



## Osteogeneizde Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fbf) ve Kemik Morfogenetik Proteinlerin (Kmp) Rolü

Ayşe Yıldırım\*, Selçuk Tunik\*\*, Çiğdem Çetin\*\*\*, Murat Akkuş\*\*

\* Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.D.Hatay

\*\*Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji - Embriyoloji A.D.Diyarbakir

\*\*\*Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız-Diş- Çene Hastalıkları Ve Cerrahisi A.D. Diyarbakir

Kemik dokunun oluşması olarak bilinen osteogenez, hem embriyonal dönemde normal iskelet yapısının oluşmasında hem de yetişkin dönemde kemik kırıklarının iyileşmesinde meydana gelmektedir. Osteogenez mekanizmasında pek çok faktör görev alırken bu derlemede, günümüzde, etkileri her geçen gün yeni çalışmalar ile ortaya konulan fibroblast büyüme faktörlerinin ve kemik morfogenetik proteinlerin etkisi gözden geçirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:**Osteogenez, Fgf, Bmp

### The Role of Fibroblast Growth Factors and Bone Morphogenetic Proteins Osteogenesis

Osteogenesis, which is known as the formation of bone tissue, occurs both in normal skeletal patterning during embrional period and in the recovery of bone fractures during adulthood. Although there are many factors involved in the mechanism of osteogenesis, in this study,we revised the effect of fibroblast growth factors and bone morphogenetic proteins, whose effects are further established through new studies each passing day.

**Key Words:**Osteogenesis, FGF, BMP

Kemik gelişimi kemiğe öncülük edecek olan dokunun kırıldak olup olmamasına göre intramembranöz ve endokondral kemikleşme olarak iki şekilde sınıflandırılır. İntramembranöz kemikleşme, kırıldak hücrelerinin herhangi bir etkisi olmadan mezenşimal kök hücrelerden farklı osteoblastların fonksiyonel olarak kemik dokuyu oluşturmaları ile gerçekleşmektedir.

Kafatasının yassı kemikleri ile mandibula ve klavikula kemikleri intramembranöz kemikleşme ile meydana gelir. Endokondral kemikleşme ise daha karmaşık işlevler sonucu oluşur. Endokondral kemikleşmede fetal dönem boyunca ve postnatal yaşamda, önce kırıldak bir kemik modeli şekillenir. Daha sonra bu kırıldak model kemik dokuyla yer değiştirir. Mezenşimal kök hücrelerin kemiğin oluşacağı bölgeye gelip burada bir yoğunluk oluşturmaları ile kırıldak model şekillenmeye başlar. Oluşan bu mezenşimal yoğunlaşma sonrasında, mezenşimal hücrelerden, kondrositler farklıdır. Kondrositler kırıldak dokunun ekstrasellüler matriksini oluşturan yapıların sentezinden sorumludur. Kırıldak modelin önemi sadece oluşacak olan kemiğe öncülük etmek değildir.

Aynı zamanda ilerleyen dönemlerde uzun kemiklerin büyümesi için gerekli zeminin hazırlanması da kırıldak

dokunun fonksiyonu arasındadır. Uzun kemiklerin büyümesi, kondrositlerden oluşan büyüme plağının devamlılığına bağlıdır.

Organizmanın iskelet sistemini oluşturan çoğu kemik, endokondral kemikleşme ile meydana gelir. <sup>1</sup> Kemik kırıklarının özellikle geniş defektli kırıkların iyileşmesinde kullanılan tedavi yöntemlerinin çoğunda tam olarak istenen başarı sağlanamamaktadır. Bunun nedenlerinden bir tanesi uygulanan allogreftlerin immünolojik reddi dir. Bu amaçla son yıllarda osteogenez mekanizmasında moleküler düzeyde yapılan çalışmaların yeni tedavi yöntemleri için bir umut sağlayacağı düşünülmektedir. Gelişen diğer dokular gibi kemik doku da, kemiğe spesifik ve nonspesifik büyüme faktörlerinden etkilenmektedir. Bu nedenle, oldukça karmaşık bir işlev olan osteogenez sürecinde pekçok büyüme faktörleri ve sitokinlerin moleküler düzeyde etkileri tespit edilmiştir. Bu büyüme faktörleri arasında fibroblast büyüme faktörleri ve kemik morfogenetik protein gibi faktörlerin, osteogenez mekanizmasında oldukça önemli roller üstlendikleri ortaya konulmuştur. Bu büyüme faktörleri ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle bu yazıda, yapılan son çalışmalar ışığında, osteogenez mekanizmasında yer alan fibroblast büyüme faktörlerinin ve kemik morfogenetik proteinlerin gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

**Başvuru Tarihi: 02.04.2009, Kabul Tarihi: 04.06. 2009**

## 2. Kemik Gelişimi (Osteogenez)

İskeleti oluşturan iki önemli yapı kıkırdak ve kemik dokudur. Bu her iki dokunun ekstraselüler matriksi içerisinde spesifik hücre türleri yer almaktadır. Kemik doku içerisinde osteoblast olarak isimlendirilen kemik yapan hücreler ile osteoklast olarak isimlendirilen kemik yıkıcı hücreler yer alır. Kıkırdak doku içerisinde ise kondrosit adı verilen özelleşmiş kıkırdak hücreleri bulunur. Osteoblastlar mezenşimal kök hücrelerden farklılaşırlar ve kemik dokunun yüzeyinde yerleşim gösterirler. Bu hücreler ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezinden sorumludurlar. Kemik doku mineralize olduğunda yani kemik gelişimi başladığında osteoblast hücreleri doku içerisinde kalarak osteosit adını alırlar. Osteoklastlar hematopoetik kök hücrelerden köken alırlar. Aynı zamanda, ekstraselüler matriksin yıkımından sorumludurlar. Kondrositler de mezenşimal kök hücrelerden köken alırlar.<sup>2</sup>

Kemikleşme hücrelerin göçü, çoğalması, farklanması, sentez ve salgılama yapmaları ekstraselüler mineralizasyon ve rezorbsiyon gibi birbirini izleyen, eş zamanlı, karmaşık bir dizi işlem sonucu gerçekleşir. İskelet gelişimi erken embriyonik ve fetal dönemde başlar, büyüme doğumdan sonra adolesan döneme kadar devam eder. Kemikleşme ya intramembranöz ya da endokondral kemikleşme olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir. İnamembranöz kemikleşme, mezenşimal dokunun kan akımından zengin bölgelerinde mezenşimal hücrelerin kemik yapıcı hücreler olan osteoblastlara doğrudan farklılaşmaları ile gerçekleşir. Endokondral kemikleşmede ise daha kompleks olaylar birbirini takip eder. Önce mezenşimal hücreler kıkırdak hücresi olan kondrosit hücrelerine dönüşür. Oluşan kıkırdak model değişime uğrayarak mineralizasyonu, damar invazyonunu ve kemik doku ile yer değişimini kolaylaştırır. Her iki tip kemikleşme işleminde de kemik matriks birikimi ve mineralizasyonu aynı yoldan gerçekleşir. Önce süngerimsi (gözenekli trabeküler) kemik oluşur. Oluşan bu kemiğin çoğunluğu daha sonra yoğun kompakt kemiğe dönüşür. Kemik bir kez oluşuktan sonra yaşam boyu dinamik durumunu korur. Bu sayede büyümeyi sağlar ve homeostaz için gerektiğinde mineral iyonlarını vermeyi sürdürür.<sup>1-3</sup> İskelet sistemini oluşturan kemiklerin çoğunluğunun geliştiği endokondral kemikleşmede mezenşimal yoğunluğu oluşturan hücreler kondrositlere farklılaşarak gelecekte oluşacak olan olgun kemiğin bir modelini meydana getirirler. Bu aşama kondrogenез olarak adlandırılır. Her kıkırdak modelin ortasında yer alan kondrosit hücreleri bölünmeye ara verip, hipertrofik hale geldikten sonra kalsifiye ekstraselüler matriks tarafından kuşatılırlar. Kalsifiye ekstraselüler matriks içerisine gelişen vasküler invazyon sayesinde, bir sonraki adımda kemikleşme merkezlerinin oluşmasını sağlayacak olan osteoprojenitör hücreler şekillenir. Osteoprojenitör

hücreler olgun osteoblastlara farklılaşarak, kemiğe spesifik proteinlerin salgılanmasını ve bu proteinlerin kondrositler tarafından oluşturulmuş ekstraselüler matriks ile yer değiştirmesini sağlar. Kemik modelin her iki ucunda kondrositler çok dar bir alana sıkıştırılır, kemiğin boyca uzamasına olanak sağlayan bu dar alan büyüme plağı olarak adlandırılır.<sup>2</sup> Tipik bir büyüme plağı dinlenme halindeki kondrositlere ilaveten proliferatif ve hipertrofik kondrositleri içerir. Kemiğin yeniden şekillenmesi olarak tanımlanan bu işlev ile kemikler embriyonik dönem boyunca ve yetişkin dönemin çoğu bölümlerinde sürekli olarak yapılıp ve yıkılırlar

## 3. Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri, Reseptörleri ve Reseptör Mutasyonlarının Rolü

### 3.1. Osteogenez ve Fibroblast Büyüme Faktörleri

Kemik oluşumu, dokuların onarımı gibi olaylar hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks etkileşimlerini kapsayan son derece dinamik süreçlerdir. Büyüme ve farklılaşma faktörleri bu dinamik ve karmaşık işlevleri düzenleyen biyolojik moleküllerdir.<sup>4</sup> Ekstraselüler matriksi oluşturan proteinlerin, bu proteinlerin yıkım enzimlerinin (MMP), bu enzimlerin inhibitörlerinin (TIMP) ve yara iyileşmesinde çok önemli bir basamak olan anjiogenez ve vaskülogenez olaylarının düzenlenmesinde de çok önemli rol oynarlar.<sup>4</sup> Fibroblast büyüme faktörleri mezoderm ve nöroektodermden türeyen fibroblast, osteoblast, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kondrositler, melanositler gibi çeşitli hücrelerde kuvvetli mitojenik aktiviteleri, nörotropik özellikleri ve heparin bağlama özellikleri ile karakterize edilmişlerdir.<sup>5</sup> Fibroblast büyüme faktörlerinin birbirleriyle yapısal olarak yakın benzerlik gösteren ve gelişimin önemli basamaklarında rol oynadıkları belirlenen 23 üyesi bugün tanımlanmıştır.

Fibroblast büyüme faktörleri osteogenez sürecinde önemli düzenleyici rollere sahip 20-35 kDa ağırlığında proteinlerdir.<sup>6</sup> İnvitro çalışmalarda, FBF-2,4,9,18'in oluşan kemik dokusundaki hücrelerin proliferasyonunda düzenleyici rol üstlendiği bildirilmiştir.<sup>7,8,9</sup> Bu düzenleyici etkilerin yanında fibroblast büyüme faktörlerinin, osteoblast hücreleri üzerinde mitojenik etkilerinin olduğu dikkati çekmektedir.<sup>10</sup> Fibroblast büyüme faktörleri hücre çoğalmasındaki etkilerine ilave olarak, osteoblast farklılaşmasının çeşitli aşamalarında da etki gösterirler. Bu etkilerini ya doğrudan alkalen fosfataz ve osteokalsin gibi çeşitli matriks proteinlerin sentezini etkileyerek ya da bir transkripsiyon faktörü olan Runx2 salınımını dolaylı yolla etkileyerek gerçekleştirirler.

Erken dönemde osteoblast farklılaşmasında bir markır olarak kullanılan alkalen fosfatazın rat kemikliliği prekürsör hücrelerindeki salınımının FBF-2 tarafından artırıldığı çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur<sup>11,12,13</sup>

## Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fbf) ve Kemik Morfogenetik Proteinlerin (Kmp) Rolü

Runx2, Runt transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesidir ve kemik, kıkırdak formasyonunda aktivatör olarak görev alır. Embriyonal dönemde iskelet sisteminin gelişiminde olduğu kadar, osteoblast farklılaşmasının devamında da gerekli olduğu ortaya konulmuştur.<sup>14,15,16</sup> Runx2 yoksun farelerin doğumdan hemen sonra, şekillenmemiş bir iskelet kemikleşmesiyle öldükleri izlenmiştir.<sup>16,17</sup> Runx2 salınımı FBF-2,4 ve 8 tarafından uyarılır.<sup>13,18,19</sup> Runx2'nin DNA'ya bağlanma kapasitesini ve transkripsiyon aktivitesini FBF-2 ve FBF-4'ün arttırdığı ileri sürülmektedir.<sup>18,19</sup> FBF-2 matris mineralizasyonunda önemli bir yer tutmaktadır.<sup>11</sup> FBF-2 yoksun farelerde trabeküler yapının oluşumunda belirgin bir düşüş, trabeküler kemik dokuda hacimsel kayıp, mineral birikimi ve kemik oluşum oranında da azalmaların olduğu bildirilmiştir.<sup>20</sup> Olgunlaşmamış osteoblastların FBF-2'ye maruz bırakılmaları hücre proliferasyonunda, olgun osteoblastların maruz bırakılmaları ise osteokalsin ve matris mineralizasyonunda artışlara neden olduğu ortaya konulmuştur.<sup>21</sup>

FBF-9'un da olgun osteoblast hücrelerinin çoğalmasında ve farklılaşma işaretleyicilerinin salınımını arttırdığı, matris mineralizasyonunu düzenlediği öne sürülmüş, osteoblast farklılaşmasında rol alabileceği savunulmuştur.<sup>10</sup> FBF-18, hücre koloni oluşumunu düzenlerken, FBF-18 yoksun farelerde sütür kapanmasının geciktiği gözlenmiştir.<sup>22</sup> Kafa kemiklerinin oluşumu esnasında, FBF-18 hem mezenşimal kök hücrelerden hem de osteoblastlardan salınır. Gen hedefli çalışmalarda sütür kapanmasındaki gecikmeye ilave olarak FBF-18 noksan farelerde osteoblast çoğalmasında azalma ve olgun osteoblast oluşumunda gecikme olduğu gösterilmiştir.<sup>22</sup> FBF-2 ve FBF-9'un, invitro olarak osteoblastlarda, transforming growth factor (TGF)- $\beta$  ve kemik morfogenetik protein (KMP) salınımını arttırdığı bildirilmiştir.<sup>10,23</sup>

FBF-2'nin aynı zamanda insulin benzeri büyüme faktör salınımını hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak arttırdığı bazı çalışmalarda tespit edilmiştir.<sup>13,24</sup> Öte yandan fetal kalvarial hücrelerde TGF- $\beta$  ailesi üyeleri nin, FBF-1 ve FBF-2'nin mitojenik aktivitesini arttırdığı, paralel olarak FBF-1'in de hem olgun hem de proliferatif osteoblast hücrelerinden TGF- $\beta$  salınımını arttırabileceği gösterilmiştir.<sup>25,26</sup> Serum alınmadan hemen önce FBF-2'ye 24 ve 48 saat maruz bırakılan hücrelerin kaspas-2 ve kaspas-3 aktivitesinin inhibisyonu sonucu osteoblastların apoptotik sürece girmeleri engellenmiştir.<sup>21</sup> Hipoksik kültür ortamında FBF-2 ye bırakılan mezenşimal hücreler rat miyokardial enfarkt bölgesine transplante edilmiş, FBF-2'ye maruz bırakılmamış mezenşimal kök hücrelere nazaran yaşama şanslarının 3 kat daha fazla olduğu ve antiapoptotik Bcl-2 salınımının artmasıyla da apoptozun azaldığı ortaya konulmuştur.<sup>27</sup>

### 3.2. Osteogenez ve Fibroblast Büyüme Faktör Reseptörleri

Fibroblast büyüme faktörleri parakrin ve otokrin faktörlerin çok önemli gruplarından birisidir. Fibroblast büyüme faktörlerinin reseptöre bağlanması ile reseptörler dimerize olmakta ve bunun sonucunda trozin kinaz aktivitesi gerçekleşmektedir. Bu kinazlar birbirlerini fosforilleyerek sinyal iletimini başlatmaktadır.<sup>5</sup> Daha önceden, FBFR-1 salınımının daha çok osteoblast farklılaşması sırasında olduğu gösterilmişken,<sup>28,29</sup> FBFR-2'nin ise osteoblast proliferasyonunda yer aldığı bildirilmiştir.<sup>28,29</sup> Aksine FBFR-3'ün osteogenezin düzenlenmesi üzerine negatif etkisi vardır; primer fonksiyonunun endokondral kemik oluşumu sırasında kondrosit proliferasyonu üzerine olduğu savunulmaktadır.<sup>30,31</sup> Ancak FBFR-3 ekspresyonunun inhibe edilmesi osteoprogenitör hücrelerin osteoblastlara farklılaşmasını engellemesi FBFR-3'ün aktif olarak osteoblast farklılaşmasında da rol alabileceğini ortaya koymaktadır.<sup>32</sup> Çalışmalar aynı zamanda FBFR-3'ü olmayan genç farelerin osteopenik olduklarını, diğer osteoblast farklılaşma markırlarının ve FBFR-3'ün olmamasının bir sonucu olarak ciddi osteomalazi tablosunun şekillendiğini ortaya koymuştur.<sup>33</sup> Bununla birlikte, Gly369 Cys mutasyonunun neden olduğu FBFR-3 aktivasyonu, trabeküler kemik ve hipertrofik kıkırdak arasında osteoklast aktivitesinin yükselmesine, diz ekleminde büyüme plağında kemik manşet oluşumunun ve uzun kemik trabeküllerinde osteopontin, osteokalsin ve osteonektin salınım düzeyinin artışına neden olduğu savunulmaktadır.<sup>34</sup> Diğer FBFR'lerin aksine FBFR-4'ün kemik gelişimindeki etkisi ile ilgili olarak herhangi bir bilgi bulunmamakta olup, rudimenter kemikte ve intramembranöz kemik odaklarında yüksek seviyelerde olduğu bildirilmektedir.<sup>35</sup>

### 3.3. Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktör Reseptörü Mutasyonları

Fibroblast büyüme faktör reseptörlerinin kemik gelişimindeki spesifik önemi son zamanlarda yapılan çalışmalar ile aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalarda FBFR-1, FBFR-2 ve FBFR-3'ü kodlayan aminoasit bölümlerindeki mutasyonların iskelet displazilerine neden olduğu,<sup>36,37</sup> bu mutasyonlar eşliğinde kontrolsüz olarak, FBF ligandı bağlanmadan FBFR aktivasyonun şekillendiği bildirilmiştir.<sup>38,39</sup> Özellikle intramembranöz kemikleşmenin yetersizliğinden kaynaklanan Apert, Pfeiffer, Crouzon, Jackson-Weiss gibi kraniyosinotoza neden olan sendromların temelinde FBFR1,2,3 nokta mutasyonları yattığı savunulmaktadır.<sup>40</sup> Aksine iskelet gelişimi sırasında kondrositlerin normal çoğalmasında ve farklılaşmasında kesintiye uğratan FBFR-3 mutasyonu sıklıkla akondroplazi gibi dwarfizm sendromuna yol açtığı öne sürülmektedir.<sup>41</sup> Bu bulgular, kemik gelişimi

ve büyümesi sırasında FBF aktivitesinin önemini ortaya koymaktadır.

#### 4. Osteogenez ve KMP

##### 4.1. Osteogenez ve Kemik Morfogenetik Proteinler, Reseptörleri, Mutasyonları

Kemik morfogenetik proteinler (KMP), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) süper ailesinin üyelerince salgılanan sinyal proteinleridir. Bugün 15 farklı kemik morfogenetik protein bilinmektedir. Bu proteinlerin hedef hücreleri ise mezenşimal kök hücrelerdir. Mezenşimal kök hücreler kemik morfogenetik protein reseptörlerinin tümünü bulundurlar.<sup>42</sup> Bu proteinler ilk defa kemiricilerin kas dokusuna implante edildiğinde ektopik kemik oluşumunu uyardıklarından molekül olarak tanımlanmışlardır.<sup>43</sup> Bu işlevde, mezenşimal prekürsör hücreler yoğunlaşır ve kırık plak ile plağı çevreleyen perikondrium olmak üzere iki farklı dokuya farklılaşır. Ardından kırık plak içerisinde yer alan kondrositler, proliferasyon, hücre siklusunda duraklama, hipertrofi, kalsifikasyon ve en sonunda hücre ölümü gibi, bir dizi süreçlerden geçer. Hipertrofik tabakanın etrafında yeralan kalsifiye matriksin kemikleşmesi, bu bölgedeki osteoblast hücrelerinin vaskülarizasyonu ile sağlanır.<sup>44</sup>

Kemik morfogenetik proteinlerin hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak osteoblast farklılaşmasında etkili oldukları gösterilmiştir.<sup>45</sup> Kemik morfogenetik proteinler Tip-I ve Tip-II transmembran serin/treonin kinaz reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterirler.<sup>46</sup> KMP-2,3,4,5,6,7 ve büyüme-farklılaşma faktör-5 (BFF-5)'in gelişen iskelet yapılarından salınmaları, bu KMP'lerin farklılaşma ve gelişimde rol alabileceklerini işaret etmektedir.<sup>47</sup> Kemik morfogenetik proteinlerin fizyolojik rollerini açığa çıkarmak için, birçok KMP yoksun fare üretilmiş ve homozigotik KMP-2 ve KMP-4 defektli farelerin iskelet gelişimi başlamadan öldükleri izlenmiştir.<sup>48,49</sup> KMP-4 heterozigotik defektli farelerin %12'sinde preaksiyal polidaktili gözlemlenirken, KMP-3 defektli farelerde kemik yoğunluğu artışı olduğu bildirilmiştir.<sup>50</sup>

Doğal olarak KMP-5 defektli doğan kısa kulaklı farelerin, anatomik olarak kısalmış bir kulağın yanısıra boy kısalığı, kosta sayılarının azalması, ksifoid kemiğinde düzensiz şekillerin olması gibi çok sayıda anomalinin varlığı söz konusudur.<sup>51</sup> Homozigotik KMP-6 yoksun farelerde, sternum kemikleşmesinde orta düzeydeki bir gecikmenin dışında belirgin bir iskelet anomalisine rastlanmamıştır.<sup>52</sup> KMP-7 genini bulundurmeyen farelerde arka ekstremitelerde anomalilerin mevcut olduğu, ancak osteoblast farklılaşmasında herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmadığı bildirilmiştir.<sup>53</sup> Genetik olarak tasarlanan veya doğal olarak oluşan tüm bu fare mutasyonlarında, KMP'lerin normal gelişimi

sağladığı gibi bazen anomalilere, bazen de embriyonik gelişim sürecinde ölüme neden oldukları gözlenmiştir.<sup>47</sup> Ancak KMP'ler ile ilgili yapılan bu çalışmalarda bu proteinlerin normal fizyolojik süreçteki endojen görevleri hakkında yeterli bilgi elde edilememiştir. Ekstremité kültürlerinin KMP ve FBF proteinleri ile işleme tabi tutulması, bu iki sinyalin, kondrosit farklılaşmasını düzenlemede antagonistik etki gösterdiğini ortaya koymuştur.<sup>54</sup> Kemik morfogenetik proteinlerin reseptörleriyle olan ilişkilerinin nasıl düzenlendiği iyi bilinmemesine rağmen bu işlevin daha çok aktivitenin antogonize edilmesi ile ilgili olduğu kabul edilmektedir. KMP antagonistleri, olgun KMP'in kendisine, ligandlarına veya reseptörlerine bağlanarak etki ederler. Mezenşimal kök hücre tarafından üretilen KMP antagonistleri osteogenezini bloke edebilir. Ayrıca osteoblastlardan salınan ve KMP'e bağlanarak inhibe eden Noggin, gremlin follistatin gibi maddeler de bugün tanımlanmıştır.<sup>55</sup>

##### 4.2. KMP Alt Tiplerinin Osteogenezdeki Endojen Etkileri

Endokondral kemikleşme sırasında hipertrofik kondrositler spongioz kemik ve perikondriumda kemik oluşumunu uyarırlar. Bu uyarımı salgıladıkları KMP aracılığı ile gerçekleştirirler. Bu nedenle fizyolojik kemik oluşumunda KMP'ler önemli role sahiptirler. KMP-2,3,4,5,6,7 ve BFF-5'in büyüme plağından salındığı bildirilmiştir.<sup>47,52</sup> KMP-2 hipertrofik kondrositlerden, perikondriumdan ve gelişen eklem bölgelerinden salgılanır.

Perikondriumun epifizi kuşatan bölümleri dışında kalan kısımlarında KMP-3 salınımının olduğu izlenmiştir. Perikondriumu oluşturan hücrelerde ve olgun hipertrofik kondrositlere komşu olan geçiş zonunda KMP-4'ün varlığı immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. KMP-5 perikondriumda, KMP-6 ise hipertrofik kondrositlerde ve eklemelerde gösterilmiştir. KMP-7 proliferatif kondrositlerde ve perikondriumun iç yaprağında tespit edilmiştir. Bütün bu bilgiler hipertrofik kondrositlerden salgılanan temel KMP'lerin KMP-2 ve KMP-6 olduğunu göstermektedir.<sup>52,56</sup>

##### 5. Kemik Kırıklarının Tedavisinde Fibroblast Büyüme Faktörleri ve Kemik Morfogenetik Faktörler

Travma ya da cerrahi rezeksiyon sonucu şekillenen kemik defektlerinin ve kırıklarının başarılı bir şekilde tedavisi, çene cerrahisi ve ortopedide esas problemlerden biri olarak önemini korumaktadır. Kemik kırıklarında allojenik greftlerin kullanımını engelleyen immunolojik red, bu kırıkların tedavisinde yeni yöntemlerin araştırılmasına zemin hazırlamıştır. Kırıkların iyileşmesinde büyüme faktörlerinin etkisini

## Osteogenezde Fibroblast Büyüme Faktörleri (Fbf) ve Kemik Morfojenetik Proteinlerin (Kmp) Rolü

araştıran pekçok çalışma bildirilmiştir. FBF-1'in pariyetal kemik defektlerinde köprülenmeye yardımcı olduğu ve titanyum ile kullanıldığında kemik implant ara yüzünü arttırdığı gösterilmiştir.<sup>57,58</sup> Kırık iyileşmesinde yoğun olarak çalışılan FBF-2'nin, kallusu arttırdığı, kemik oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir.<sup>59</sup> Osteojenik protein-1 (OP-1) olarak da bilinen KMP-2 ve KMP-7'nin kritik çaplı kemik defektlerinin iyileşmesinde, osteogenezi arttırdığı birçok çalışmada bildirilmiştir.<sup>60</sup> Çeşitli tibia ve fibula defektli hastalar üzerinde yapılan randomize ve kontrollü çalışmalarda, rekombinant insan KMP-2 ve KMP-7'nin, greft tedavisi ile elde edilebilecek iyileşme düzeyinde sonuçlar verdiği, bunun yanında kemik kırık risklerini azalttığı da ortaya konulmuştur.<sup>60</sup>

### KAYNAKLAR

1. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla Pergin. Netter Temel Histoloji. 2009 Sayfa: 139-41
2. Horton WA. In vitro chondrogenesis in human chondrodysplasias. Am J Med Genet 1993;45:179-82.
3. Hakkı SS, Nohutçu RM. Basik Fibroblast Growth Factor (b-FGF) ve Dexamethasone (Dex)'ün pre-osteoblastların (MC3T3-E1) proliferasyonu, total protein miktarı ve hücre morfolojisi üzerine etkisi Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi 2005;29:/4 42-50
4. Hakkı SS, Hakkı EE, Akkaya MS. The effects of basic-fibroblast growth factor(b-FGF) on periodontal Ligament Cells. Journal of Dental Research.2000;79: 2065
5. Çetin M, Tapan Y. b-FBF (Basik Fibroblast Büyüme faktörü) ve formülasyonlarında yeni yaklaşımlar. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 24;2:2004 107-24(C)
6. Ornitz DM, Marie PJ. FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease. Genes Dev. 2002;16:1446-65.
7. Iseki S, Wilkie AO, Morriss-Kay. FGFR1 and FGFR2 have distinct differentiation- and proliferation-related roles in the developing mouse skull vault. Development 1999; 126:5611-620.
8. Shimoaka T, Ogasawara T, Yonamine A, Chikazu D, Kawano H, Nakamura K, Itoh N, Kawaguchi H Regulation of osteoblast, chondrocyte, and osteoclast functions by fibroblast growth factor (FGF)-18 in comparison with FGF-2 and FGF-10. J Biol Chem. 2002;277:7493-500.
9. Walsh S, Jefferiss CM, Stewart K, et al. IGF-I does not affect the proliferation or early osteogenic differentiation of human marrow stromal cells. Bone. 2003;33:80-9.
10. Fakhry A, Ratisoontorn C, Vedhachalam C, Salhab I, Koyama E, Leboy P, Pacifici M, Kirschner RE, Nah HD Effects of FBF-2/-9 in calvarial bone cell cultures: differentiation stage-dependent mitogenic effect, inverse regulation of KMP- 2 and noggin and enhancement of osteogenic potential. Bone 2005;36:254-66.
11. Noff D, Pitaru S, Savion N. Basic fibroblast growth factor enhances the capacity of bone marrow cells to form bone-like nodules in vitro. FEBS Lett. 1989;250:619-21.
12. Pitaru S, Kotev-Emeth S, Noff D, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on the growth and differentiation of adult stromal bone marrow cells: enhanced development of mineralized bone-like tissue in culture. J Bone Miner Res. 1993;8:919-29.
13. Zhang X, Sobue T, Hurley MM. FGF-2 increases colony formation, PTH receptor, and IGF-1 mRNA in mouse marrow stromal cells. Biochem Biophys Res Commun. 2002;290:526-31.
14. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. Cell 1997;89:747-54.
15. Ducy P, Starbuck M, Priemel M, et al. Cbfa1-dependent genetic pathway controls bone formation beyond embryonic development. Genes Dev 1999;13:1025-36.
16. Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. Cell 1997;89:755-64.
17. Otto F, Thornell AP, Crompton T, et al. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. Cell 1997;89:765-71.
18. Xiao G, Jiang D, Thomas P, et al. MAPK pathways activate and phosphorylate the osteoblast specific transcription factor, Cbfa1. J Biol Chem. 2000;275:4453-59.
19. Kim HJ, Lee MH, Park HS, et al. Erk pathway and activator protein 1 play crucial roles in FGF2-stimulated premature cranial suture closure. Dev Dyn 2003;227:335-46.
20. Montero A, Okada Y, Tomita M, et al. Disruption of the fibroblast growth factor-2 gene results in decreased bone mass and bone formation. J Clin Invest. 2000;105:1085-93.
21. Debais F, Debais F, Lefèvre G, et al. Fibroblast growth factor-2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent, -beta-catenin-independent signaling pathway. Exp. Cell Res 2004;297:235-46.
22. Ohbayashi N, Shibayama M, Kurotaki Y, et al. FGF18 is required for normal cell proliferation and differentiation during osteogenesis and chondrogenesis. Genes Dev. 2002;16: 870-9.
23. Noda M, Vogel R. Fibroblast growth effector enhances type beta 1 transforming growth factor gene expression in osteoblast-like cells. J Cell Biol 1989;109:2529-35.
24. Power RA, Iwaniec UT, Wronski TJ. Changes in gene expression associated with the bone anabolic effects of basic fibroblast growth factor in aged ovariectomized rats. Bone 2002; 31:143-8.
25. Globus RK, Patterson-Buckendahl P, GosparowiczD. Regulation of bovine bone cell proliferation by fibroblast growth factor and transforming growth factor beta. Endocrinology 1988;123: 98-105.
26. Tang KT, Tang KT, Capparelli C, et al. Acidic fibroblast growth factor inhibits osteoblast differentiation in vitro: altered expression of collagenase, cell growthrelated, and mineralization-associated genes. J. Cell Biochem. 1996;61: 152-66.
27. Song H, Kwon K, Lim S, et al. Transfection of mesenchymal stem cells with the FGF-2 gene improves their survival under hypoxic conditions. Mol Cells 2005;19: 402-7.
28. Zhou YX, Xu X, Chen L, et al. Pro250Arg substitution in mouse FGFR1 causes increased expression of Cbfa1 and premature fusion of calvarial sutures. Hum Mol Gene 2000;9:2001-8.
29. Yu K, Xu J, Liu Z, et al. Conditional inactivation of FGF receptor 2 reveals an essential role for FGF signaling in the regulation of osteoblast function and bone growth. Development. 2003; 130:3063-74.
30. Deng C, Wynshaw-Boris A, ZhouF, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 is a negative regulator of bone growth. Cell 1996;84: 911-21
31. Murakami S, Balmes G, McKinney S, et al. Constitutive activation of MEK1 in chondrocytes causes Stat1-independent achondroplasia-like dwarfism and rescues the FGFR3-deficient mouse phenotype. Genes Dev. 2004;18:290-5.
32. FunatoN, Ohtani K, Ohyama K, et al. Common regulation of growth arrest and differentiation of osteoblasts by helix-loop-helix factors. Mol Cell Biol. 2001;21:7416-28.
33. Valverde-Franco G, Valverde-Franco G, Liu H, et al. Defective bone mineralization and osteopenia in young adult FGFR3-/- mice. Hum Mol Genet. 2004;13:271-84.
34. Chen L, Adar R, Yang X, et al. Gly369 Cys mutation in mouse FGFR3 causes achondroplasia by affecting both chondrogenesis and osteogenesis. J Clin Invest. 1999;104:1517-25.
35. Cool S, Jackson R, Pincus P, et al. Fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) expression in newborn murine calvaria and primary osteoblast cultures. Int J Dev Biol. 2002; 46:519-23.
36. Burke D, Wilkes D, Blundell TL, et al. Fibroblast growth factor receptors: lessons from the genes. Trends Biochem. Sci. 1998;23:59-62.

37. Muenke M, Schell U. Fibroblast-growth-factor receptor mutations in human skeletal disorders. *Trends Genet* 1995;11:308–13.
38. Naski MC, Ornitz DM. FGF signaling in skeletal development. *Front Biosci.* 1998;3:781–94.
39. Webster MK, Donoghue DJ. FGFR activation in skeletal disorders: too much of a good thing. *Trends Genet.* 1997;13: 178–82.
40. Peters K, Ornitz D, Werner S, et al. Unique expression pattern of the FGF receptor 3 gene during mouse organogenesis. *Dev Biol.* 1993;155:423–30.
41. Dursun H. Heterotropik Ossifikasyon. *FTR Bil Der J PMR Sci* 2006;9:69-73
42. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science* 1988;42:1528–34.
43. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature* 2003;423:332–6.
44. Kawabata M, Miyazono K. Bone morphogenetic proteins. In: *Canalis MDE (ed) skeletal growth factors.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000; 269–90.
45. Miyazono K, Maeda S, Imamura T. KMP receptor signaling: transcriptional targets, regulation of signals, and signaling crosstalk. *Cytokine growth factor Rev.* 2005;16:251–63.
46. Karsenty G. Bone morphogenetic proteins and skeletal and nonskeletal development. In: *Canalis MDE (ed) skeletal growth factors.* Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia,2000; 291–310.
47. Zhang H, Bradley A, et al. Mice deficient for BMP2 are nonviable and have defects in amnion/chorion and cardiac development. *Development* 1996;122:2977–86.
48. Winnier G, Blessing M, Labosky PA, et al. Bone morphogenetic protein-4 is required for mesoderm formation and patterning in the mouse. *Genes Dev* 1995;9:2105–16.
49. Daluiski A, Engstrand T, Bahamonde ME, et al. Bone morphogenetic protein-3 is a negative regulator of bone density. *Nat Genet* 2001;27:84–8.
50. Kingsley DM, Bland AE, Grubber JM, et al. The mouse short ear skeletal morphogenesis locus is associated with defects in a bone morphogenetic member of the TGF beta superfamily. *Cell.* 1992;71:399–10.
51. Solloway MJ, Dudley AT, Bikoff EK, et al. Mice lacking KMP6 function. *Dev Genet* 1998;22:321–39.
52. Luo G, Hofmann C, Bronckers AL, et al. KMP-7 is an inducer of nephrogenesis, and is also required for eye development and skeletal patterning. *Genes Dev* 1995;9:2808–20.
53. Minina E, Kresch C, Naski MC, et al. Interaction of FGF, Ihh/Pthlh, and KMP signaling integrates Chondrocyte proliferation and hypertrophic differentiation. *Dev Cell* 2002;3:439-49.
54. Lydia Didt-Kozziel, Wuelling M, Vortkamp A. Kondroenez ve osteogenezde büyüme faktörlerinin rolü. *Current Opinion in Orthopaedics Türkçe baskı.*2006;4:198-207.
55. Kugimiya F, Kawaguchi H, Kamekura S, et al. Involvement of endogenous bone morphogenetic protein (BMP)2 and BMP6 in bone formation. *J Biol Chem* 2005;280:35704–12.
56. Cuevas P, et al. Osteopromotion for cranioplasty: an experimental study in rats using acidic fibroblast growth factor *Surg Neurol.* 1997;47:242–6.
57. McCracken M, Lemons JE, Zinn K. Analysis of Ti–6Al–4V implants placed with fibroblast growth factor 1 in rat tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2001;16:495–502.
58. Nakamura T, et al. Stimulation of endosteal bone formation by systemic injections of recombinant basic fibroblast growth factor in rats. *Endocrinology* 1995;136: 1276–84.
59. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, et al. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res* 1999;17:607–14.
60. Govender S, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J. Bone Jt. Surg. Am.* 2002;84:2123–34.

**Yazışma Adresi:** Yrd.Doç.Dr.Ayşe YILDIRIM  
Mustafa Kemal Üniversitesi  
Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,  
e-mail: yildirima31@yahoo.com.tr