açile ve desaçile ghrelin değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması tablo 8'de verilmiştir. Açile ve desaçile ghrelin değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 9. Grup I'in grup içi total ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Total	p
Preop	313,79±190,56	$p>0,05$
Postop 1.gün	246,73±179,01	$p>0,05$
Postop 10.gün	203,79±145,63	$p>0,05$
Postop 60.gün	261,69±158,70	$p>0,05$

Grup I'in grup içi total ghrelin değerleri tablo 9'da verilmiştir. Total ghrelin değerleri açısından yapılan değerlendirmede preop, postop 1., 10. ve 60. gün total ghrelin değerleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Tablo 10. Grup I'in preop, postop 1., 10. ve 60. gün Total Ghrelin değerleri ile Grup II Total Ghrelin değerlerinin karşılaştırılması

	Grup II	Preop	Postop 1.gün	Postop 10.gün	Postop 60.gün	p
Total ghrelin	206,25±137,40	313,79±190,56	246,73±179,01	203,79±145,63	261,69±158,70	0,552

Grup I'in preop, postop 1., 10. ve 60. gün total ghrelin değerleri ile Grup II total ghrelin değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması tablo 10'da verilmiştir. Total ghrelin değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).



Şekil 9a. Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın preop AP-lat. radyolojik görüntüleri



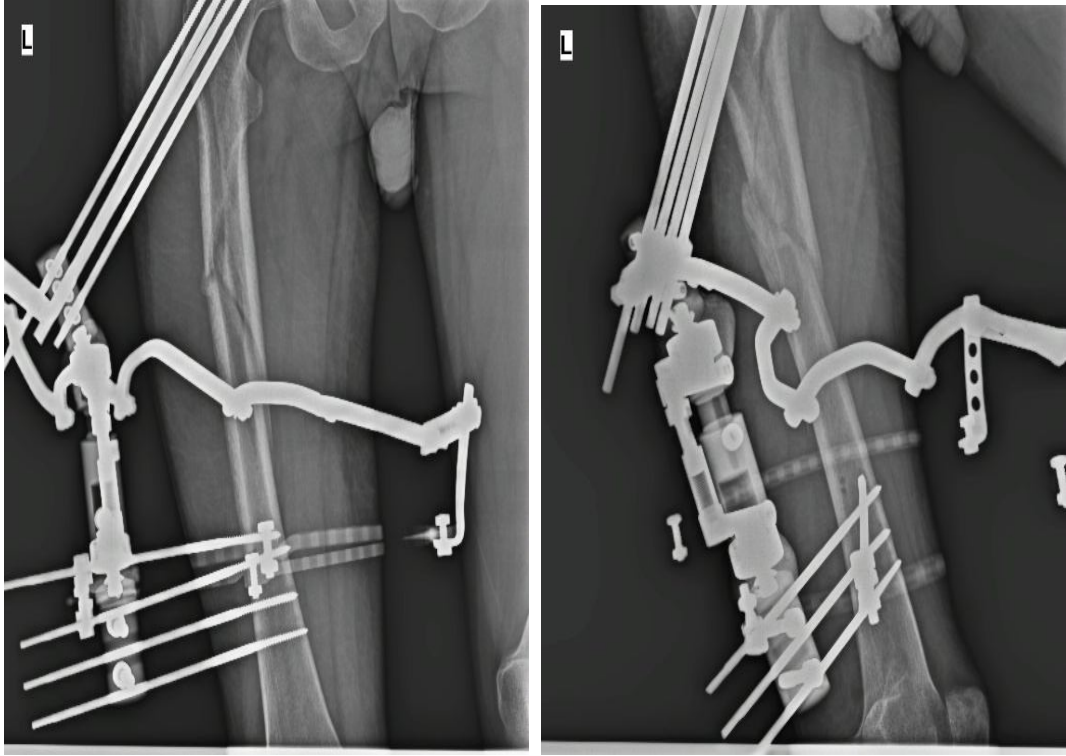
Şekil 9b. Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın postop 4. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri



Şekil 9c. Sağ tibia + fibula kırığı olan ve intramedüller tespit yapılan hastanın dinamizasyon sonrası 10. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri



Şekil 10a. Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın preop AP-lat. radyolojik görüntüleri



Şekil 10b. Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın postop 4. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri



Şekil 10c. Sol femur parçalı kırığı olan ve eksternal fiksator uygulaması yapılan hastanın postop 10. ay AP-lat. radyolojik görüntüleri



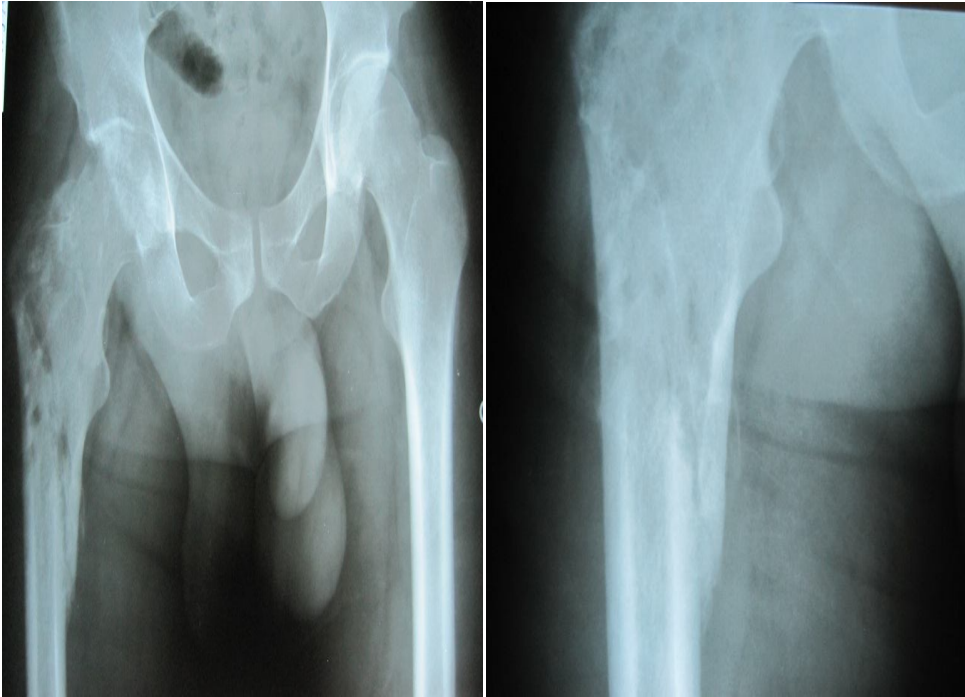
Şekil 11a. Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın pelvis AP radyolojik görüntüleri



Şekil 11b. Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın femur AP radyolojik görüntüleri



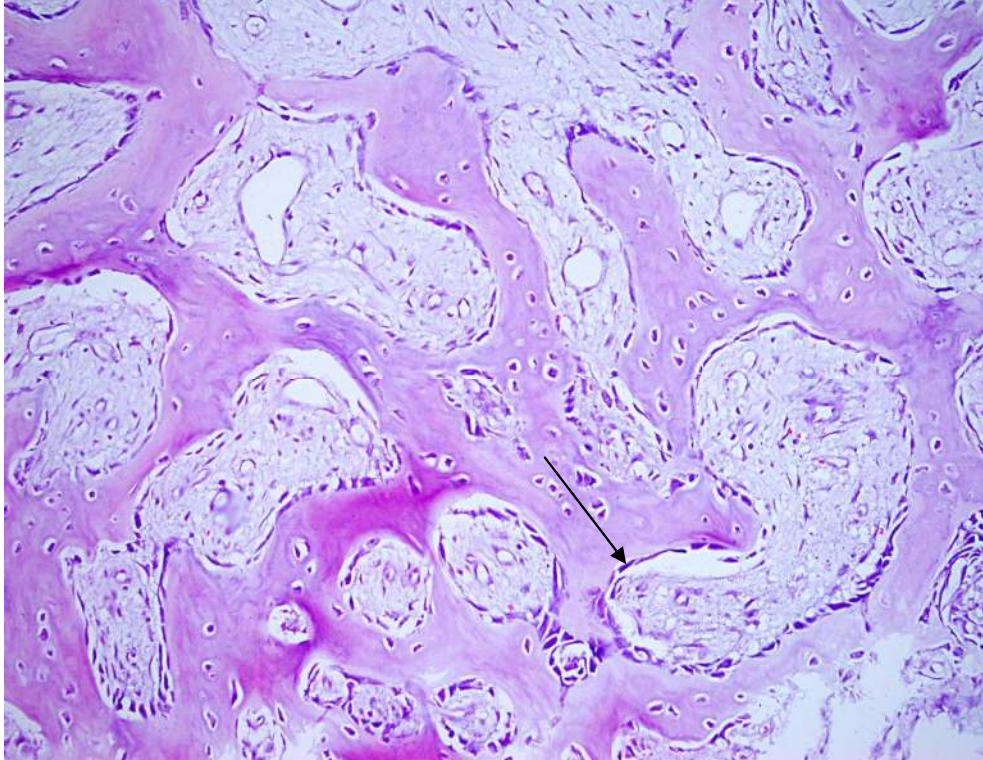
Şekil 11c. Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın postop femur AP radyolojik görüntüleri



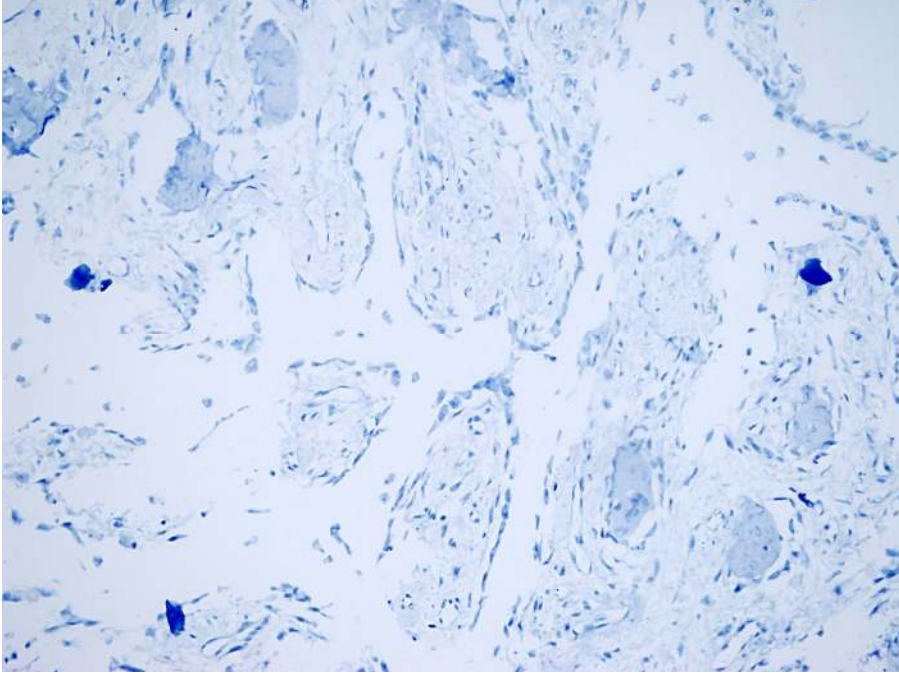
Şekil 11d. Sağ subtrokhanterik femur kırığı olan hastanın postop pelvis ve femur AP radyolojik görüntüleri

3.1. İmmunohistokimya

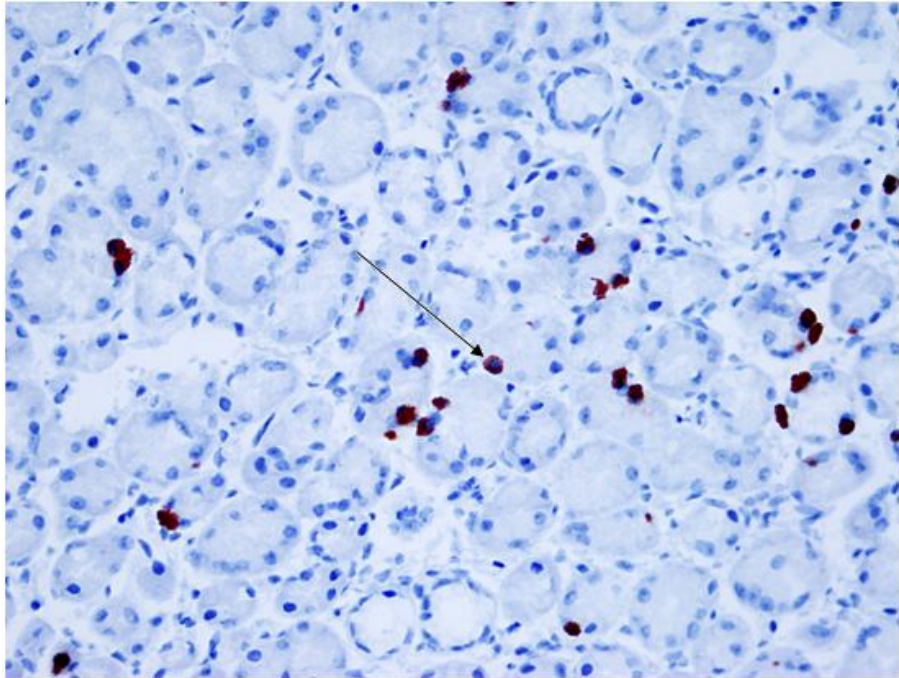
Çalışmamızda kemik dokusunda ghrelinin sentezlenip sentezlemediğine bakıldı. Pozitif kontrol grubu olarak kullanılan mide dokusunun enteroendokrin (P/D1) hücrelerinde ghrelin pozitifliğine rastlanırken, kemik dokusunda immünohistokimyasal olarak ghrelin pozitifliğine rastlanmamıştır (Şekil 12, 13, 14).



Şekil 12. Kemik trabekülleri ve onları çevreleyen osteoblastların (ok) histolojik görünümü (HE X 200)



Şekil 13. Kemik trabeküllerinde ve osteoblastlarda ghrelin negatifliği (immünperoksidaz X 200)



Şekil 14. Mide dokusunda enteroendokrin hücrelerde (ok) ghrelin pozitifliği (immünperoksidaz X 200)

4. TARTIŞMA

Her gün pek çok insan trafik ve iş kazaları sonrası kas iskelet travmasına maruz kalmakta, bunların da bir kısmında kırık meydana gelmektedir. Kırık oluşum esnasında hücreler, kemik matriksi ve periost travmanın şiddeti ile doğru orantılı olarak hasar görmektedir. Kırıkların %5-10'unda çeşitli derecelerde iyileşme sorunu ortaya çıkmaktadır (1). Çoğunlukla bu sorunun nedeni bilinmemekle beraber, yetersiz redüksiyon, instabilite, hastanın sistemik durumu, travmanın özelliği gibi etmenlerle ilişkilidir (2-6). Kırık iyileşmesinin nasıl olduğu ve hangi faktörlerin etki ettiğine dair özellikle de sitokinler ve hormonlar üzerine çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen, kırık iyileşmesinde hangi faktörlerin devreye girdiği henüz tam olarak ortaya konamamıştır.

Son yıllarda ghrelinin kırık iyileşmesinde rolünün olup olmadığının araştırılmasına yön veren temel düşünce; Aydın ve ark. dişin odontoblast tabakasında ghrelinin sentezlendiğini göstermiş olmalarıdır (10). Tüm bunlara ek olarak, ratlarda ghrelinin intramembranöz kemik onarımını sitümüle ettiği (75), insan osteoblastik TE85 hücrelerinin NO/cGMP sinyal yolağıyla sitümüle ettiği (76), osteoblastik MC3T3-E1 hücrelerinde proliferasyonu ve differasyonu sitümüle ederken apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (77). Ayrıca ratlarda ghrelinin osteoblastların proliferasyon ve farklılaşmasını uyardığı ve dişi sıçanlarda 12 hafta boyunca GHRP-6 veya peptid analogu olan ipamorelin verilmesi sonrası in vivo kemik mineralizasyonunu arttırdığı kemik dansitometri ölçümlerinde gösterilmiştir (77,78). Ghrelinin immün cevaptaki fonksiyonel yeri tam olarak aydınlatılamamış olmasına rağmen yapılan bazı çalışmalarda IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi anorektik proinflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği gösterilmiştir (79). Ghrelin, kırık iyileşmesi üzerine etkinliği gösterilmiş olan büyüme hormonu salınımını hem in vitro hem de in vivo şartlarda doz bağımlı olarak arttırmaktadır (1, 80-83). Dolayısıyla, bu çalışmada çok fonksiyonlu ghrelinin kırık iyileşme sürecinde rolünün olup olmadığı araştırılmıştır.

Çalışmamızda ilk önce kemik dokusunun ghrelin sentezleyip sentezlemediğine bakıldı. Kontrol olarak kullanılan mide dokusunda yer alan endokrin fonksiyonlara sahip P/D1 hücrelerinde ghrelin pozitifliğine rastlanırken, kemik dokusunda immünohistokimyasal olarak ghrelin pozitifliğine

rastlanamamıştır. Kemik ve diş dokusu histolojik olarak birbirine benzemektedir. Aydın ve ark. (10)'ının dişin odontoblast tabakasında ghrelini immünohistokimyasal olarak göstermeleri, teorik olarak kemik dokusunda osteoblast tabakasında ghrelinin sentezlenmesini düşündürmekteydi. Kemik dokusunun hiçbir tabakasında büyüme hormonunun salınımından sorumlu olan ghrelinin bulunamaması, kemik ve diş dokusunun ghrelin metabolizması yönünden farklı olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada immünohistokimyasal olarak 8 karbonlu yağ asidi taşıyan ve BH salınımından sorumlu ghrelin araştırıldı. Oysa son yıllarda yapılan araştırmalarda ghrelinin 4 ana formunun bulunduğu (8 karbonlu yağ asidi taşıyan ghrelin, 10 karbonlu yağ asidi taşıyan ghrelin, 10 karbonlu doymamış yağ asidi taşıyan ghrelin ve desaçile ghrelin) rapor edilmiştir (84). Yapılan birçok çalışmada, 8 karbonlu yağ asidi taşıyan ghrelinin birçok fonksiyondan sorumlu olduğu belirtilmiş olsa bile, desaçile ghrelinin de açile ghrelin kadar önem taşıdığına dair birçok çalışma mevcuttur.

Dokularda ve sirkülasyonda %80 desaçile ghrelin ve %20 civarında açile ghrelin olduğu düşünüldüğünde, muhtemelen kemik dokuda ghreline rastlayamamızın sebebi açile ghrelinin yüzde olarak doku dağılımının az olması olabilir. Bu yüzden, bundan sonraki çalışmalarda gerek diğer ghrelin formlarının gerekse de desaçile ghrelinin kemik dokusunda araştırılmasının ve konunun net olarak aydınlığa kavuşturulmasının önem arz ettiğini düşünmekteyiz. Geniş literatür taraması yapılmasına rağmen insan kemik dokusunda ghrelinin araştırıldığına dair henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden de çalışmamızın sonuçlarını kıyaslayamamaktayız.

Muhtemelen ghrelinin kemik gelişiminde, differasyonunda ve proliferasyonundaki rolü dolaşımdaki ghrelin miktarlarından kaynaklanmış olabilir. Bu yüzden de bu çalışmada kırık oluştuktan, kırığın cerrahi olarak opere edilmesinden 24 saat sonra, postop 10. ve postop 60. güne denk gelen dönemlerde ve hiç kırığı olmayan kontrol grubunda da birkez olmak üzere kan alınarak bu kez kırık iyileşme sürecinde açile ve desaçile ghrelin miktarlarının nasıl değiştiğini araştırdık.

Bu çalışmada ghrelin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülme de, kontrol grubu ile preop değerler kıyaslandığında açile ghrelinin düştüğü gözlenmektedir. Gözlenen bu düşüş postop 1. gün devam etmekte fakat

preop dönemle postop 10. ve 60. gün kıyaslandığında açile ghrelinin arttığı gözlenmektedir. Preop dönemindeki küçük değişimin (azalmanın) kırığa bağlı olarak yangı, stres gibi durumlardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü ghrelin antienflamatuvar etki göstermekte ve ayrıca vücudun doğal antioksidanı olduğundan kırığa bağlı serbest radikallerin ortadan kaldırılması maksatıyla kullanıldığı ve bu yüzden azaldığını düşünmekteyiz. Bu düşüncemizi destekleyen en önemli bulgu, postop 1. gün döneminde açile ghrelin seviyesinin bazal seviyenin çok altına düşmesi yani cerrahinin getirdiği ağır yük, stres ve anestezi nedeniyle daha fazla düşmüş olması ihtimali bu düşüncemizi desteklemektedir. Daha sonra cerrahiden kaynaklanan stresin ortadan kalkması nedeniyle yani postop 10. ve 60. gün açile ghrelin seviyeleri artmaktadır. Hatta kontrol grubu ve preop döneme göre açile ghrelin seviyesinde yaklaşık %20-30 artış olduğu görülmektedir. Bazal seviyeden ve kontrolden daha fazla açile ghrelin seviyesinin artmış olmasının muhtemel sebebi, yara iyileşmesinde katkısı olan ve antimikrobiyal özelliği olan ghrelinin vücut tarafından kompanse edilebilir bir mekanizmayla artırılarak savunma sistemini kuvvetlendirdiğini düşünmekteyiz. Açile ghrelin için rapor ettiğimiz değerler açile ghrelinin kabul gören normal fizyolojik sınırları olan 33-66 pg/ml nin biraz üzerindedir (80-86 pg/ml) (9, 85, 86). Bu durumun, farklı firma kitlerine bağlı olarak ölçümlerdeki standart sapmadan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Hatta Lincon ve Phoneix firmasının kitleri birbirinden 10 kat farklı ölçüm değerleri vermektedir (87).

Kırık oluştuktan sonra, postop 1., 10. ve 60. günlerde ve kontrol grubundan alınan kan değerlerinin desaçile ghrelin miktarlarını karşılaştırdığımızda, preop dönemde kontrol grubuna göre yüzde yüze yakın bir artış gözlenir iken bu artışın postop 10. gün hariç devam ettiği görülmektedir. Fakat değerler preop döneme göre kıyaslandığında desaçile ghrelin miktarı sürekli düşüş göstermektedir. Açile ghrelin için kontrol grubuna göre geçerli olan mekanizmanın burada da meydana geldiğini düşünmekteyiz. Fakat açile ve desaçile ghrelin miktarları dönemler açısından kıyaslandığında, açile ghrelin kırık iyileşme sürecinde zamana bağlı olarak artış gösterirken desaçile ghrelin ise aynı dönem periyodlarında zaman bağlı bir düşüş göstermektedir. Zamana bağlı açile ghrelindeki bu değişimin kemik yapısının ana bileşeni olan kalsiyumun birikiminde veya değişiminde rol aldığını düşünmekteyiz. Çünkü açile ghrelinin etki mekanizması yolaklarından birtanesi inositol trifosfat

(IP3) üzerinden kalsiyum salınımını artırması ve serbestleşen bu kalsiyumun kırık iyileşmesine katkı yaptığını düşünmekteyiz. Ayrıca zamana bağlı olarak artan açile ghrelin BH salınımından sorumlu olduğu için kırık iyileşmesinde fonksiyonu olan BH'nu da salgılatıp indirekt yoldan kemik iyileşmesine katkı yaptığını da düşünmekteyiz. Öte taraftan, kemik iyileşim sürecinde desaçile ghrelin seviyelerinde preop döneme göre meydana gelen düşüşte neden olarak şu mekanizmaları akla getirmektedir. Antienflamatuar ve antioksidan olarak kullanılmış olabilir, fakat kontrole göre kıyaslandığında artmış olmasının sebebi kırık oluşumu esnasındaki stres ve cerrahi sonrası stres nedeniyle seviyesi düşen açile ghreline, vücudun kompensatuar olarak desaçile ghrelin salınımını arttırmış olabileceğidir. Çalışmamızı kısıtlı kılan birtakım nedenler bulunmaktadır. Bunların başlıcaları; denek sayımızın az olması ve çeşitli yaş gruplarına göre kıyaslama yapmamış olmamızdır.

Sonuç olarak; değişen açile ve desaçile ghrelin düzeylerinin, hücre proliferasyonunu artırarak, apoptozisi önleyerek, antienflamatuar, antimikrobiyal etki göstererek ve BH salınımını artırarak kırık iyileşme sürecine katkı yaptığını düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

- 1- Einhorn TA. Current concepts review: Enhancement of fracture healing. J Bone Joint Surg Am 1995; 77: 940-956.
- 2- Claes L, Augat P, Suger G, Wilke HJ. Influence of size and stability of the osteotomy gap on success of fracture healing. J Orthop Res 1997; 15: 577-584.
- 3- Einhorn TA, Bonnarens F, Burnstein AH. The contributions of dietary protein and mineral to the healing of experimental fractures: A biomechanical study. J Bone Joint Surg Am 1986; 68: 1389-1395.
- 4- Macey LR, Kana SM, Jingushi S, Terek RM, Borretos J, Bolander ME. Defects of early fracture healing in experimental diabetes. J Bone Joint Surg Am 1989; 71: 722-733.
- 5- Nicoll EA. Fractures of the tibial shaft: A survey of 705 cases. J Bone Joint Surg Br 1964; 46: 373-387.
- 6- Uthoff HK, Rahn BA. Healing patterns of metaphyseal fractures. Clin Orthop Relat Res 1981; 160: 295-303.
- 7- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 1999; 402: 565-659.
- 8- Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. Ghrelin and its biochemical functions. Türkiye Klinikleri. J Med Sci 2006; 26: 272-283.
- 9- Aydin S, Aydin S, Ozkan Y, Kumru S. Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. Peptides 2006; 27: 878-882.
- 10- Aydin S, Ozercan İH, Dagli F, Aydin S, Kumru S, Kiliç N, et al Ghrelin is present in human teeth. J Biochem Mol Biol 2007; 40: 368-372.
- 11- Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. Physiol Rev 2005; 85: 495-522.

- 12- Ahnfelt-Ronne I, Nowak J, Olsen UB. Do growth hormone-releasing peptides act as Ghrelin secretagogues? *Endocrine* 2001; 14: 133-135.
- 13- Fukushima N, Hanada R, Teranishi H, Fukue Y, Tachibana T, Ishikawa H, et al. Ghrelin directly regulates bone formation. *Bone Miner Res* 2005; 20: 790-798.
- 14- Abraham L, Kierszenbaum MD. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R. (Çeviren), Ankara: Palme Yayınları, 2006: 118-129.
- 15- Sibel SK, Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 143-145.
- 16- Miller MD. Miller'in Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M (Çev). Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 1-5.
- 17- Luiz CJ, Jose C. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çev). İstanbul: Nobel Kitapevi, 2006:134-150.
- 18- Kutsal YG. Osteoporoz. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005: 37-38.
- 19- Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology-I. Pritchard DJ (ed). *Instructional Course Lectures* 1996; 45: 371-386.
- 20- Schenk RK. Biology of fracture repair. Browner BD, Jupiter JB, Levine AM, Trafton PG (ed). *Skeletal Trauma Vol 1*. Third edition. Saunders Co, 2003: 29-73.
- 21- Gil FTH, Gracia MAA, Pingarron MC, Jerez LB. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: 47-51.
- 22- Bölükbaşı N. Alveol kemiği implant ilişkisi. İ.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Oral İmplantoloji Anabilim Dalı. Seminer çalışması, 2004.
- 23- Corradi C, Cozzolino A. The action of ultrasound on the evolution of an experimental fracture in rabbits. *Minerva Ortop* 1952; 55: 44-45.

- 24- Junguiera LC, Carneiro J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y (Çev). 8. Baskı. İstanbul: Barış Kitabevi, 1998: 132-151.
- 25- Frost HM. In vivo osteocyte death. J Bone Joint Surg 1980; 42: 138-139.
- 26- Noble BS, Stevens H, Mosley JR, Pitsillides AA. Bone loading changes the number and distribution of apoptotic osteocytes in cortical bone. J Bone Miner Res 1997; 12: 111-112.
- 27- Noble B, Stevens H, Loveridge N, and Reeve J, Identification of apoptotic changes in osteocytes in normal and pathological human bone. Bone 1997; 20: 273-274.
- 28- Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. J Clin Invest 1998; 102: 274-275.
- 29- Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM, Manolagas S. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. J. Clin. Invest 1999; 10: 439-440.
- 30- Brinker MR, Miller D. Basic science. Miller D. (ed). Review of Orthopaedics. Philadelphia: WB Saunders 1996; 2; 1-30.
- 31- Burchard H. Biology of cortical bone graft incorporation. Burchard H (ed): Osteochondral Allograft. Philadelphia: WB Saunders, 1983; 2; 51-57.
- 32- Buckwalter JA. Musculoskeletal tissues and the musculoskeletal system. Weinstein SL, Buckwalter JA (eds). Turek's Orthopaedic Principles and Application. Philadelphia: JB. Lippincott company, 1994; 5; 13-35.
- 33- Bruder SP, Fink DJ, Caplan AI. Mesenchymal stem cells in bone development, bone repair, and skeletal regeneration therapy. J Cell Biochem 1994; 56: 283.
- 34- Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology. Part 1. Structure, blood supply, cells, matrix and mineralization. J Bone Joint Surg Am 1995; 77: 1256-1257.

- 35- Caplan AI. Mesenchymal stem cells. J Ortop Res 1991; 9: 641-642.
- 36- Miller MD. Miller'in Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M (Çev.) Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 5-8.
- 37- Miller MD. Miller'in Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M (Çev.) Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 10-11.
- 38- Abraham L, Kierszenbaum MD. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R (Çev.) Ankara: Palme Yayınları. 2006: 131-135.
- 39- Brond AR, Rubin TC. Fracture Healing: Surgery of the musculoskeletal system. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone 1990: 1: 93-114
- 40- Cruess RL. Healing of bone, tendon and ligament. Lippincott Co 1984; 1: 147-167.
- 41- Sibel SK, Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 2002; 55: 145-150.
- 42- Ozaki A. Role of fracture hematoma and periyosteum during fracture healing in rats: Interaction of fracture hematoma and the periyosteum in the initial step of the healing process. J. Orthop. Sci 2000; 5: 64-70.
- 43- Miller MD. Miller'in Ortopedi Kitabı. Yetkin H, Yazıcı M (Çev.) Ankara: Akademi Doktorlar Yayınevi, 2006: 1-22.
- 44- Khan SN. Bone growth factors: Orthop. Clin. North Am 2000; 31: 375-388.
- 45- Yılmaz C. Erdemli E, Selek H, Kırık H, Arıkan M. The Contribution of Vitamin C to Healing of Experimental Fractures. Arch Trauma Surg 2001; 121: 426-428.
- 46- Uthoff HK. Fracture healing. Gustilo RB, Kyle RF Templeman DC (eds). St Louis, Mosby, 1993: 88-98.
- 47- Aydın S. Proposal for the abbreviation of Ghrelin the appetite hormone. Horm Res 2006; 66: 206-207.

- 48- Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2004; 25: 27-68.
- 49- Kaiya H, Darras VM, Kangawa K. Ghrelin in birds: Its structure, distribution and function. *The Journal of Poultry Sci* 2007; 44: 18-19.
- 50- İyidogan Y. Ghrelinin yapısı ve organizmadaki fonksiyonları. *İst Tıp Fak Derg* 2007; 70: 82-92.
- 51- Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin: The link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Reviews in Endocrine Disorders* 2002; 3: 325-338.
- 52- Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Gauna C, Filtri L, et al. Non-acylated ghrelin does not possess the pituitary and pancreatic endocrine activity of acylated ghrelin in humans. *J Endocrinol Invest* 2003; 26: 192-196.
- 53- Druce M, Bloom SR. Central regulators of food intake. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 361-367.
- 54- Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M, Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut* 2003; 52: 947-952.
- 55- Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 56-62.
- 56- Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in man. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 284: 407-415.
- 57- Muccioli G, Pons N, Ghe C, Catapano F, Granata R, Ghigo E. Ghrelin and des-acyl ghrelin both inhibit isoproterenol-induced lipolysis in rat adipocytes via a non-type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Eur J Pharmacol* 2004; 498: 27-35.

- 58-Cassoni P, Papotti M, Ghe C, Catapano F, Sapino A, Graziani A, et al. Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1738-1745.
- 59-Korbonits M, Bustin SA, Kojima M, Jordan S, Adams EF, Lowe DG, et al. The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 881-887.
- 60-Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, et al. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1300-1308.
- 61-Cassoni P, Ghe C, Marrocco T, Tarabra E, Allia E, Catapano F, et al. Expression of ghrelin and biological activity of specific receptors for ghrelin and des-acyl ghrelin in human prostate neoplasms and related cell lines. *Eur J Endocrinol* 2004; 150:173-184.
- 62-Kim SW, Her SJ, Park SJ. Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005; 37: 359-365.
- 63-Pagotto U, Gambineri A, Vicennati V, Heiman ML, Tschop M, Pasquali R. Plasma ghrelin, obesity, and the polycystic ovary syndrome: correlation with insulin resistance and androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5625-5629.
- 64-Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, et al. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034-2038.

- 65- Pettersson I, Muccioli G, Granata R, Deghenghi R, Ghigo E, Ohlsson C, Isgaard J. Natural (ghrelin) and synthetic (hexarelin) GH secretagogues stimulate H9c2 cardiomyocyte cell proliferation. *J Endocrinol* 2002; 175: 201-209.
- 66- Muller AF, Janssen JA, Hofland LJ, Lamberts SW, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Der Lely A. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 590-593.
- 67- Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083–5086.
- 68- Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913.
- 69- Dornonville de la Cour C, Lindstrom E, Norlen P, Hakanson R. Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 2004; 120: 23-32.
- 70- Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, et al. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1300-1308.
- 71- Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908-4911.
- 72- Hataya Y, Akamizu T, Takaya K, Kanamoto N, Ariyasu H, Saijo M, et al. A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 552-555.

- 73- Dixit VD, Schaffer H, Pyle R, Collins RT, Sakthivel SK, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.
- 74- Lane JM, Sandhu HS. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Ame* 1987; 18: 213-225.
- 75- Deng F, Ling J, Ma J, Liu C, Zhang W. Stimulation of intramembranous bone repair in rats by ghrelin. *Exp Physiol* 2008; 93: 872-879.
- 76- Wang DH, Hu YS, Du JJ, Hu YY, Zhong WD, Qin WJ. Ghrelin stimulates proliferation of human osteoblastic TE85 cells via NO/cGMP signaling pathway. *Endocrine* 2005; 35: 112-117.
- 77- Kim SW, Her SJ, Park SJ. Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005; 37: 359-360.
- 78- Arnold M, Mura A, Langhans W, Geary N. Gut vagal afferents are not necessary for the eating-stimulatory effect of intraperitoneally injected ghrelin in the rat. *J Neurosci*. 2006; 26: 11052-11060.
- 79- Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, et al. Endocrine activities of ghrelin, anatural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparisonand interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1169-1174.
- 80- Yoshihara F, Kojima M, Hosoda H, Nakazato M, Kangawa K. Ghrelin: a novel peptide for growth hormone release and feeding regulation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 391–395.
- 81- Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 477-480.

- 82-Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, et al. Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 493-495.
- 83-Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 11-14.
- 84-Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by posttranslational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
- 85-Nakahara K, Nakagawa M, Baba Y, Sato M, Toshinai K, Date Y, et al. Maternal ghrelin plays an important role in rat fetal development during pregnancy. *Endocrinology* 2006; 147: 1333-1342.
- 86-Popovic V, Svetel M, Djurovic M, Petrovic S, Doknic M, Pekic S, et al. Circulating and cerebrospinal fluid ghrelin and leptin: potential role in altered body weight in Huntington's disease. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 451-455.
- 87-Groschl M, Uhr M, Kraus T. Evaluation of the comparability of commercial ghrelin assays. *Clin Chem* 2004; 50: 457-458.

6. ÖZGEÇMİŞ

20 Mart 1980 tarihinde, Adana’da dünyaya geldi. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Adana’da tamamladı. 1998 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde tıp eğitimine başladı. 2005 yılında mezun oldu. 2006 yılında Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı’nda ihtisas eğitimine başladı.